

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Ref :.....



Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie Département des Sciences de la
Nature et de la Vie

**Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de
Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Etude de l'effet anti-angiogénique des
médicaments**

Présenté par :

- DJEBLI Soumia.
- GHENDOUF Cheima.

Devant le jury composé de :

-Président : M ^r BOUTELAA Sabar	Grade : MCB
-Examineur : M ^{me} BOUGEURIA Hasiba	Grade : MCB
-Promoteur : M ^r MOUSSAOUI Bilal	Grade : MAA

Année Universitaire: 2020/2021

Remerciements

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »

Tous d'abord nous tenons à remercier le bon **Dieu** tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Car l'homme repose mais dieu dispose, également nous remercions infiniment nos parents, qui nous encouragé et aidé à arriver à ce stade de nos formation.

Nous désirons exprimer notre profonde et vive reconnaissance à notre promoteur, " **M' MOUSSAOUI Bilal** ", pour tous ses: orientations scientifiques, sa compétence à notre disposition, ses précieux conseils et pour son suivi régulier à l'élaboration de Ce travail.

Nos remerciements vont à Les membres du jury : **M' BOUTHALAA Sabar** et **M^{me} BOUGEURIA Hasiba** D'avoir accepté de juger notre travail.

Nous adressons nos sincère remerciements à tous les professeurs qui par leurs conseils et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes là, vraiment un grand remerciement pour la qualité d'enseignement qui nous a été dispensée.

Enfin, nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou in directement à finaliser ce modeste travail.

Soumia & Cheima



Dédicace

Je dédie ce modeste travail, comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance :

*A mes chères Parents, ma mère **Messaouda** et mon père **Abderazak***

Pour tous leurs amours, leurs sacrifices, leurs tendresses et leur soutien tout le long de mes études .

*A mon chère frère : **Yassin** Dieu vous donne santé, bonheur et réussite*

*A mes sœurs **Amel et Manel** Qui m'ont toujours confié du courage et qui m'ont soutenue durant les moments difficiles et a qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future.*

*A les petitsA de famille : **Racim et Iyad***

*A ma chère binome : **chayma***

*A mes chères amies **Ines, Selma, Warda, malak ,wissal et***

***Lamis** pour leurs sympathies et leur solidarité envers moi.*

SOUMIA



Dédicace



*En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce modeste travail
avec une grande fierté à tous ceux qui me sont chers :*

A mes chères Parents, ma mère Halima et mon père Mourad

*Pour leur amour, leur tendresse, et pour leur soutien durant toutes les étapes de ma
vie. J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi,
que Dieu leur prête tout le bonheur.*

**A Mes très chers frères Abdearaouf, Imad, Abdessettar, Ahmed, et A Ma
belle-sœur : Rima** *Qui m'ont toujours confié du courage et qui m'ont soutenue durant
les moments difficiles et à qui je souhaite beaucoup de réussite dans leur vie future.*

**A tous les membres de la famille GHENDOUF ET BOUHENNACHE,
Essentiellement : RAZIKA, IMEN ET CHAYMA**

A les petites de famille que j'ai vécu avec-ils des beaux moments :

Abdalwadoud,

Soudjoud, Nour Alhoda et Khaled et mes cousine: **Nedjla Rahma, Saliha, Hassna,
et hafida,** *qui m'ont fait toujours confiance et qui m'ont beaucoup encouragé pour y
arriver, je lui dis « Merci beaucoup ».*

A ma chère binome : Soumia.

A mes amies surtout : Amina, Sabrina, Zoulaykha et Roumayssa pour
leurs aides , Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés.

**A tous mes Enseignant depuis le primaire, qui ont contribué et influencé dans
l'élaboration de ma forte personnalité**

**A tous qui me connaisse, A Tous ceux qui m'ont aidé directement ou
indirectement dans la réalisation de ce mémoire de près ou de
loin.**



CHEIMA



Résumé

Abstract

Cancer is a public health burden its cure and relies, among other things, on surgery, radiotherapy, chemotherapy, hormone therapy and targeted therapies. Among new therapeutic strategies, blocking angiogenesis is the subject of numerous clinical trials. And this study explores, *in ovo* and *ex ovo*, the inhibitory effect of the drugs azithromycine, levocabastine and garlic filtrate (*Allium sativum*) on the vascularization of the chorioallantoic membrane (CAM). So At saturation doses, l'azithromycine decreases 48% of the vascularization of the CAM which corresponds to half of the effect of dexamethasone (positive control); Levocabastine shows no interaction with the vessels and garlic filtrate shows CAM irritation, bleeding, thrombosis. And these data suggest that azithromycine has an anti-angiogenic effect; raw garlic filtrate displays a destructive. Therefore, garlic and azithromycine are candidates for further exploration of its angiostatic potential as part of a therapeutic approach.

Keywords: cancer, angiogenesis, chorioallantoic membrane, azithromycine, Levocabastine , Garlic (*Allium sativum*).

Résumé

Le traitement des cancers constitue un problème de santé publique et repose entre autres sur la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie et les thérapies ciblées. Parmi les nouvelles stratégies thérapeutiques, le blocage de l'angiogenèse fait l'objet de nombreux essais cliniques. Et cette étude explore, *in ovo* et *ex ovo*, l'effet inhibiteur des médicaments l'azithromycine, lévocabastine et le filtrat de l'ail (*Allium sativum*) vis-à-vis la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM). Alors à des doses de saturation, l'azithromycine diminue 48% de la vascularisation de la CAM ce qui correspond à la moitié de l'effet de la Dexaméthasone (témoin positif); La lévocabastine ne traduit aucune interaction avec les vaisseaux et le filtrat de l'ail montre une irritation des CAM, des saignements, des thromboses. Et ces données laissent croire que l'azithromycine possède un effet anti-angiogénique, le filtrat de l'ail affiche un effet destructeur des vaisseaux sanguins, alors que La lévocabastine semble être dépourvue d'action antiangiogénique. Donc, l'ail et l'azithromycine méritent une exploration approfondie de son potentiel angiostatique dans le cadre d'une approche thérapeutique.

Les mots clés : cancer, angiogenèse, la membrane chorioallantoïdienne , L'azithromycine , Lévocabastine, Ail (*Allium sativum*).

الملخص

علاج السرطان هو مشكلة صحية عامة تعتمد على الجراحة ، العلاج الإشعاعي ، والعلاج الكيميائي والعلاج الهرموني والعلاجات المستهدفة . ومن بين الاستراتيجيات العلاجية الجديدة ، منع تولد الأوعية الدموية وهو موضوع العديد من التجارب السريرية و من خلال هذا العمل المطبق (داخل وخارج البيضة) تم استكشاف،التأثير المثبط لأدوية مثل Azithromycine ، lévocabastine ومرشح الثوم (*Allium sativum*) في مواجهة الأوعية الدموية للغشاء المشيمي (CAM). كما تُظهر النتائج أن Azithromycine له تأثير يقلل 48% من الأوعية الدموية للـ CAM و التي تمثل النصف من تأثير Dexamethasone (شاهد ايجابي)؛ lévocabastine لا يؤثر مطلقا على الاوعية ، اما تأثير مرشح الثوم (*Allium sativum*) يظهر تهيج ونزيف في الـ CAM و تشير هذه البيانات أن Azithromycine له تأثير مضاد للأوعية ، أما مرشح الثوم له تأثير مدمر للأوعية الدموية ، في حين يبدو أنه لا يوجد تأثير على الأوعية للـ lévocabastine . لذا، الثوم و Azithromycine يمكن أن يرشحان لدراسات معمقة قصد استعمالهما كعلاج مضاد لتخليق الأوعية الدموية لدى مرضى السرطان.

الكلمات الرئيسية: السرطان، تكوين الأوعية الدموية، الغشاء المشيمي، Azithromycine، lévocabastine و الثوم (*Allium sativum*).

Table des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : biologie du cancer

I. Biologie du cancer	4
1. Définition du cancer	4
I.2. Les caractéristiques des cellules cancéreuses	4
I.3. Les causes	5
I.4. La cancérogénèse	7
4.1. L'initiation	7
4.2. La promotion	7
4.3. La progression	8
I.5. Propagation métastatique des cancers (invasion tumorale).....	9
I.6. Gènes impliqués dans la cancérogénèse	10
6.1. Gènes suppresseurs.....	10
6.2. Protooncogène	11
I.7. Traitement du cancer.....	11
7.1. La chirurgie	11
7.2. Radiothérapie.....	12
I.7.3. Traitement médicamenteuse.....	12
7.3.1. Chimiothérapie	12
7.3.2. Hormonothérapie.....	13

7.3.3.Immunothérapie.....	13
7.3.4.Thérapie antiangiogénique	13

Chapitre II : Angiogenèse

II. Système vasculaire: vasculogénèse, angiogenèse et lymphangiogenèse.....	15
II.1.Vasculogène.....	15
II.2. Angiogenèse	16
2.1. L'angiogénèse physiologique (par germination).....	17
II .2.2. Les étapes de l'angiogenèse physiologique	17
2.2.1.La déstabilisation (désassemblage)	17
2.2.2. La sélection	17
2.2.3.La migration.....	18
2.2.4. La fusion et la formation de la lumière	18
2.2.5.La maturation et le flux sanguin.....	19
II. 3. Lymphogénèse	20
II .4 .Médiateurs de l'angiogenèse	21
4 .1. Les activateurs de l'angiogenèse	21
4 .2.Les inhibiteurs de l'angiogenèse.....	23
II.5. L'angiogenèse pathologique	24
5.1. L'angiogenèse tumoral.....	24
5. 2. Les mécanismes de l'angiogenèse tumorale	25
5. 3. Le switchangiogénique	25
II.6.Le rôle d'hypoxie dans l'angiogenèse.....	26
6.1.Sous une tension d'oxygène normale (normoxie).....	27
6.2.Sous faible tensions d'oxygène (hypoxie).....	27
II .7.Rôle de l'angiogenèse dans la progression tumoral et la métastas	28
II .8. La vascularisation tumorale et la vascularisation normale.....	29

II.9. Thérapie anti-angiogénique	30
9.1. Les anticorps monoclonaux	31
9.1.1. Le bevacizumab (AvastinR)	31
9.2. Inhibiteurs de tyrosine kinase des VEGF-Rs	31
9.2.1. Le sunitinib (SutentR).....	31
9.2.2. Le sorafenib (NexavarR).....	32
II. 10. Les avantages de la thérapie antiangiogénique	32
II.11. Les inconvénients de la thérapie anti-angiogénique	33
11.1. Atteintes cardio-vasculaires	33
11.2. Atteintes rénales.....	33
11.3. Atteinte cutanée et des muqueuses	33

Chapitre III: Reprofilage et phytothérapie

III.1. Reprofilage des médicaments dans la thérapie anti-angiogénique	35
1.1. Définition de la réorientation des médicaments.....	35
1.2. Exemples des médicaments réutilisés	35
III.2. l'effet de phytothérapie sur l'angiogénèse	36
2.1. Définition de la phytothérapie	36
2.2. La phytothérapie et l'effet anti-angiogénique	37
2.3. Les activités pharmacologiques de l' <i>Allium sativum</i> (Ail).....	38
2.4. La classification systématique de l'Ail	39

Partie 2: Etude expérimentale

Chapitre IV : Matériel et méthodes

IV. Matériels et méthodes	40
IV .1. Teste <i>in ovo</i>	40
1.1 Collecte des œufs et incubation	40
1.2 Préparation des membranes chorioallantoïdienne	41

IV.2 .Test <i>ex ovo</i>	42
IV.3. Préparation des substances testées	43
3.1. Préparation de la Dexasone® 4mg/ml	43
3.2..Préparation de l'azithromycine ® 300mg /7.5ml.....	44
3.3.Origine de lévocabastine ® 0.05%	45
3.4. Origine du Matériel biologique (Végétal) et préparation le filtrat de l'ail (<i>Allium sativum</i>).....	45
IV.4. Déroulement du test CAM (<i>in ovo</i>)	45
IV.5 .Déroulement du test CAM (<i>ex ovo</i>).....	47
IV.6.Analyse statistique	47

Chapitre V : Résultats et discussions

V .1.Evaluation qualitative.....	48
V.2.Evaluation quantitative.....	54

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 01 : Les six caractéristiques d'un cancer (Hanahan et Weinberg, 2000).....	5
Figure 02 : Caractéristiques émergentes et caractéristiques habilitantes(Hanahan, 2011)	5
Figure 03 : les étapes et stades du cancer (Yakota, 2000)	8
Figure 04 : les étapes d'invasion des tumeurs et de métastase (Hejmadi, 2009)	10
Figure 05 : Schéma de la vasculogenèse extra-embryonnaire(Patel et D'Amore, 2011)	16
Figure 06 : Les mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front (Eilken et Adam, 2010).....	18
Figure 07 : Schéma illustrant les étapes de l'angiogenèse physiologique (Duran et al.,2011).....	19
Figure 08 : Interactions entre les activateurs et les inhibiteurs de l'angigenèse(Huynh, 2006)	26
Figure 09 : Régulation de l'activité de HIF-1(Gothié et Pouysségur, 2002).....	28
Figure 10 : Angiogenèse et métastase (Bielenberg et Zetter, 2015)	29
Figure 11 : Observation d'un réseau vasculaire normale et tumorale (Alami, 2019) .	30
Figure 12 : Syndrome mains-pieds (Fléchon et al., 2010).....	34
Figure 13 : Désinfection des œufs avec l'éthanol à 70%.....	40
Figure 14 : Incubation des œufs à l'incubateur (WQ01)	40
Figure 15 : Vérification de la fécondité des œufs	41
Figure 16 : localisation de l'embryon et La chambre à air.....	41

Figure 17 : Prélèvement de l'Albumen.....	41
Figure 18 : aspect d'un œuf leghorn à j 3	42
Figure 19 : Révélation de la membrane chorioallantoïdienne à j 8	42
Figure 20 : préparation d'un système de culture d'embryons de poulet <i>ex-ovo</i>	43
Figure 21 :dexaméthasone 4mg/ml.....	43
Figure 22 : préparation de Dexasone 4mg/ml.....	44
Figure 23 :Azithromycine® 300mg/7.5ml	44
Figure 24 : préparation de l'azithromycine ® 300mg/7.5ml	44
Figure 25 :lévocabastine® 0,05%	45
Figure 26 : préparation de filtrat de l'ail (<i>Allium sativum</i>)	45
Figure 27 : application 5ul de solutions préparées sur la CAM.....	45
Figure 28 : application de filtrat de l'ail (<i>Allium sativum</i>)	47
Figure 29 : Vaisseaux du sac vitellin.....	48
Figure 30 : Vaisseaux de la CAM.....	48
Figure 31 : CAM à J8	48
Figure 32 : CAM à J14	48
Figure33 :Observation des vaisseaux primaire, secondaire et tertiaire sous stéréomicroscope.....	49
Figure34 : Vascularisation normal de la CAM.....	49
Figure35 : Résorption des vaisseaux sanguins dexa à J12.....	49
Figure36 : Œuf traité par l'eau physiologique, observation à J12.....	50
Figure37 : Un Œuf traité par lévocabastine® 0.05%, observation à J12.....	50

Figure38: Un oeuf traité par azithromycine ® 300mg/7.5ml, observation à J12	50
Figure39: Aspect d'un embryon et ses CAM, amnios et sac vitellin <i>ex ovo</i> à J8.....	51
Figure40: Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, <i>ex ovo</i> , à J8.....	51
Figure41: Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, <i>in ovo</i> , à J8.....	51
Figure41: Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, <i>in ovo</i> , à J8, observation sous stéréomicroscope.....	52
Figure42: Embryon mort <i>ex ovo</i>	52
Figure42: Embryon mort <i>in ovo</i>	53
Figure43: Embryon (CAM) infecté	53
Figure44: Action des traitements sur la vascularisation des CAM.....	54

Liste des tableaux

Tableau 01: Agents favorisant le développement d'un cancer (Fridman et Sautès Fridman, 2014)	6
Tableaux 02 : Les plantes et leurs principaux composés dérivés avec anti-COX effets (Hoseinkhani et al., 2020)	37
Tableaux 03 : Plantes et leurs dérivés ayant des effets spécifiquement inhibiteurs du VEGF (Hoseinkhani et al., 2020)	38

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AINS : Anti inflammatoire non stéroïdien

Ang-1 : Angiopoietin -1

Ang-2 : Angiopoietin -2

ART : Artesunate

Azith : Azithromycine

bFGF : Basic Fibroblast Growth Factor

BRAF : B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

CAM : Membrane chorioallantoïdienne de l'embryon de poulet

CD8+T : Cluster de différenciation 8+T

CE : Cellule Endothéliale

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

c-KIT : Stem-cell Growth Factor Receptor

COX : Cyclo-oxygénase

COX-2 : Cyclo-oxygénase-2

CTLA-4 : Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4

DLL4 : Delta-Like Ligand 4

Dxm : Dexaméthasone

ECM : Matrice extracellulaire.

EMEA : Europe Middle East & Africa

ERO : Espèces réactives de l'oxygène

FDA : Food and Drug Administration

FGF : Fibroblast growth factor

FGFR : Fibroblast growth factor receptor

FLT3 : Fms related tyrosine kinase-3

HGF : Hépatocyte Growth Factor

HIF : Hypoxia-inducible factor

HIF-1 : Hypoxia inducible factor

HIF- α : Hypoxia inducible factor- α

HIF- β : Hypoxia inducible factor- β

HIF-f3 : Hypoxia inducible factor-f3

HRE : Élément de réponse à l'hypoxie

HSPG : Héparane-sulfate protéoglycanes

HTA : Hypertension artérielle

IGF : Facteur de croissance de type insuline

IgG1 : Immunoglobuline G1

ITK : Inhibiteur tyrosine kinase

Jag1 : Jagged 1

Lvt : Lévocabastine

MEC : Matrice extracellulaire

MMP : Matrix métalloprotéinase

ORL : Oto-rhino-laryngologique

PAI-1 : Inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1

PD-1 : Programmed cell death 1

PD-ECGF : Facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes

PDGF : Facteur de croissance dérivé des plaquettes

PDGF-B : Facteur de croissance dérivé des plaquettes B

PDGFR : Platelet derived growth factor receptor

PDGFR-b : Platelet derived growth factor receptor-b

PHD1 : Prolyl-hydroxylase domain 1

PHD2 : Prolyl-hydroxylase domain 2.

PR : Polyarthrite rhumatoïde

pVHL : Von Hippel-Lindau.

RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma

RR : Risque relatif

siRNA : Acide ribonucléique interférent

SMP : Syndrome main-pied

TAA : Tumor associated antigens

TGF- β : Facteur de croissance transformant- β

Tie2 : Tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology domains – 2

TIMPs : Tissue inhibitors of metalloproteinases

UV : Ultra-violet

VEGF : Vascular endothelial growth factor

VEGF-A : Vascular endothelial growth factor-A

VEGF-C : Vascular endothelial growth factor-C

VEGFR : Récepteur de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

VEGFR-2 : Vascular endothelial growth factor-2

VEGFR-3 : Vascular endothelial growth factor-3

VEGF-RI : Vascular endothelial growth factor receptor-1

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

WQ01 : Incubateur d'œufs

Introduction

Introduction

Le cancer parmi les principales causes de morbidité et de mortalité dans le monde. Il représente à lui seul le plus important obstacle à l'augmentation de l'espérance de vie dans tous les pays du monde au 21^{ème} siècle (**Freddie, 2018**).

En 2018, Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), estime qu'un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et qu'un homme sur huit et une femme sur onze mourront de leur maladie (**Organisation Mondiale de la santé, 2018**).

Les nouvelles données mondiales sur le cancer suggèrent que le nombre de personnes ayant été diagnostiquées atteignait 18,1 millions (**Lambrigts, 2021**). Et 9,6 millions de décès par maladie de cancer (**Organisation Mondiale de la santé, 2018**). En Algérie, le nombre de cancer estimé est passé de 40.000 nouveaux cas en 2012 à 55.000 en 2018 (**JP, 2020**).

La néovascularisation intervient physiologiquement dans de nombreuses situations comme l'embryogenèse, le cycle utérin, la réparation tissulaire. Plusieurs pathologies non tumorales comme les maladies systémiques inflammatoires ou le psoriasis font également intervenir des phénomènes d'angiogenèse au cours de leur processus pathologique (**Weidner, 1991**). De même, la croissance tumorale à la phase invasive et de diffusion métastatique, comme l'a évoqué Folkman dans ses premiers travaux en 1971 (**Folkman, 1971**).

Toutes les données indiquent qu'il existe une corrélation essentielle entre agressivité tumorale, pouvoir métastatique et présence d'une néo-angiogenèse tumorale (**Coulon, 1999**). Hormis de rares exceptions, les tumeurs bénignes tendent à croître très lentement et sont très peu vascularisées, sans disséminer dans l'organisme. Il est démontré une corrélation directe entre l'importance du réseau vasculaire contenu dans les différentes tumeurs malignes et leur potentiel métastatique (**Weidner, 1991**).

Le développement d'agents anti-angiogéniques spécifiques apparaît comme une approche thérapeutique intéressante pour le traitement du cancer et d'autres maladies dépendantes de l'angiogenèse (**Quesada, 2006**). Et de nombreuses étapes sont encore nécessaires pour développer la classe d'agents anticancéreux. Les recherches s'orientent actuellement vers une utilisation couplée de traitements visant à inhiber l'angiogenèse et de

traitements cytotoxiques (chimiothérapie ou radiothérapie). Une synergie est rapportée entre ces deux types de thérapeutiques dans plusieurs études expérimentales (**Coulon, 1999**).

Il est possible de neutraliser le facteur de croissance lui-même, c'est le cas du bevacizumab/Avastin, un anticorps monoclonal anti-VEGF autorisé dans le traitement de plusieurs cancers (**Ferrara et al., 2005; Pietrantonio al., 2015**). D'autre part sorafenib (**Davoudi et al., 2014; Ferrari et al., 2015**), le sunitinib (**Porta et al., 2014**), le pazopanib (**McLachlan et Banerjee 2015 ; l'axitinib (Albiges et al., 2015)**) bloquent la transduction du signal bien que le VEGF se fixe sur son récepteur spécifique (**Paesler et al., 2010; Tugues et al., 2011; Daimon et al., 2012**).

Alors que l'utilisation à grand échelle de cette catégorie thérapeutique commence à révéler les risques qu'ils entraînent (**Abdel-Rahman et Fouad, 2016**). Sans oublier le fardeau économique qu'exerce le recours à des médicaments de référence, princeps (**Coon et al, 2010**), certains composés naturels d'origine végétale sont capables d'empêcher la formation de ces nouveaux vaisseaux sanguins dans la tumeur et inhibent également la prolifération et la croissance des cellules cancéreuses (**Hoseinkhani, 2020**).

D'autre part, le développement de novo de médicaments est un processus long et coûteux. De plus en plus, les développeurs de médicaments cherchent à mettre en œuvre des stratégies rentables et à moindre risque pour le développement de produits pharmaceutiques. Pour cela, ils recourent au reprofilage, le processus de trouver de nouveaux usages pour des médicaments existants en dehors de l'indication initiale pour laquelle ils ont été initialement approuvés (**Mucke, 2015 ; Stoddard et al., 2016; Ishida et al., 2016**). Ainsi, l'Artesunate (ART) un anti-malarien bien connu réputé faiblement toxique, montre une action anticancéreuse sélective et anti-angiogénique contre le carcinome cellulaire du rein (**Jeong et al, 2015**).

Dans cette recherche, nous avons étudié l'effet de certains médicaments tels que «l'azithromycine , lévocabastine» et d'une substance végétale naturelle de filtrat de «*Allium sativum*» par un modèle expérimental, *in ovo* et *ex ovo*, le test CAM, pour explorer son effet anti-angiogénique.

Ainsi, cette étude se divise en :

- Synthèse bibliographique des connaissances actuelles dans le domaine de la biologie du cancer, de l'angiogenèse ,des thérapies antiangiogéniques, le reprofélage et la phénotérapie.
- Une exploration, *in ovo* et *ex ovo* du potentiel inhibiteur de la néovascularisation d'un médicament antibiotique, l'azithromycine , et l'antihistaminique lévocabastine Ainsi de filtrat d'*Allium sativum* utilisé pour le traitement des dysfonctionnements du système vasculaire veineux.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1 :
Biologie du
cancer

I. Biologie du cancer

I.1. Définition du cancer

Le cancer est un groupe de maladies des organismes multicellulaires supérieurs. IL se caractérise par des altérations de l'expression de plusieurs gènes (**Raymond et al., 2007**). Ces changements (mutations de l'acide désoxyribonucléique (l'ADN)) produisent des protéines qui perturbent le délicat équilibre cellulaire entre la division cellulaire et la quiescence, ce qui donne des cellules qui continuent de se diviser pour former des tumeurs (**Hejmadi, 2009**).

La tumeur peut être considérée comme bénigne, elle est généralement très petite et étroitement liée à son origine. Ne met généralement pas la vie en danger (**Paraic, 2007**). Une tumeur est dite maligne, une fois qu'elle devienne invasive et commence à se propager à partir de son site d'origine. Dans ce cas elle représente une menace réelle et sérieuse pour la vie de la personne. Ce processus est appelé métastase (**Paraic, 2007**).

I.2. Les caractéristiques des cellules cancéreuses

En 2000, **Hanahan et Weinberg** ont publié leur revue influente : les caractéristiques du cancer (**Hanahan et Weinberg, 2000**). Où ils ont tenté d'organiser les complexités denses de la biologie du cancer en six caractéristiques principales (**Figure 01**) l'autosuffisance des signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux anti-croissance, échappement à l'apoptose, un potentiel réplicatif illimité, une angiogenèse soutenue et une invasion tissulaire et des métastases.

Une décennie plus tard, dans une revue de mise à jour a ajouté deux caractéristiques émergentes : la reprogrammation du métabolisme énergétique et l'évasion de la réponse immunitaire, et deux traits habilitants : l'instabilité et la mutation du génome, et l'inflammation favorisant les tumeurs (**Hanahan et Weinberg, 2011 ; Weinberg, 2014**) (**Figure 02**).

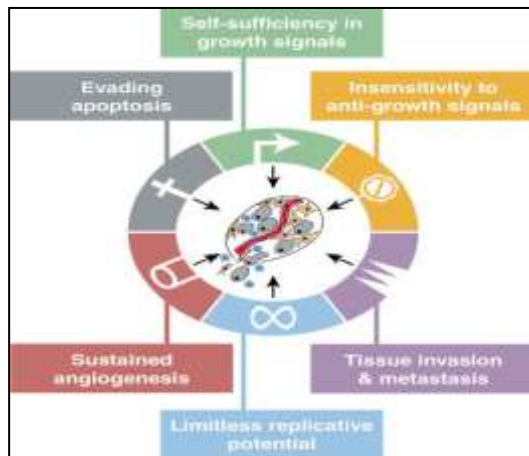


Figure 01 : Les six caractéristiques d'un cancer (Hanahan et Weinberg, 2000)

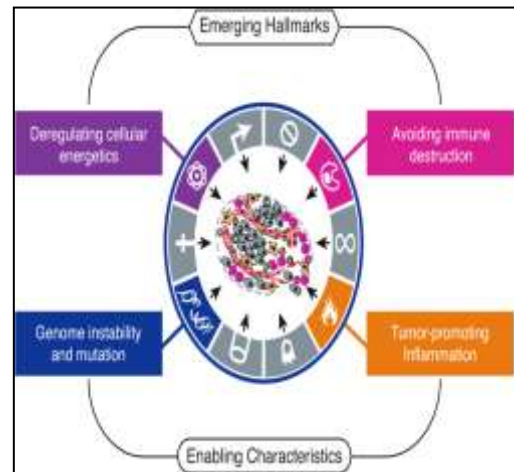


Figure 02 :Caractéristiques émergentes et caractéristiques habilitantes(Hanahan, 2011)

I.3.Les causes

Les données épidémiologiques indiquent que la plupart des causes du cancer chez l'homme sont des facteurs environnementaux ou le mode de vie de la personne (Ames et Gold, 1990).

Le World Cancer Research Fund et l'American Institute for Cancer Research considèrent comme cause des cancers les différents facteurs suivant: le manque d'allaitement maternel, l'augmentation de la taille adulte et les modes de vie sédentaires. Le Régime alimentaire en particulier (le bêta-carotène, la viande rouge, les viandes transformées, les régimes pauvres en fibres) (Blackadar, 2016).

Les cancérogènes font référence au grand nombre de substances mutagènes ou non-mutagènes qui induisent la majorité des cancers humains (Probst et Bewsey, 2008). Ces derniers regroupés dans trois types d'agents (physiques, chimiques et biologiques) agissent en modifiant le génome d'une cellule (Monier et Tubiana, 2008).

Les agents chimiques :les cancérogènes chimiques sont des molécules qui non seulement auront tendance à interagir avec l'intérieur hydrophobe des molécules d'ADN, mais s'intercaleront également dans les membranes et les cancérogènes ultimes hautement réactifs pourraient bien avoir des demi-vies beaucoup plus longues dans de tels microenvironnements hydrophobes (Stoddart, 1983).

Les preuves épidémiologiques sur la relation entre les produits chimiques réactifs et le cancer sont examinées. Ces très réactifs notamment (acrylonitrile ; bis [chlorométhyl] éther et chlorométhyl méthyl éther ; 1,3-butadiène, oxyde d'éthylène ; formaldéhyde ; gaz moutarde ; acide sulfurique ; et chlorure de vinyle) varient en termes d'utilisation et d'exposition. Tous sont des cancérigènes pour les animaux (**Dich et al., 1997**).

Les agents biologiques : Il existe maintenant des preuves suffisantes de cancérogénicité chez l'homme pour le virus lymphotrophique à cellules T humaines (**Blackadar, 2016**). De nombreuses autres causes de cancer ont également été identifiées par l'Agence internationale de recherche sur Cancer (CIRC), notamment: les parasites, les champignons, les bactéries, le poisson salé, la poussière de bois et les herbes (**Blackadar, 2016**).

Les agents physiques : Le danger du rayonnement dépend principalement de sa capacité ionisante et de sa capacité à pénétrer les tissus. Le rayonnement ultraviolet a un mécanisme assez différent pour générer des radicaux libres et des ions, car il est absorbé soit par les bases de l'ADN, les acides aminés aromatiques des protéines, soit par d'autres molécules plus petites (**Kripke, 1981**).

Tableau 1: Agents favorisant le développement d'un cancer (**Fridman et Sautès-Fridman, 2014**)

Agents	Cancers associés
<u>Agents physiques</u> Rayons X UV Radionucléides	Leucémies, lymphomes Mélanomes Cancer de la thyroïde Leucémies
<u>Agents chimiques</u> Tabac Amiante Goudron Sciure de bois	Cancer du poumon Cancer Oto-rhino-laryngologique (ORL) Cancer de la vessie Mésothéliome Cancer du poumon Cancer des testicules Cancer des fosses nasales
<u>Agents biologiques</u> Virus Virus de papillome humain Virus des hépatites B et C Virus d'Epstein-Barr Virus Herpès humain de type 8	Cancer du col de l'utérus Cancer ORL Cancer du rectum, cancer du vagin Cancer du foie Lymphomes Sarcome de Kaposi

Virus lymphotrope T humain de type 1 Bactéries <i>Helicobacter pylori</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> Parasites <i>Schistosoma haematobium</i> <i>Opisthorchis viverrini</i>	Lymphomes T Cancer de l'estomac Cancer de la vésicule biliaire Cancer du poumon Cancer de la vessie Cholangiocarcinome hépatique
--	---

I.4.La cancérogénèse

L'étude des mécanismes de la cancérogénèse a considérablement fait progresser la connaissance des processus fondamentaux qui règlent la vie des cellules dans les organismes supérieurs, comme par exemple la prolifération, la différenciation ou encore l'apoptose qui est une forme de mort cellulaire physiologique (**Janin, 1994**). La cancérogénèse est la chaîne d'événements par laquelle un tissu normal devient malin (**stoddart, 1983**). celle-ci peut être divisée en trois étapes : initiation, promotion et progression (**Loebet Harris, 2008**).

I.4.1.L'initiation :

Induite par une seule exposition à un cancérogène génotoxique qui induit une génotoxicité (**Hennings et al., 1993 ; Lopez et al., 2020**). La génotoxicité peut se manifester d'une part directement par action sur le matériel génétique (adduits, cassures de brins) des catabolites électrophiles formés par bioactivation du pro-cancérogène initial, processus sous la dépendance de facteurs génétiques (polymorphismes) et/ou acquis (interactions enzymatiques en phase I des biotransformations métaboliques) ou par l'intermédiaire de la production d'espèces radicalaires telles que les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Botta, 2003**). Cela modifie la réactivité des cellules à leur environnement et fournit un avantage prolifératif (**Lopez et al., 2020**). Cette première phase constitue un événement dont le changement sur le matériel génétique est irréversible (**Hennings et al., 1993**).

I.4.2.La promotion :

Est une période de prolifération et d'accumulation de cellules préneoplasiques (**Lopez et al., 2020**). Mais souvent de façon temporaire ou réversible grâce à faible dose des agents de promotion, ces derniers sont inefficaces chez l'animal, Ils doivent être administrés suffisamment longtemps et à dose notable pour avoir un effet irréversible. L'irritation

mécanique prolongée et l'inflammation sont des promoteurs puissants (**Monier et Tubiana, 2008**).

Le traitement par promoteur fournit un environnement qui permet l'expansion clonale sélective des foyers de cellules initiées (**Hennings et al., 1993**). Soit que ce clone soit plus sensible que les cellules saines aux facteurs de croissance présents, soit que l'apoptose y soit diminuée (**Monier et Tubiana, 2008**).

I.4.3. La progression

La conversion des papillomes squameux en carcinomes (appelée progression ou conversion maligne) se produit spontanément à une faible fréquence (**Hennings et al., 1993**).

La progression est imparfaitement comprise, mais les agents (incluant peut-être des promoteurs) agissant à ce stade pourraient influencer le taux d'émergence d'une malignité clinique à partir d'une pré-malignité (**Stoddart, 1983**), Telle que dysplasie et l'hyperplasie (**Yakota, 2000**).

Certains clones qui se sont développés pendant la promotion croissent en l'absence de promoteurs et à la suite d'altérations du génome de nouvelles lignées cellulaires apparaissent des sous-clones (**Monier et Tubiana, 2008**). Caractérisée par la perte de la différenciation, du contrôle du cycle et de la multiplication cellulaire (**Loriot, 2011**). L'acquisition des capacités d'invasion locale et de dissémination à distance (formation de métastases) (**Giraud et Trédaniel, 2019**).

Plusieurs travaux concernant la progression tumorale l'associent à l'installation d'un réseau vasculaire suite à une angiogenèse tumorale (**Hsieh et Tsai, 2019**). Et on en conclue que cette dernière est d'une importance cruciale pour leur métastase (**Yuan et al., 2000**).

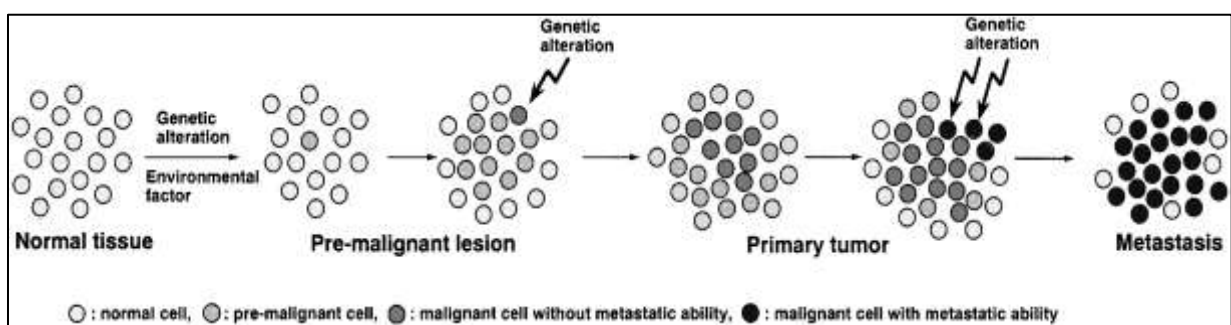


Figure 03 : les étapes et stades du cancer (**Yakota, 2000**).

I.5. Propagation métastatique des cancers (invasion tumorale)

On appelle métastase, l'extension à distance, de façon discontinue par rapport à la tumeur originale, aboutissant à la formation de nouveaux foyers tumoraux (**Robert, 2013**). Le microenvironnement tumoral contribue à la migration de ces cellules et, de ce fait, à l'invasion tumorale (**Albregues, 2014**). La cascade d'invasion et de métastase implique généralement les étapes suivantes (**Figure 04**).

1. **invasion locale:** dans ce processus, la petite tumeur in situ traverse la barrière de la membrane basale (**Hejmadi, 2009**).
2. **intravasation:** la tumeur envahit la matrice extracellulaire. Elle passe ensuite dans la circulation sanguine ou lymphatique (**Albregues et al., 2014**). Il s'agit d'une étape critique dans cette voie et elle implique un changement morphologique complexe, dans lequel la cellule cancéreuse acquiert des propriétés d'invasivité et de motilité cellulaire.
3. **Transport:** Les cellules cancéreuses voyagent dans le sang ou la lymphe jusqu'à ce qu'elles s'ancrent dans un tissu de support solide, les cellules cancéreuses survivantes se logent dans le premier ensemble de capillaires qu'elles rencontrent (principalement en raison des grosses cellules bloquant le petit passage des capillaires) et forment des microthrombes (**Hejmadi, 2009**).
4. **Extravasation :** quitter la circulation lymphatique ou sanguine pour gagner l'organe où elles s'implanteront (**Robert, 2013**).
5. **Formation de micrométastases:** lors de l'extravasation, les cellules cancéreuses sont maintenant capables de réactiver les voies de prolifération cellulaire et de former une petite masse tumorale qui se développe soit dans la lumière du capillaire, soit à travers la paroi du vaisseau.
6. **Colonisation:** Il s'agit de l'étape la plus complexe et la plus difficile, principalement parce que le nouvel environnement ne fournit pas toujours les facteurs de survie et de prolifération nécessaires à la croissance. La plupart des cellules cancéreuses meurent ou survivent généralement pendant de longues périodes sous forme de micrométastases (qui sont beaucoup plus difficiles à détecter) (**Hejmadi, 2013**).

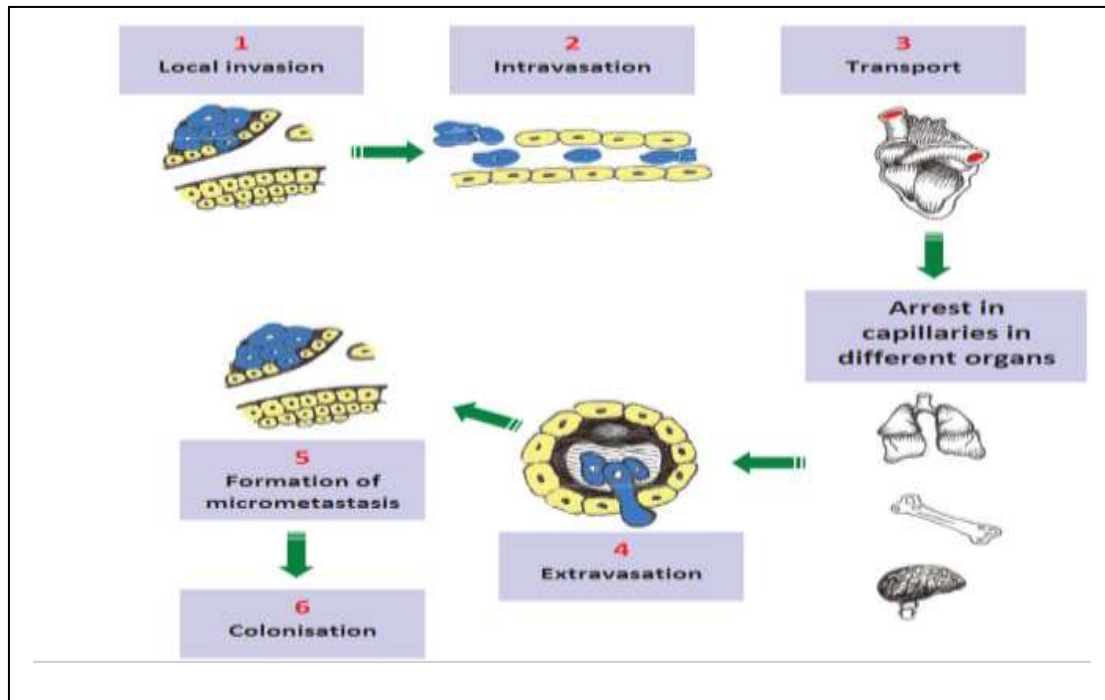


Figure 04 : les étapes d'invasion des tumeurs et de métastase (Hejmadi, 2009).

I.6.Gènes impliqués dans la cancérogènes

Les gènes impliqués dans la cancérogènes sont parfois classés en ceux qui influencent la durée de vie des cellules et ceux qui ont d'autres effets, tels que la modification de la sensibilité aux stimuli externes. Le premier groupe a tendance à coder pour des protéines supprimeur de tumeurs nucléaires, tandis que la dernière catégorie code pour des protéines oncogènes extranucléaires) (King et Robins, 2006). Il est clair que le cancer peut se développer à partir de changements dans l'un ou l'autre de ces deux systèmes (King et Robins, 2006).

I.6.1.Gènes supresseurs

Gènes s'opposant à l'action des oncogènes, qu'on a appelés anti-oncogènes (Tubiana, 2008) qui agissent comme des freins aux signaux de prolifération (régulateurs négatifs de la division cellulaire (Hejmadi, 2009). la perte de ces gènes spécifiques concernés par la réparation des dommages cellulaires, la mort cellulaire ou l'inhibition de la croissance. Dans ce cas le sujet sera prédisposé au cancer (King et Robins, 2006).

La transformation d'une cellule normale en cellule tumorale peut être réalisée par exemple par deux mutations successives touchant respectivement les deux allèles d'un gène

suppresseur care taker ou gate keeper ou bien, dans les cas où une mutation germinale est déjà présente à la naissance sur un gène suppresseur gate keeper, une seule mutation acquise sur l'autre allèle suffit à initier le processus de transformation. Dans ce dernier cas le sujet sera prédisposé au cancer (**Botta, 2003**).

I.6.2. Proto-oncogène

Les proto-oncogènes codent pour des protéines qui stimulent la division du cycle cellulaire, mais des formes mutées, appelées oncogènes, provoquent une hyperactivité des protéines stimulatrices, ce qui entraîne une prolifération excessive des cellules. Les oncogènes sont dominants sur les proto-oncogènes (**Hejmadi, 2009**).

Ils sont classés en quatre familles principales (protéines kinases, protéines G, proto oncogènes nucléaires, facteurs de croissance). Actifs durant l'embryogenèse et les réparations tissulaires, peu actifs à l'état physiologique, ils sont activables en oncogènes par mutation sur leur partie codante ou par amplification génique résultant d'une translocation rapprochant le promoteur et l'effecteur (**Botta, 2003**).

I.7. Traitement du cancer

Le traitement du cancer est basé sur l'élimination et / ou la destruction des cellules tumorales tout en minimisant les effets secondaires indésirables de la thérapie sur les cellules normales. Habituellement, la première option thérapeutique est la chirurgie ou la radiothérapie pour éliminer totalement ou réduire la masse de la tumeur. Cependant, il arrive souvent qu'au moment où la tumeur primaire ait été détectée, des tumeurs secondaires se soient établies, de sorte que la chimiothérapie, la radiothérapie et l'hormonothérapie suivent généralement la chirurgie (**King et Robins, 2006**).

L'éradication des cellules tumorales disséminées présentes dans la circulation sanguine et des micro-métastases dans des organes distants représente donc une autre approche prometteuse en immunothérapie anticancéreuse (**Schuster et al., 2006**).

I.7.1. La chirurgie

L'intervention peut servir à prélever une biopsie dans la lésion suspecte, à réséquer la tumeur primitive, à contourner un obstacle ou à soulager de manière palliative. La chirurgie reste la méthode la plus commune pour traiter les cancers localisés, comme les cancers du sein, du côlon ou du poumon. Même si une tumeur ne peut pas être réséquée, une biopsie

permet de confirmer le diagnostic. Parfois, dans un but palliatif, le chirurgien établira un contournement d'une lésion obstructive. La chirurgie peut également contribuer à la stadification de la maladie. Pour le cancer ovarien, l'objectif est l'élimination de la plus grande quantité de tissu tumoral afin d'amplifier l'efficacité de la chimiothérapie (**Goldman et Masson, 2015**).

I.7.2.Radiothérapie

Au cours du vingtième siècle, la prestation de la radiothérapie pour le cancer s'est constamment améliorée. Désormais, des faisceaux de rayonnement concentrés peuvent être focalisés directement sur le site de la tumeur avec un minimum de dommages aux tissus adjacents. Cette technique minimise le potentiel de préjudice qui pourrait être causé par l'induction de mutations qui pourraient initier le développement de cancers entièrement nouveaux. L'application localisée de rayonnement offerte par cette nouvelle technologie augmente également la dose qui peut être administrée en toute sécurité à un patient (**Paraic et Kenny, 2007**). La radiothérapie intervient dans le traitement d'un cancer sur deux, notamment lors de la phase initiale de la maladie où se « joue » l'essentiel de la guérison du patient (**Gérard et al., 2010**).

I.7.3.Traitement médicamenteuse

I.7.3.1.Chimiothérapie

Pour lutter contre les métastases à distance, la chimiothérapie est souvent une bonne option. Ce sont généralement des médicaments toxiques qui circulent dans tout le corps et tuent les cellules à division rapide (**Paraic et Kenny, 2007**).

La chimiothérapie est actuellement utilisée dans trois contextes cliniques principaux :

1. traitement d'induction primaire pour une maladie avancée ou pour des cancers pour lesquels il n'existe pas d'autres approches thérapeutiques efficaces,
2. traitement néoadjuvant pour les patients qui présentent une maladie localisée, pour lesquels les formes locales de thérapie telles que la chirurgie ou la radiothérapie, ou les deux, sont inadéquates en elles-mêmes.
3. traitement adjuvant aux méthodes de traitement locales, y compris la chirurgie, la radiothérapie ou les deux (**Katzung, 2017**).

I.7.3.2.Hormonothérapie

L'hormonothérapie fait partie des stratégies permettant de traiter les cancers tout en réduisant les risques de récurrences. On a trois Cadre de la prescription de l'hormonothérapie :

- ✓ **En situation palliative** lorsque le cancer est en phase métastatique et n'est plus curable.
- ✓ **En tant que thérapeutique adjuvante** suite à une exérèse (tumeur mammaire primitive ou prostatectomie) en cas de risque de métastase.
- ✓ **En situation néoadjuvante** lorsque la tumeur ne peut être traitée en l'état (volume trop important ou extension locale). Dans ce cas, elle sera suivie par une prise en charge locale chirurgicale ou radio thérapeutique (**Clere et Faure, 2018**).

I.7.3.3.Immunothérapie

L'immunothérapie active du cancer vise à induire une réponse immunitaire (préventive ou thérapeutique) endogène et de longue durée spécifique à l'antigène tumoral (**Bertolaccini et Olivero, 2001**). Les approches appliquées en immunothérapie reposent sur la complémentation ou la stimulation du système immunitaire via une multitude de composés, tels que des lymphokines, des vaccins, des cellules effectrices du système immunitaire stimulées in vitro ou des anticorps (**Schuster et al., 2006**), le blocage des molécules de point de contrôle immunitaire, telles que Cytotoxic T-lymphocyte antigen - 4(CTLA-4) et Programmed cell death - 1(PD-1), réactivent les cellules cluster de différenciation 8+ T (CD8+T) cytotoxiques et tuent les cellules cancéreuses(**Shitara et Nishikawa, 2018**).

De nombreuses molécules exprimées plus ou moins spécifiquement par les cellules tumorales - les TAA (tumor associated antigens) - ont alimenté l'espoir de développer des vaccins thérapeutiques contre les tumeurs exprimant ces antigènes (**Darrasse et Klatzmann, 2011**).

I.7.3.4.Thérapie antiangiogénique

Un effet thérapeutique des molécules anti-angiogéniques vise à inhiber la formation de novo de vaisseaux sanguins. On pense généralement que l'inhibition de l'angiogenèse tumorale supprime la croissance de la tumeur en limitant son accès aux nutriments «affamer la tumeur» (**Rüegg et al., 2002**).

Ces molécules peuvent avoir pour cible des récepteurs membranaires ou une cible intracellulaire. Les inhibiteurs de récepteurs membranaires. Peuvent être séparés en deux familles Selon leur site d'action:

- ✓ **Des anticorps monoclonaux**, qui s'administrent par voie intraveineuse et agissent sur les ligands de récepteurs membranaires ou sur la portion extracellulaire de ces récepteurs,
- ✓ **Des inhibiteurs de tyrosine kinase**, qui sont de petites molécules d'administration orale qui agissent sur la portion intracellulaire des récepteurs(Dreyer et al.,2009).

leur efficacité est encore insuffisante, les effets secondaires sont multiples et ces traitements ne sont pas efficaces sur tous les types de cancers (**Galaup et Germain, 2008**).

Chapitre 2 :

Angiogenèse

II. Système vasculaire

Un organe hautement spécialisé qui exécute un certain nombre de tâches physiologiques clés, notamment le transport de l'oxygène et des nutriments vers les tissus. La formation du système vasculaire est une étape essentielle et limitante du développement (**Patel, 2011**). Produit par trois mécanismes (la vasculogénèse, l'angiogénèse et la lymphogénèse).

II.1. Vasculogénèse

Un terme inventé par Risau et ses collègues en 1988 (**Risau et Lemmon, 1988**). Ça commence tôt au cours du développement de l'embryon et prévaut au début de la structuration de l'embryon et de la formation des organes (**Ribatti et al., 2015**).

Le mésoderme embryonnaire, ainsi que le sac vitellin extra-embryonnaire, l'allantoïde et le placenta ont été identifiés comme des sources de cellules progénitrices endothéliales et hématopoïétiques vasculaires et sont des sites de vasculogénèse (**Caprioli et al., 2001**).

Les angioblastes (cellules progénitrices endothéliales) migrent, individuellement ou en petits groupes, vers des sites spécifiques dans l'embryon, adhèrent les uns aux autres et forment des cordons lâches. La signalisation du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) (**Ribatti et al., 2009**). Et le facteur de croissance basique des fibroblastes (bFGF) sont importantes pour l'initiation de la spécification des angioblastes (**Cox CM, 2000**). La vasculogénèse se produit également dans la vie postnatale, sous le nom de « vasculogénèse postnatale », qui est la formation de novo de vaisseaux par incorporation, différenciation, migration et/ou prolifération in situ de cellules précurseurs endothéliales dérivées de la moelle osseuse (**Ribatti et al., 2001**).

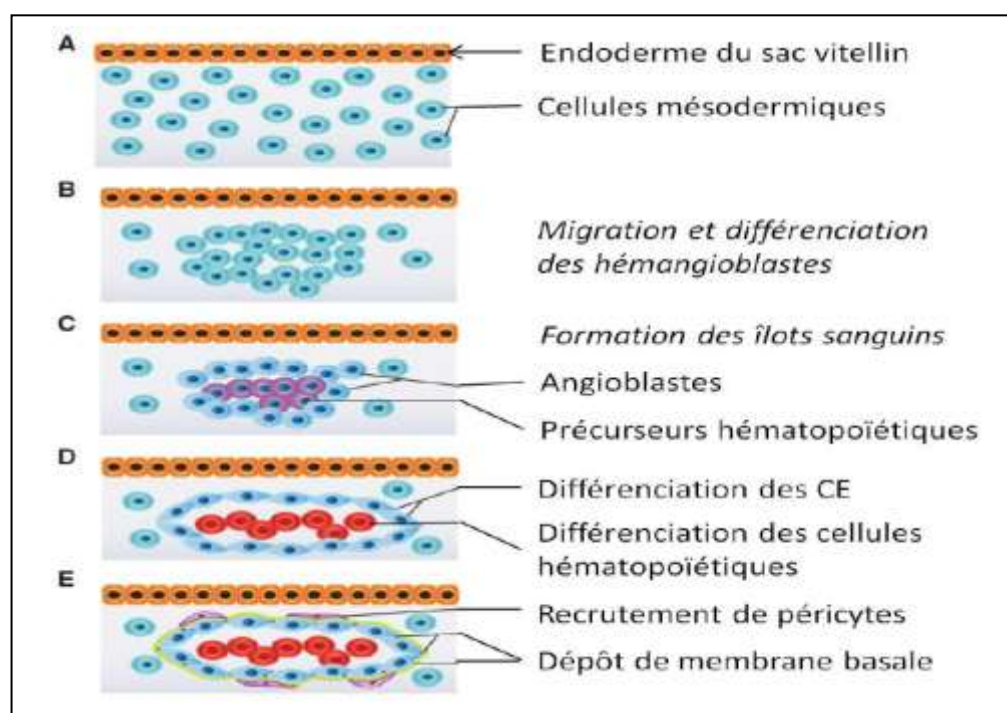


Figure05 : Schéma de la vasculogénèse extra-embryonnaire (Patel et D'Amore, 2011).

II.2. Angiogénèse

Le terme « angiogénèse » ait été proposé pour la première fois par **Hertig**, en 1935, pour décrire la croissance explosive de vaisseaux sanguins dans le placenta de la guenon (**Feige, 2010**).

L'angiogénèse est un processus essentiel lors de tout événement de réparation ou de prolifération tissulaire, normale ou tumorale. Elle requiert la migration, la multiplication et la différenciation de cellules endothéliales issues des vaisseaux préexistants (**Tobelem, 1990**). C'est un processus hautement régulé, c'est-à-dire activé pendant de brèves périodes puis complètement inhibé (**Otrock et al., 2007**).

Ils l'existent différents mécanismes de croissance des vaisseaux sanguins, y compris la germination et l'angiogénèse invaginale, le mimétisme vasculaire. Malgré cette variété de mécanismes angiogéniques, la plupart des recherches actuelles se concentrent sur le mécanisme de l'angiogénèse de germination parce que ce mécanisme a été décrit pour la première fois et parce que la plupart des modèles expérimentaux existants sont liés à l'angiogénèse de germination. (**Spiegelaere et al., 2012**). Parmi les différents modes opératoires employés par l'angiogénèse, nous décrivons ici le bourgeonnement (germination), dont les mécanismes moléculaires sont les plus largement connus (**Treps et Gavard, 2015**).

II. 2.1. L'angiogénèse physiologique (par germination)

L'angiogénèse par bourgeonnement commence lorsque les cellules endothéliales des capillaires existants acquièrent le phénotype de la cellule de pointe par l'action d'un cocktail de protéines produit typiquement par les cellules tissulaires dans un micro-environnement hypoxique (**Gerhardt et al., 2003**). Et essentiellement pendant la réparation des tissus, le développement fœtal et le cycle de reproduction féminin (**Pandya et al., 2006**). Un rôle crucial dans l'organogénèse (**Risau, 1997**). La cicatrisation des plaies, L'inflammation (**Tonnesen, 2000; Jackson, 1997**).

La formation de nouveaux vaisseaux sanguins capillaires provenant de micro-vaisseaux existants implique également un recrutement différentiel de cellules de support associées à différents segments du vasculature. Dans la condition physiologique, l'activité des inducteurs et des inhibiteurs de l'angiogénèse le maintient en équilibre (**Pandya et al., 2006**).

II. 2.2. Les étapes de l'angiogénèse physiologique

II. 2.2.1. La déstabilisation (désassemblage)

Après qu'un signal angiogénique, tel que Vascular endothelial growth factor-C VEGF, VEGF-C, Angiopoietin -2 ANG-2, fibroblast growth factor FGF ou chimiokines, soit libéré par une cellule hypoxique, inflammatoire ou tumorale, les péricytes se détachent d'abord de la paroi du vaisseau (en réponse à ANG-2) et se libèrent de la membrane basale par dégradation protéolytique, qui est médiée par les métalloprotéinases matricielles (MMP). Les cellules endothéliales relâchent leurs jonctions et le vaisseau naissant se dilate. Le VEGF augmente la perméabilité de la couche de cellules endothéliales, provoquant l'extravasation des protéines plasmatiques et la formation d'un échafaudage de matrice extracellulaire (ECM) provisoire (**Carmeliet et Jain, 2011**).

II. 2.2.2. La sélection

Les cellules de pointe sont sélectionnées par l'expression Delta-Like Ligand Dll4 et la signalisation Notch entre les cellules endothéliales adjacentes au front angiogénique. Initialement, on pense que la signalisation Dll4 et Notch est équilibrée dans les cellules endothéliales jusqu'à ce que les cellules de pointe présumées augmentent finalement l'expression de Dll4 en réponse à la signalisation VEGF. Par conséquent, Notch est régulé dans les cellules voisines, ce qui inhibe l'expression des récepteurs VEGF. Ainsi, les cellules

de pointe exprimant Dll4 réagissent le plus fortement à la signalisation du VEGF et acquièrent un phénotype mobile, invasif et de germination, tandis que le comportement des cellules de pointe est supprimé dans les cellules exprimant Jagged 1 Jag1 (tige), qui forment la base de germe émergente (Eilken et Adam, 2010).

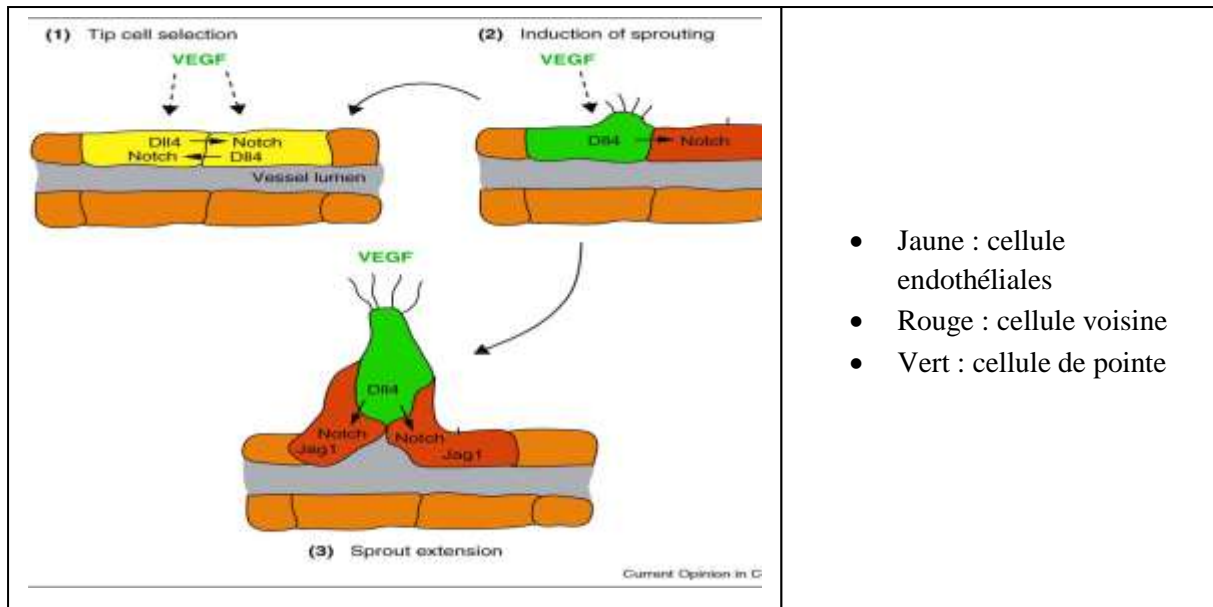


Figure 06 : Les mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front (Eilken et Adam, 2010).

II. 2.2.3. La migration

Une cellule de pointe prolifère, mais migre vers l'avant, navigue avec ses filopodes, Les cellules voisines deviennent des cellules de soutien qui prolifèrent et migrent, contribuant ainsi à l'allongement de la germination.

A partir des échanges dynamique entre les cellules de pointe et les cellules de soutien, Les cellules endothéliales (CE) migrent et permettent au pédoncule de se multiplier et d'allonger le germe (Heck et al., 2015) (figure 07).

II. 2.2.4. La fusion et la formation de la lumière

Sous l'impulsion de la prolifération des cellules de soutien, le néovaisseau s'allonge, guidé par la cellule de front. Lorsque deux cellules de front entrent en contact au travers de leurs filopodes, les deux bourgeons vasculaires fusionnent par anastomose et forment un vaisseau connecte (Wacker et al., 2011).

II.2.2.5. La maturation et le flux sanguin

La maturation du vaisseau nécessite le rétablissement de la barrière endothéliale et du flux sanguin. La voie de signalisation impliquant l'angiopoïétine 1 (Ang1) et son récepteur Tie2 (tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology domains – 2) s'oppose aux actions du VEGF. Elle induit le renforcement des jonctions entre les cellules endothéliales ainsi que leur quiescence (Gavard *et al.*, 2008).

Des signaux tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes B (PDGF-B), ANG-1, le facteur de croissance transformant- β (TGF- β), l'éphrine-B2 et NOTCH provoquent la couverture des cellules endothéliales de péricytes. Les inhibiteurs de protéase connus sous le nom d'inhibiteurs tissulaires de métalloprotéinases (TIMP) et d'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-1 (PAI-1) provoquent le dépôt d'une membrane basale et les jonctions sont rétablies pour assurer une distribution optimale du flux (Carmeliet et Jain, 2011).

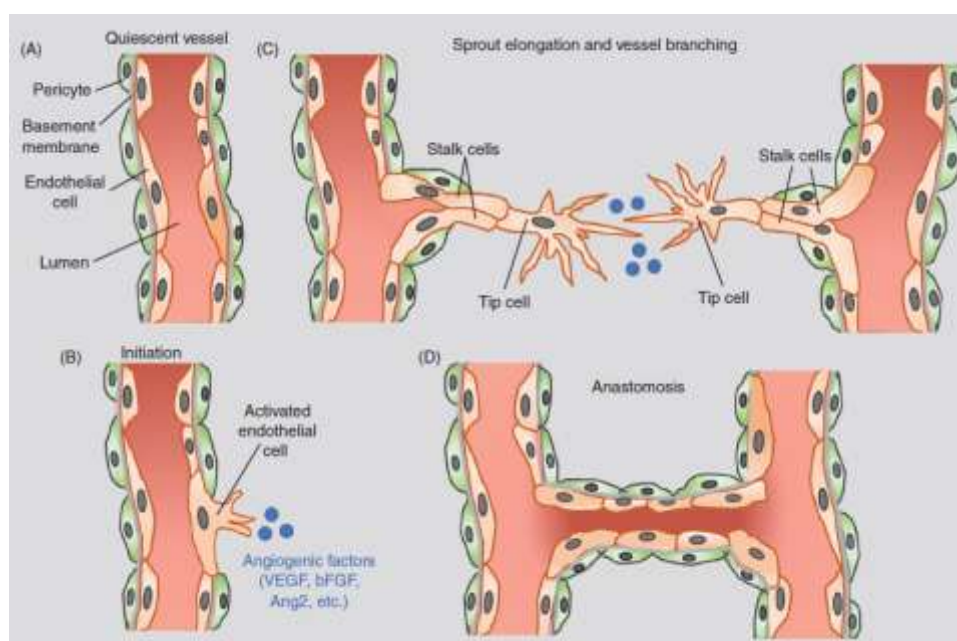


Figure 07 : Schéma illustrant les étapes de l'angiogenèse physiologique (Duran *et al.*, 2011).

II. 3. Lymphogénèse

Les vaisseaux lymphatiques sont présents dans quasiment tous les tissus exceptés les cartilages, la cornée, le cristallin n'ayant pas de vascularisation sanguine et certains organes qui bénéficient cependant d'une microcirculation sanguine comme le système nerveux central, la rétine ou la moelle osseuse (**Killer et al., 2008**).

L'organisation des voies lymphatiques est variable selon l'organe mais le schéma de base en est un réseau vasculaire lymphatique formé de vaisseaux initiaux borgnes, interconnectés et branchés sur des vaisseaux précollecteurs puis collecteurs réalisant un système arborescent unidirectionnel pour finalement se drainer dans le système veineux sanguin (**Bernaudin et al., 2013**).

Les « lymphatiques initiaux » (capillaires lymphatiques ou lymphatiques terminaux). Ils sont constitués d'une couche de cellules endothéliales sans péricyte et sans cellule musculaire lisse avec une absence de ou une membrane basale discontinue. La face abluminale est connectée aux fibres collagènes et élastiques de la matrice extracellulaire (MEC) environnante par des filaments d'ancrage (**Leak et Burke, 1968**). Les cellules endothéliales lymphatiques sont interdigitées et chevauchantes, unies par des jonctions « en bouton » (**Baluk et al., 2007**).

Une longue controverse a débuté au début du siècle dernier à propos de l'origine des vaisseaux lymphatiques, leur attribuant, soit une origine mésenchymateuse dans le modèle dit centripète de Huntington (1908) (**Huntington et McClure, 1908**). Soit dans le modèle dit centrifuge de Sabin (1902) (**Sabin, 1902**). Une origine veineuse avec formation de sacs lymphatiques primaires. À partir de ces sacs lymphatiques, le système lymphatique se met en place dans les tissus avoisinants par émergence de nouveaux espaces lymphatiques et bourgeonnement endothéliaux. Différents modèles ont mis en évidence l'absence de système lymphatique après inhibition de la « spéciation » des cellules endothéliales lymphatiques à partir des cellules endothéliales veineuses (**Wigle et al., 2002**).

La « spéciation » des cellules endothéliales lymphatiques est donc la première étape de la lymphangiogenèse, Après cette première étape, les cellules endothéliales migrent pour former les sacs lymphatiques primaires et les premiers réseaux vasculaires lymphatiques, suivis de la différenciation et de la maturation terminale de cette vascularisation, l'évènement initial étant la « spéciation » de précurseurs de cellules endothéliales lymphatiques

commencent alors à exprimer des facteurs de transcription clés agissant dans la programmation de la spécificité lymphatique.

Une fois « spécifiés », ces précurseurs émergent rapidement des veines et migrent dans le mésenchyme embryonnaire pour former les sacs lymphatiques embryonnaires d'un diamètre de 30 à 80 μ m. Secondairement, ces sacs lymphatiques s'isolent des veines cardinales et se répandent en se ramifiant dans le mésenchyme environnant pour former les premiers réseaux/plexus lymphatiques embryonnaires. On admet actuellement que ce pool de précurseurs de cellules endothéliales lymphatiques est à l'origine du réseau vasculaire lymphatique mature par remodelage et expansion des sacs lymphatiques et des plexus lymphatiques initiaux (**Bernaudin et al., 2013**).

Les cellules tumorales que les cellules stromales, les cellules pro-inflammatoires infiltrant les tumeurs mais également les cellules endothéliales des lymphatiques, contribuent à la formation intra- et péri-tumorale d'une néolymphangiogenèse par la sécrétion de facteurs de croissance lymphangiogènes : VEGFs, FGFs, platelet derived growth factor (PDGF), angiopoïétines, Hépatocyte Growth Factor(HGF), Facteur de croissance de type insuline (IGFs) principalement mais non exclusivement (**Bernaudin et al., 2013**).

II .4 .Médiateurs de l'angiogenèse

L'angiogenèse est un processus complexe, finement régulé par le biais de médiateurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques (**Clavel et al., 2003**).

II .4 .1. Les activateurs de l'angiogenèse

➤ VEGF (vascular endothelial growth factor)

Le VEGF est un facteur de croissance des cellules endothéliales agissant via des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine-kinase (**Fiege, 2010**). L'expression du VEGF est induite par de nombreux facteurs de croissance et cytokines, mais le stimulus le plus puissant reste l'hypoxie (**Brogi et al., 1994**).Ce dernier induit une prolifération et une migration des cellules endothéliales ainsi que la formation de tubes capillaires(**Couffinhall et al.,2001**).

➤ **FGF (fibroblast growth factor)**

Les FGF sont des facteurs pléiotropes agissant sur différents types cellulaires, notamment cellules endothéliales, après interaction avec l'héparane-sulfate protéoglycanes (HSPG) et récepteurs tyrosine kinase FGF (FGFR) (**Presta et al., 2005**). Il existe deux formes de facteur de croissance des fibroblastes: FGF basique et FGF acide (**Hom et Maisel, 1992**). Le FGF acide et le FGF basique sont de puissants stimuli pour les composants cellulaires de la paroi vasculaire (**Esch et al., 1985**).

➤ **PD-ECGF (Facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes)**

Le PD-ECGF est un mitogène des cellules endothéliales initialement purifié jusqu'à homogénéité à partir de plaquettes humaines. Le PD-ECGF a une activité chimiotactique pour les cellules endothéliales in vitro et un angiogénique in vivo (**Takahashi et al., 1996**).

➤ **HGF (Facteur de croissance des hépatocytes)**

Le HGF est produit par les cellules stromales et stimule la prolifération des cellules épithéliales, la motilité, la morphogénèse et l'angiogénèse dans divers organes via la phosphorylation de la tyrosine de son récepteur (**Nakamura et Mizumo, 2010**).

➤ **Autres facteurs de croissances**

Les autres facteurs de croissance angiogéniques qui ne se lient pas à l'héparine comprennent le facteur de croissance épidermique, le facteur de croissance I analogue à l'insuline et le facteur de croissance transformant β (**Szekanecz et Koch, 2007**). Et de l'angiopoïétine-1 (Ang-1), d'Ang-2 (**Fayette et al., 2006**).

II .4 .2.Les inhibiteurs de l'angiogénèse

Il existe un grand nombre de molécules inhibitrices de l'angiogénèse, naturelles, synthétique, dérivés des tumeurs et Agents pharmacologiques.

➤ Inhibiteurs naturels de l'angiogénèse

La thrombospondine, molécule de la matrice extracellulaire, a été montrée comme inhibitrice de la prolifération endothéliale, de la migration et de la différenciation endothéliale (**Zetter, 1998**).

Les interférons peuvent inhiber la migration des cellules endothéliales capillaires et ont été montrés comme ayant une activité anti-angiogénique in vivo, mais ils ne sont pas capables à eux seuls d'entraîner une régression des tumeurs. Un autre mécanisme important des interférons est de bloquer la production ou l'efficacité des facteurs angiogéniques produits par les cellules tumorales. Les hémangiomes, tumeurs bénignes comprenant essentiellement des cellules endothéliales, sont particulièrement sensibles au traitement par l'interféron- α (**Couffinhal et al., 2001**).

Les inhibiteurs des métalloprotéinases de la matrice (TIMPs) bloquent la dégradation de la matrice extracellulaire et inhibent ainsi l'angiogénèse et la métastase tumorale. On les retrouve au niveau de nombreuses cellules et de nombreux tissus. Ils ont été montrés in vivo comme bloquant la prolifération et la migration des cellules tumorales et des cellules endothéliales (**Couffinhal et al., 2001**).

➤ Inhibiteurs synthétiques de l'angiogénèse

Les intégrines $\alpha 53$ ou $\alpha 51$ comme des médiateurs importants de l'angiogénèse. L'angiogénèse et la croissance tumorale peuvent être inhibées par des anticorps anti-intégrine, mais aussi par des peptides antagonistes qui bloquent l'interaction de ces intégrines avec leur ligand sur la matrice extracellulaire (**Brooks et al., 1994**). En présence de ces inhibiteurs, les cellules endothéliales des néovaisseaux deviennent apoptotiques, alors que les cellules endothéliales des vaisseaux matures préexistant ne sont pas touchées (**Brooks et al., 1996**).

➤ Inhibiteurs dérivés des tumeurs

L'angiostatine est la première molécule spécifiquement isolée à partir d'une tumeur murine. Il s'agit en fait d'un fragment du plasminogène. Il est un inhibiteur spécifique de la

prolifération et de la migration des cellules endothéliales. Il a été montré que l'angiostatine supprimait l'angiogenèse tumorale et entraînait une régression des tumeurs primitives et prévenait la croissance des métastases (**O'Reilly et al., 1996**).

L'endostatine est la deuxième molécule dérivée de tumeur. C'est un fragment du collagène XVIII, collagène fréquemment retrouvé autour des vaisseaux sanguins. Ce dernier inhibe la prolifération des cellules endothéliales microvasculaires et a été montré comme inhibant la croissance tumorale et celle des métastases. (**O'Reilly et al., 1997**).

✓ **Agent pharmacologique** qui inhibe l'angiogenèse Nous citerons la Fumagilline, antibiotique d'origine mycotique qui inhibe in vivo et in vitro la prolifération des cellules endothéliales (**O'Reilly et al., 1995**). la thalidomide comme un traitement contre le cancer et les maladies inflammatoires (**Franks et al., 2004**). Aussi les traitements antiangiogéniques par exemple : Bevacizumab (Avastin®), Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) (**Bennis et al., 2010**).

II.5. L'angiogenèse pathologique

L'angiogenèse joue un rôle important dans la pathogenèse de divers troubles comme le cancer, les rétinopathies prolifératives et la polyarthrite rhumatoïde (**Ferrara, 1995**). Et aussi les cardiopathies ischémiques, le psoriasis, la tumorigenèse et la croissance tumorale (**Góth et al., 2003**).

II.5.1. L'angiogenèse tumorale

Folkman a proposé que la croissance tumorale et les métastases dépendent de l'angiogenèse, et par conséquent, le blocage de l'angiogenèse pourrait être une stratégie pour arrêter la croissance tumorale (**Carmeliet et Jain, 2000**).

L'angiogenèse tumorale, est essentielle à la croissance tumorale et à la dissémination métastatique des cellules malignes, varie selon le type histologique des tumeurs (**Dumortier et al., 1999**). A partir d'une taille critique de 3 mm de diamètre, la tumeur a besoin de quelques vaisseaux sanguins pour assurer son approvisionnement en oxygène et en nutriments, l'évacuation des déchets du métabolisme et l'apport de facteurs de croissance (**Huynh, 2006**).

La production de VEGF et d'autres facteurs de croissance par la tumeur entraîne le « commutateur angiogénique », où un nouveau système vasculaire se forme dans et autour de la tumeur, lui permettant de croître de manière exponentielle (**Carmeleit, 2005**). Car Les vaisseaux tumoraux sont beaucoup plus tortueux et de calibre plus irrégulier que les vaisseaux physiologiques, et leurs propriétés hydrodynamiques sont mauvaises. Cela est le reflet d'une mauvaise couverture péricytaire des capillaires tumoraux et d'une prolifération endothéliale anarchique (**Feige, 2010**).

II. 5. 2. Les mécanismes de l'angiogenèse tumorale

La vascularisation tumorale se produit par plusieurs processus biologiques, distincts, qui varient non seulement entre le type de tumeur et localisation anatomique, mais se produisent également simultanément dans le même tissu cancéreux. . Ces processus sont orchestrés par une gamme des facteurs sécrétés et des voies de signalisation et peut impliquer la participation de cellules non endothéliales, telles que les progéniteurs ou cellules souches cancéreuses (**Lugano et al., 2020**).

La croissance tumorale s'accompagne de zones hypoxiques et nécrotiques qui vont être à l'origine de la surexpression de facteurs pro-angiogéniques parmi lesquels le VEGF joue un rôle prépondérant (**Shweiki et al., 1992**). Cette sécrétion de facteurs pro-angiogéniques déclenche les mécanismes qui vont conduire à une angiogenèse active (**Guillamo, 2011**).

Le mode communément accepté d'angiogenèse tumorale est la germination endothéliale (**Patan et al., 1996**). Où L'angiogenèse tumorale nécessite une activation constitutive des cellules endothéliales. Ces cellules endothéliales dissolvent leur environnement extracellulaire matrice, migrent vers la tumeur, prolifèrent et forment un nouveau réseau vasculaire, fournissant ainsi à la tumeur des nutriments et de l'oxygène et éliminant les déchets (**Plate et al., 1994**).

II .5. 3. Le switch angiogénique

Le processus par lequel la tumeur initialement in situ devient invasive est un événement précoce important dans la progression tumorale Elle est initiée par une hypoxie locale (**Mazeron et al., 2008 ; Ruoslahti, 2002**). Cette réduction locale des niveaux d'oxygène

est apparue comme un indice physique majeur déclenchant le passage à un phénotype angiogénique (**Giordano et Johnson, 2001**).

Le passage de l'état de repos à l'état activé des vaisseaux (induction de l'angiogenèse, «angiogenic switch») est déclenché par la rupture de l'équilibre relatif entre les facteurs activateurs et les facteurs inhibiteurs, Le statu vasculaire de repos est maintenu dans les tissus grâce à la prédominance des facteurs anti-angiogéniques sur les facteurs pro-angiogéniques. La diminution des inhibiteurs et/ou l'augmentation des activateurs entraîne un déplacement de l'équilibre en faveur des activateurs et induit par conséquent une néovascularisation(**Huynh, 2006**). (**Figure 08**)

La plupart des tumeurs humaines surviennent et restent in situ sans angiogenèse pendant des mois à des années avant de passer à un phénotype angiogénique. Le passage phénotypique à l'angiogenèse est généralement accompli par un sous-ensemble qui induit de nouveaux capillaires qui convergent ensuite vers la tumeur. Ces nouveaux vaisseaux imprègnent la tumeur de sang, qui transporte les nutriments et l'oxygène vers la tumeur et les catabolismes (**Ribatti et al., 2007**).

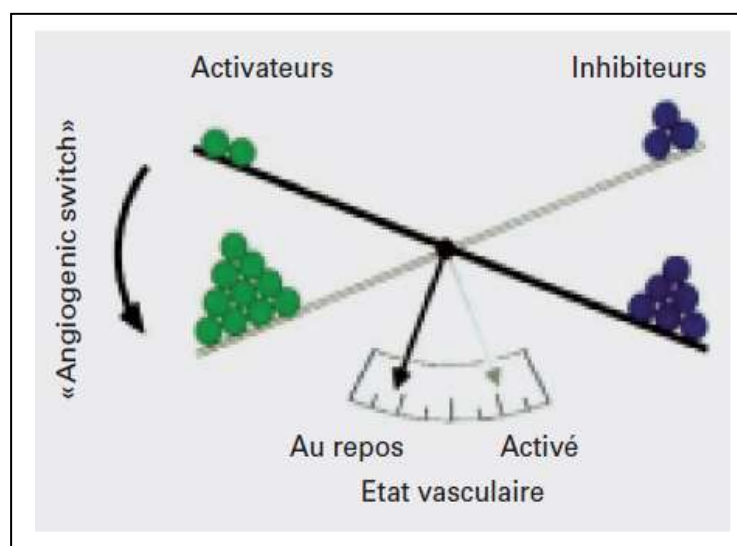


Figure 08 : Interactions entre les activateurs et les inhibiteurs de l'angiogenèse (**Huynh, 2006**).

II.6. Le rôle d'hypoxie dans l'angiogenèse

Hypoxie, une réduction du niveau d'oxygène dans les tissus due à un apport insuffisant d'oxygène à la demande du tissu (**Semenza, 2000**). Peut résulter de circonstances physiologiques telles que l'exercice et le voyage à haute altitude, ou de conditions

physiopathologiques telles que la vascularisation tumorale mal formée (**Funasaka et Raz, 2007**).

Un régulateur clé de la réponse cellulaire à l'hypoxie est le hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1), un facteur transcriptionnel activateur d'un groupe de gènes responsables de l'adaptation à l'hypoxie (**Li et al., 2010**). HIF-1 est composé d'une sous-unité inductible, HIF-1 α et une sous-unité exprimée de manière constitutive, HIF-1 β (**Forsythe et al., 1996**).

HIF-1 α est une protéine de 120 Kd, membre des facteurs de transcription basiques de la superfamille hélice-boucle-hélice, et son expression est très sensible à la concentration en oxygène (**Li et al., 2010**).

II .6.1.Sous une tension d'oxygène normale (normoxie)

Le hypoxia-inducible factor(HIF) est détruit par hydroxylation, par reconnaissance d'E3 un complexe qui contient la protéine suppresseur de tumeur de von Hippel-Lindau (pVHL). Trois HIF prolyl-hydroxylases (PHD1, 2,3) sont capables de réprimerHIF (**Cuenod et Lartigau, 2004**).Une fois hydroxylés, les HIF sont orientés pour la dégradation protéasomale (**Carmeliet et Jain, 2011**).

Ces enzymes ont besoin d'O₂ pour fonctionner, le fait de «réduire au silence »PDH2 grâce aux petits ARN interférents (siRNA) est suffisant pour stabiliser et activer HIF-1 en normoxie. PHD2 apparaît être le capteur d'oxygène essentiel qui règle la faible concentration de HIF-1 en normoxie, (**Cuenod et Lartigau, 2004**).

II.6.2.Sous faible tensions d'oxygène (hypoxie)

L'hypoxie conduit à l'accumulation de HIF-1 α (**Kelly et al., 2003**), à son transfert vers le noyau, puis il s'hétérodimérise avec HIF-1 β pour former le complexe HIF-1, qui se lie à l'élément de réponse à l'hypoxie(HRE), c'est-à-dire la séquence d'ADN où HIF-1 α se lie) dans les régions promotrices des gènes cibles et commence transcription des gènes cibles (**Li et al., 2010**).Ainsi, la transcription du HIF-1 et son 'activité sont contrôlées par l'expression de HIF-1 α , la sous-unité inductible du complexe dimère. L'hypoxie induit expression de HIF-1 α , qui transactive ensuite une variété de ses gènes en aval dont le VEGF (**Forsythe et al., 1996**), et de nombreux facteurs impliqués dans la régulation de l'angiogénèse (**Patel-Hett et D'Amore, 2011**).

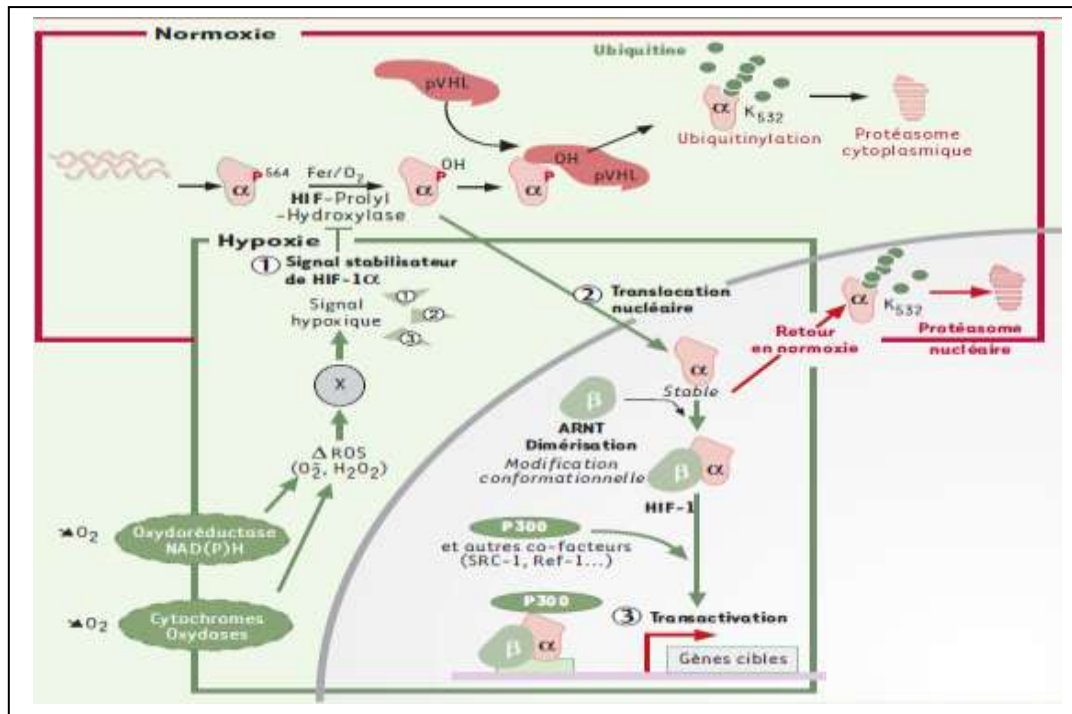


Figure 09 : Régulation de l'activité de HIF-1(Gothié et Pouyssegur, 2002).

II .7.Rôle de l'angiogénèse dans la progression tumoral et la métastase

L'angiogénèse est une composante critique de la métastase tumorale et que les tumeurs hautement vasculaires peuvent avoir le potentiel de produire des métastases à un taux plus élevé que les tumeurs moins angiogéniques. le moyen le plus important par lequel l'angiogénèse peut faciliter la métastase tumorale est peut-être de fournir une voie de sortie efficace pour que les cellules tumorales quittent le site primaire et pénètrent dans la circulation sanguine(Zetter, 1998). Il existe différentes étapes, dans le processus de la cascade métastatique (Méjean et Lebret, 2008) :

- Les étapes dans la tumeur primaire : angiogénèse et prolifération de la tumeur, perte de l'adhésion cellulaire, capacité de mobilité et de diffusion.
- Les étapes dans la circulation : entrée, survie et transport.
- Les étapes dans les organes à distance : arrêt dans le tissu, extravasation, angiogénèse et prolifération.

L'angiogénèse améliore l'entrée des cellules tumorales dans la circulation en fournissant une densité accrue de vaisseaux sanguins immatures et hautement perméables qui ont peu de

membrane basale et moins de complexes jonctionnels intercellulaires que les vaisseaux matures normaux (Zetter, 1998).

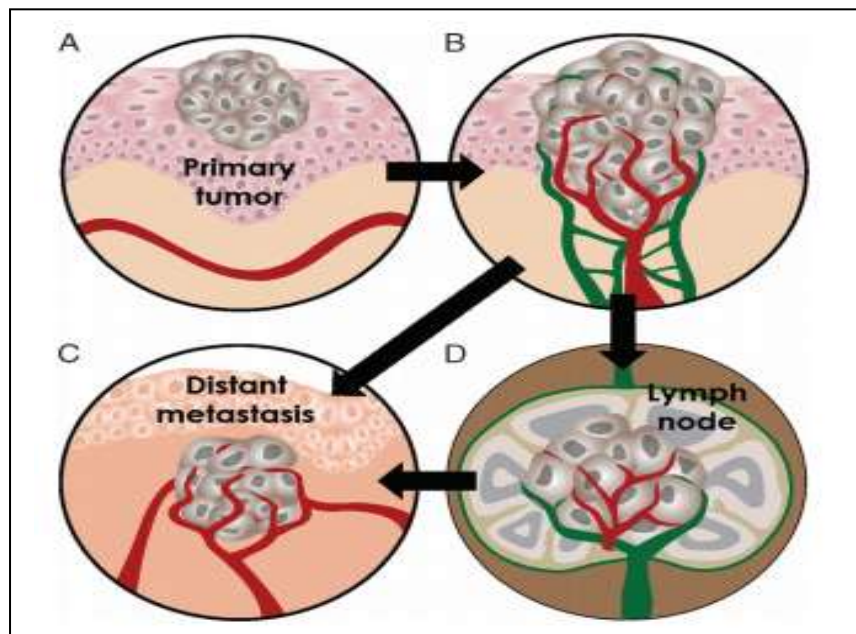


Figure 10: Angiogenèse et métastase (Bielenberg et Zetter, 2015)

II .8. La vascularisation tumorale et la vascularisation normale

Un certain nombre d'études ont été entreprises pour évaluer la vascularisation tumorale et ont démontré des différences significatives entre la vascularisation des tumeurs et celle du tissu normal (Carmeliet, 2005). Il est à noter que la vascularisation tumorale présente une variabilité accrue de la taille des pores par rapport à la vascularisation du tissu normal, et des études de perméabilité utilisant divers réactifs colorants montrent une perméabilité accrue dans les vaisseaux tumoraux par rapport aux vaisseaux normaux (Pettersson et al., 2000). Les concentrations accrues de VEGF dans la tumeur entraînent également des vaisseaux sanguins qui sont structurellement différents des vaisseaux sanguins normaux. Contrairement à l'architecture du système vasculaire normal (Carmeliet, 2005).

Le système vasculaire tumoral est de forme irrégulière, dilaté et tortueux (Fukumura et Jain, 2007). (Figure 11), il est désorganisé, caractérisé par l'absence de péricytes (Alami, 2021), inégalement réparti et chaotique (Nagy et al., 2009) .

La vascularisation tumorale est également fonctionnellement anormale, démontrant une augmentation des fuites et des hémorragies par rapport aux vaisseaux normaux, et, en

raison de la perméabilité accrue des vaisseaux tumoraux, la pression interstitielle est augmentée.

En raison de l'architecture désordonnée de la vascularisation tumorale, le flux sanguin tumoral est souvent sous-optimal, avec des zones de stagnation dues à des vaisseaux en impasse et un flux sanguin désordonné en raison de connexions anormales entre les vaisseaux (**Bergers et Benjamin 2003**). Cela prédispose à son tour aux zones d'hypoxie, stimulant davantage la libération de VEGF et créant une vascularisation encore plus désorganisée. L'analyse in situ d'échantillons tumoraux subissant une néovascularisation révèle un regroupement de capillaires aux côtés de cellules productrices de VEGF à proximité immédiate des zones de nécrose (**Shweiki et al., 1992**).

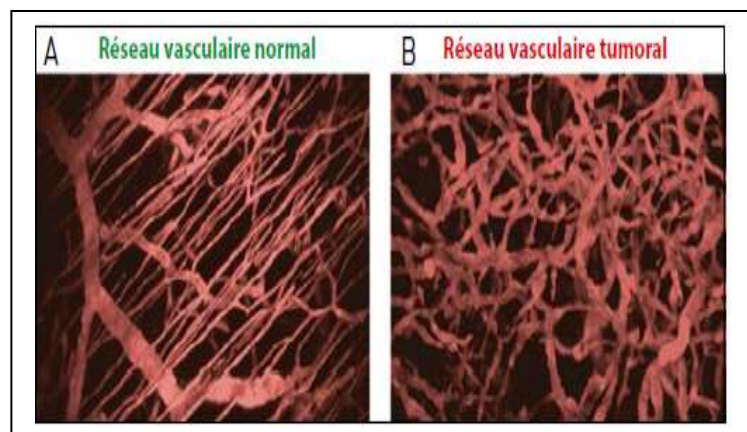


Figure 11 : Observation d'un réseau vasculaire normale et tumorale (**Alami, 2019**).

II.9. Thérapie anti-angiogénique

En 1971, Folkman a été le premier à postuler la possibilité de combattre le cancer par une stratégie thérapeutique visant spécifiquement les vaisseaux sanguins tumoraux (**Fiege, 2010**).

La thérapie anti-angiogénique offre plusieurs avantages potentiels comme approche du traitement du cancer; notamment, le physique l'accessibilité et la stabilité génétique des CE. Deux catégories utilisés dans le développement de la thérapie anti-angiogénique impliquent l'inhibition des facteurs angiogéniques et l'application de inhibiteurs endogènes de l'angiogénèse (**Sato ,**

2003), qui ciblent principalement le vascular endothelial growth factor (VEGF) et se présentent sous la forme d'anticorps bloquants ou d'inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase des récepteurs (VEGF-RI) (**Galaup et Germain, 2008**).

En 2004, le bévacicumab (Avastin®) a été admis en tant que premier médicament anti-angiogénique au monde dans le traitement du cancer. La FDA (Federal Drug Administration) américaine a approuvé son utilisation en association avec une chimiothérapie conventionnelle (**Huynh, 2006**). Parmi les plus connus de thérapie antiangiogéniques il est y a :

II.9.1. Les anticorps monoclonaux

II.9.1.1. Le bevacizumab (AvastinR)

Le bevacizumab est un anticorps monoclonal humanisé, dirigé contre le VEGF (**Fayette et al., 2006**). De type Immunoglobuline G1 (IgG1) qui se lie sélectivement au Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) humain et en neutralise l'activité biologique (**Gerber et Ferrara, 2005**). Et inhibe l'activation de ses récepteurs (**Taylor et al., 2009**). Cet anticorps inhibe la croissance tumorale dans des études précliniques, et les études cliniques précoces ont montré une bonne tolérance globale malgré des risques d'hypertension artérielle, d'hémorragies et de thromboembolies (**Fayette et al., 2006**). Et devenu un standard du traitement de différents cancers (colorectal, rein, sein, poumon) (**Cézé et al., 2009**).

II.9.2. Inhibiteurs de tyrosine kinase des VEGFRs

II.9.2.1. Le sunitinib (SutentR)

Le sunitinib est un inhibiteur spécifique des activités tyrosine kinase ayant pour principales cibles VEGFR-1, Vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR2) et Vascular endothelial growth factor receptor-3 (VEGFR-3), platelet derived growth factor receptor (PDGFR). Les études précliniques ont montré qu'il permet d'inhiber la néovascularisation diminuant ainsi la densité microvasculaire tumorale tout en ayant une action antitumorale directe dans certains cancers (**Bennis et al., 2010**). Récemment, le sunitinib a reçu l'accord de la FDA et l'Europe Middle East & Africa (EMEA) pour le traitement du cancer du rein avancé ou métastatique après échec de traitement par interféron-alpha ou interleukine-2 et pour le traitement du cancer gastro-intestinal (**Jain, 2005**).

II.9.2.2. Le sorafénib (Nexavar®)

Le sorafénib est un inhibiteur multicible de tyrosine kinase dont les principales cibles sont VEGFR-2, VEGFR-3, platelet derived growth factor receptor (PDGFR-b), FLT3 (fmsrelated tyrosine kinase 3), Rapidly Accelerated Fibrosarcoma (RAF), B-Rapidly Accelerated Fibrosarcoma (BRAF), et KIT (stem-cell growth factor receptor) (**Halimi et al., 2008**). Il inhibe également d'autres activités enzymatiques notamment les sérine/thréonine kinases associées aux protéines Raf, impliquées dans la prolifération cellulaire de certaines tumeurs (**Bennis et al., 2010**). Et déjà approuvé pour le traitement de carcinomes à cellules rénales et hépatocellulaires (**Park et al., 2012**).

II. 10. Les avantages de la thérapie antiangiogénique

La thérapie antiangiogénique présente plusieurs avantages dans de nombreux traitements contre les tumeurs par rapport aux médicaments de chimiothérapie qui tuent les cellules tumorales (**Su et al., 2021**). Ce dernier cible spécifiquement des cellules endothéliales normales, stables génétiquement, pour inhiber la vascularisation des tumeurs en croissance, ce type de traitement aurait moins d'effets secondaires et pourrait être associé avec les traitements conventionnels (**Guillamo, 2011**).

Un traitement antiangiogénique entraîne avant tout un phénomène de normalisation vasculaire, permettant entre autres d'abaisser la pression interstitielle et de réguler le flux sanguin au sein de la tumeur. Les antiangiogéniques favoriseraient l'approvisionnement tissulaire en oxygène et en médicaments cytotoxiques, améliorant ainsi l'efficacité de la chimiothérapie et de la radiothérapie dont les performances dépendent d'une bonne oxygénation tissulaire (**Bennis et al., 2010**).

II.11. Les inconvénients de la thérapie anti-angiogénique

La toxicité est l'un des principaux inconvénients du traitement antiangiogénique (**Su et al., 2021**). Les principales classes d'effets nocifs sont résumées ici.

II.11.1. Atteintes cardio-vasculaires

L'hypertension artérielle est une toxicité commune à tous les antiangiogéniques quelle que soit leur classe (anticorps monoclonaux et inosine kinase du récepteur de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR) [VEGFR-TKI] (**Brosseau et al., 2015**). L'Hypertension artérielle (HTA) a été l'effet indésirable le plus fréquemment observé chez les patients traités par antiangiogénique. Une méta-analyse a révélé une augmentation significative du risque relatif (RR) d'HTA chez les patients sous bevacizumab. De même, l'incidence d'HTA atteint 21,6 à 23,4 % des patients traités par sorafenib et 16 à 43 % par sunitinib (**Bennis et al., 2010**).

II.11.2. Atteintes rénales

Parmi les complications rénales observées chez les patients recevant un anti-VEGF, la plus fréquente est la protéinurie. La protéinurie peut apparaître avec un délai variable après la mise sous traitement anti-angiogénique (**Halimi et al., 2008**). Son risque d'apparition est en effet significativement augmenté chez les patients traités par bevacizumab par rapport groupes témoins (**Bennis et al., 2010**). Le taux de survenue d'une protéinurie liée à l'administration du bevacizumab varie entre 21 et 64 % selon les études. Elle est le plus souvent sans conséquence sur la poursuite du traitement anti-angiogénique et la fonction rénale. La protéinurie est aussi dépendante de la dose de bevacizumab (**Halimi et al., 2008**).

II.11.3. Atteinte cutanée et des muqueuses

Les effets indésirables cutanéomuqueux ont une incidence importante chez les patients traités par inhibiteurs des tyrosines kinases (ITK). Le plus fréquent est le syndrome main-pied (SMP) ou érythrodermie palmoplantaire (**Bretagne et al., 2016**). Il a concerné en moyenne 33,8 % des patients traités par sorafenib et 18,9 % de ceux recevant le sunitinib (**Lacouture et al., 2008**).

Il s'agissait de lésions souvent précédées de signes prodromiques à type de brûlures ou douleurs, présentant un aspect hyperkératosique et bien limité, symétrique avec souvent un

aspect inflammatoire et érythémateux en périphérie. Elles prédominaient sur les zones de pression au niveau des pieds et des doigts. Un œdème important, avec parfois un aspect bulleux pouvait être associé, occasionnant une gêne fonctionnelle à la marche ou à la préhension. Cette toxicité apparaissait après 2 à 4 semaines de traitement de façon dose dépendante et disparaissait soit spontanément soit après arrêt du traitement (**Bennis et al., 2010**).



Figure 12 : Syndrome mains-pieds (**Fléchon et al., 2010**).

Chapitre 3 :

*Reprofilage et
phytothérapie*

III.1.Reprofilage des médicaments dans la thérapie anti angiogénique

Étant donné que le développement de médicaments est une entreprise très coûteuse et sujette aux échecs, l'industrie pharmaceutique s'efforce de repositionner les médicaments retirés ou déjà approuvés. Les coûts de mise sur le marché d'un tel médicament sont 60 % inférieurs à ceux du développement d'un nouveau médicament (**Haupt et Schroeder, 2011**).

III.1.1. Définition de la réorientation des médicaments

La réorientation des médicaments, également connue sous le nom de repositionnement ou de reprofilage de médicaments, recherche de nouveaux traitements médicaux parmi les médicaments existants plutôt que par le développement de médicaments de novo (**Pantziarka et André, 2019**). La réorientation des médicaments génère des coûts inférieurs et un délai d'approbation plus court que le développement d'un médicament de novo, car toutes les phases des essais cliniques ont déjà été réalisées pour les médicaments approuvés et les informations concernant les effets secondaires, la pharmacocinétique et l'interaction avec d'autres médicaments ont été collectées (**Ishida et al., 2016**).

III.1.2.Exemples des médicaments réutilisés

La Food and Drug Administration(FDA) a approuvé de nombreux médicaments réutilisés. Par exemples la thalidomide de Celgene Corp qui a été prescrite pour les nausées et l'insomnie chez les femmes enceintes en 1950, mais plus tard approuvé pour le traitement de la lèpre en 1998(**Agrawal, 2015**). Ce dernier peut être utilisé pour traiter les patients réfractaires myélomes (**Singhal, 1999**). L'azidothymidine, qui est utilisée dans le traitement du cancer, est maintenant réutilisée comme traitement anti-Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)(**Agrawal, 2015**).

Bien que l'intérêt pour la réorientation des médicaments ait augmenté ces dernières années, cela fait partie intégrante du développement commercial de médicaments, notamment dans le domaine de l'oncologie (**Pantziarka et André, 2019**). La minocycline est un dérivé semi-synthétique lipophile du groupe

d'antibiotiques des tétracyclines prescrits à l'origine pour le traitement de l'acné sévère et approuvé par la FDA en 1971. Des études récentes ont démontré que minocycline a des activités anticancéreuses contre le cancer de l'ovaire, gliome et de nombreux autres types de cancer (**Lokeshwar, 2011**). Le célécoxib est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) qui aide à soulager la douleur et l'inflammation associée à la polyarthrite rhumatoïde (PR) et l'arthrose. Initialement approuvé en 1998, il a été démontré que le médicament interagit de manière sélective avec et inhibe la cyclo-oxygénase-2 (COX-2), un agent inflammatoire bien connu, qui a été ciblé pour traiter le cancer (**Gupta et al., 2013**). Aussi Artesunate (ART) un anti-malarien bien connu réputé faiblement toxique, montre une action anticancéreuse sélective et anti-angiogénique contre le carcinome cellulaire du rein (**Jeong et al., 2015**).

L'azithromycine (Zomax) est un antibiotique macrolide qui inhibe la synthèse des protéines bactériennes (**Parnham et al., 2005**). Structurellement liés à l'érythromycine (**Peters et al., 1992**). L'azithromycine est indiquée pour les infections respiratoires, urogénitales, cutanées et autres infections bactériennes, et exerce des effets immunomodulateurs dans les troubles inflammatoires chroniques (**Parnham et al., 2005**).

La lévocabastine (lévophta) a une longue durée d'action antagoniste hautement puissante et sélective des récepteurs H1 de l'histamine, qui a été développée pour l'administration nasale et oculaire (**Dechant et al., 1991**). Il est actuellement disponible pour le soulagement des signes et symptômes de l'allergie saisonnière conjonctivite (**Netland et al., 2000**).

III.2. l'effet de phytothérapie sur l'angiogénèse

III.2.1. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie est la science de l'utilisation de remèdes à base de plantes pour traiter les patients (**Meuss, 2000**). est une pratique médicale très ancienne, fondée sur l'utilisation d'extraits de plantes et de principes actifs naturels» (**Schlienger, 2014**). Ces produits biologiques ayant des propriétés pharmacodynamiques bien précises variées selon les plantes et les parties à utiliser (**El Rhaffari et Zaid, 2002**).

III.2.2. La phytothérapie et l'effet anti angiogénéque

Les plantes contiennent plusieurs composés chimiques actifs simultanément et contrairement aux médicaments chimiques, elles peuvent avoir des effets synergiques et donc influencer différents aspects de la pathologie de la maladie en même temps. En d'autres termes, les extraits de plantes riches en composés biologiquement actifs peuvent ralentir la croissance des cellules cancéreuses et y induire l'apoptose, ce qui conduit à l'éradication des tumeurs. En entravant l'angiogénèse et donc les métastases. Les interactions des ingrédients actifs des extraits de plantes avec les tumeurs peuvent donner cette opportunité au système immunitaire d'identifier et de répondre à la cellule tumorale (**Djeridane et al., 2006**). Ces plants et de leurs principaux dérivés inhibent soit la fonction de l'enzyme (COX) (l'une des enzymes actives les plus importantes dans la voie du processus d'angiogénèse). (**tableaux 02**) soit inhibent le VEGF (**tableaux 03**) (**Hoseinkhani et al., 2020**).

Tableaux 02 : Les plantes et leurs principaux composés dérivés avec anti-COX effets (Hoseinkhani et al., 2020).

Plants
Gingembre
Aloévera Epigallocatechine-3 gallate/thé vert
Resvératrol
Réglisse
Chardon-Marie
Antioxydants présents dans les plantes (vitamines A, C, E, Se, Zn : caroténoïdes, flavonoïdes) Boswellie
bromélaïne
Ail
calotte chinoise
Myrtille
Extrait de pépins de raisin proanthocyanidines
Panax ginseng
Curcumine

Tableaux03 : Plantes et leurs dérivés ayant des effets spécifiquement inhibiteurs du VEGF (Hoseinkhani et *al.*, 2020).

Plants	Dérivé végétal
Cônes de graines de magnolia	Contient 90% d'honokiol T
Taxusbrevifolia (if du Pacifique)	Contient du taxol
Polygonumcuspidatum (renouée du Japon)	Contient 20% de resvératrol
Vsicum album (gui européen)	Contient de la lectine de gui III (ML3A)
Artemisiaannua (bois de ver chinois)	Contient 95% d'artémisinine et d'autres terpènes et flavonoïdes apparentés
Curcuma longa (curcuma)	Contient 95% de curcumine
Camellia sinensis (thé vert)	Contient 95 % de phénols ;50% épigallocatechine
Vitisvinifera (extrait de pépins de raisin)	Contient 95% de proanthocyanidines
Scutellariabaicalensis (scutellaire chinoise)	Contient 95% de baicaline et de flavonoïdes
Silybummarianum (chardon-Marie)	Contient 80% de silymarine (silybine)
Angelica sinensis (dong quai)	Contient de la 4-hydroxyderricine

III.2.3. Les activités pharmacologique de l'*Allium sativum* (Ail)

Une seule gousses d'ail a le potentiel de guérir un homme d'un grand nombre de maladies en inhibant la population de différentes souches de bactéries et de champignons. L'utilisation de l'ail (*Allium sativum*) en thérapeutique cardiovasculaire a une histoire encore plus longue, remontant à plus de 3000 ans. De nombreuses études animales ont montré que l'ail a un effet hypocholestérolémiant. Le produit chimique actif de l'ail est l'allicine, qui est produite lorsque l'ail cru est écrasé, permettant à l'enzyme alliinase d'agir sur le précurseur stable, l'alline. Les effets antidiabétiques, antibiotiques et peut-être anticancéreux de l'ail sont bien acceptés dans le monde entier en raison des nombreuses publications scientifiques soutenant ces effets. L'ail a également un effet hépatoprotecteur, antioxydant et antihelminthique. L'autre effet pharmacologique qui a nécessité plus d'attention du chercheur comprend l'action anticoagulante, anti-inflammatoire, immunomodulatrice et cicatrisante de l'ail (**Londhe, 2011**).

Les propriétés anti-angiogéniques de l'extait d'ail (*Allium sativum* L.).Ont été explorées la formation sur les membranes chorioallantoïques (CAM) des embryons aviaires Les résultats ont montré que l'extrait d'ail réduisait considérablement le nombre de microvaisseaux par zone dans les CAM d'embryons de poulet de manière dose-dépendante (**Ramos ,2010**).

III.2.4La classification systématique de l'Ail (Integrated Taxonomic Information System – Repor (2021)

Règne : Végétal

Embranchement : spermatophytes

Classe : monocotyledons

Ordre : Asparagales

Famille : Amaryllidaceae

Genre : *Allium*

Espèce : *Allium sativum*

Etudes

Expérimentales

IV. Matériel et méthodes

Pour déterminer l'effet des médicaments Azithromycine «zomax® », Lévocabastine« lévophta®» et le filtrat de l'ail (*Allium sativum*). Sur l'angiogenèse, nous avons opté pour un test, *in ovo et ex ovo*, qui consiste à évaluer la croissance des vaisseaux sanguins dans la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon de poulet, le «Test de CAM ».

La totalité des expérimentations ont été réalisées au niveau de l'animalerie du centre universitaire A.BOUSSOUF à Mila.

IV .1.Teste *in ovo*

IV.1.1 Collecte des œufs et incubation

Fraîchement fertilisés, Le plus grand nombre d'œufs possible d'une taille hétérogène de deux genre (*Leghorn et sauvages*) ont été collectés dans une production locale (domestique) des fermes familiaires au niveau de la wilaya de Mila.

Pour diminuer la contamination à partir de la surface, les œufs ont été désinfectés avec de l'éthanol à 70%, puis ont été séchés dans l'air ambiant, Ensuite, nous avons noté dessus le numéro de l'œuf, le jour et l'heure de l'incubation.

Incuber à 37.5 ° C et 65% d'humidité dans un incubateur d'œufs (WQ01) pendant 72 h. tout en les balançant (retournant) de 60° chaque 2 heures pendant 3 jours, Afin de maintenir ces conditions idéales, il est impératif de surveiller l'eau de l'incubateur et la température de l'environnement.



Figure 13 : Désinfection des œufs avec l'éthanol à 70%.



Figure 14 : Incubation des œufs à l'incubateur(WQ01).

IV.1.2 Préparation des membranes chorioallantoïdienne

Au 3ème jour d'incubation, Une vérification minutieuse des œufs pour trier ceux qui sont effectivement fécondés de ceux qui ne le sont pas, à l'aide d'une torche appliquée sur l'œuf dans l'obscurité, pour une vision claire (**figure15**).



Figure 15: Vérification de la fécondité des œufs

Et suivant le protocole (Ribatti et al, 2013) modifié, on a localisé l'embryon et la chambre à air pour éviter de les endommager, les coquilles des œufs ont été percées au pôle le plus pointu à l'aide d'une seringue stérile à aiguille (22Gx1 1/4" ; 0,70x30mm) et 7ml d'albumen ont été prélevés délicatement pour ne pas toucher le jaune (**voir les figures 16, 17**).



Figure16 : localisation de l'embryon et la chambre à air



Figure 17 : Prélèvement de l'Albumen

Le prélèvement provoque la formation d'un sac d'air artificiel qui en résulte le décrochage de la CAM de la coquille de l'œuf. Une fenêtre de diamètre moyen a été ensuite découpée dans la coquille, tout en évitant de faire tomber les petites pièces de la coquille à l'intérieur de l'œuf, et puis on a couvert étroitement tous les côtés de la fenêtre de ruban adhésif transparent. L'embryon sous-jacent le CAM et les vaisseaux sont révélés, et ensuite les œufs ont été retournés à l'incubateur (**Figure18**).



Figure 18: Aspect d'un œuf leghorn à j 3



Figure 19: Révélation de la membrane chorioallantoïdienne à j 8

IV.2 Test *ex ovo*

- A. Au début réalisée la même étape de collection des œufs et l'incubation ce qui a été déjà décrit dans la partie de tests *in ovo*.
- B. Retirer les œufs de l'incubateur après 4 jours d'incubation après Stérilisez les œufs en essuyant la surface avec l'éthanol à 70 %.
- C. Posez les œufs horizontalement pendant 1-2 minutes pour un bon positionnement de l'embryon (vers le haut de l'œuf).
- D. Remplissez $\frac{3}{4}$ de gobelets en plastique (stérilisé) avec de l'eau stérile puis coupez environ 20 cm de film alimentaire. Fixez circonférentiellement sur le dessus de la tasse en plaçant un élastique autour, après coupez l'excès du papier film.
- E. À l'aide d'un bord tranchant (comme le bord d'un seau en métal ou d'un bécher en verre), tapotez doucement l'œuf jusqu'à ce qu'il y ait une petite fracture sur la face inférieure de l'œuf, n'oubliez pas que l'embryon est positionné sur le dessus.
- F. Placez les pouces dans les côtés opposés et séparez les coques horizontalement laissez glisser doucement le jaune avec l'embryon ainsi que l'albumine sur le film alimentaire, en essayant de ne pas percer le sac vitellin.
- G. L'embryon doit déjà être positionné sur le dessus si le transfert est effectué correctement. Si ce n'est pas le cas, utilisez un objet stérile non tranchant (c'est-à-dire la pointe émoussée de ciseaux courbés fermés) et caressez le jaune de telle sorte que l'embryon tourne vers le haut. Placer une boîte de Pétri stérile sur la coupelle pour sceller l'embryon. Et Placer la culture dans l'incubateur réglé à 37,5°C et l'humidité à ~ 60%.

H. Au 7^{ème} jour embryonnaire, les morceaux de coquille d'œuf écrasés doivent être dispersés à la périphérie de l'embryon comme source de calcium pour le développement et la maturation des os.

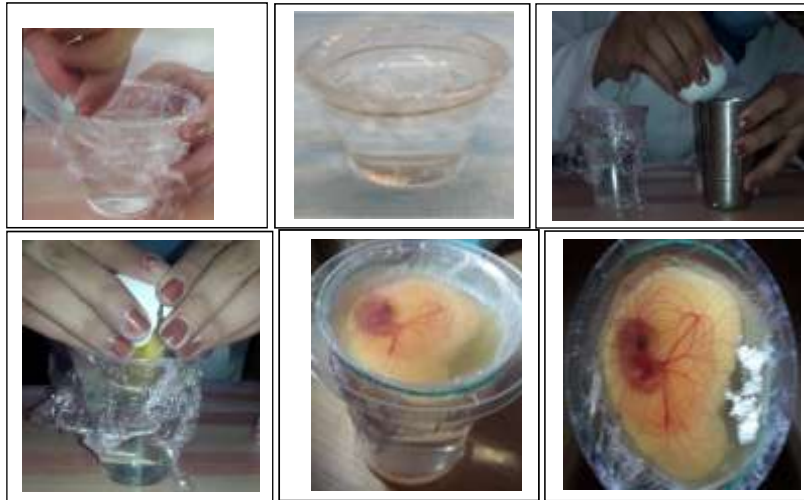


Figure 20 :Préparation d'un système de culture d'embryons de poulet *ex-ovo*

IV.3. Préparation des substances testées :

IV.3.1 Préparation de la Dexasone® 4mg/ml

L'anti-inflammatoire corticostéroïde Dexaméthasone (Dexaméthasone Phosphate Sodique) présenté sous le nom de marque Dexasone® 4mg/ml ; solution injectable par voie intramusculaire intraveineuse ou locale ; Produit par le groupe pharmaceutique SAIDAL spa Algérie, a été acheté auprès d'une officine locale à Ahmed Rachedi. Le numéro du lot était 180 affichant une date de fabrication de 02/2020 et de péremption de 02/2022.



Figure 21 :Dexaméthasone 4mg /ml

En vue d'être testée ultérieurement, une série de dilutions dans de l'eau physiologique a été préparée à partir de la solution mère Dexasone 4mg/ml.

Dans un éppendorf, Un volume 10ul de Dexasone 4mg/ml diluée dans 90ul de l'eau physiologique, a été agité manuellement pour l'obtention d'une solution homogène.



Figure 22 : Préparation de Dexasone 4mg/ml

VI .3.2.Préparation d' Azithromycine ® 300mg /7.5ml

L'azithromycine est un antibiotique présent sous le nom de marque zomax®300mg /7.5ml. C'est une solution à administrer par voie orale, Produit par le groupe pharmaceutique SAIDAL spa Algérie, et a été acheté auprès d'une officine locale à Ahmed Rachedi. Le numéro du lot était 9220 avec les dates de production et d'expiration 7/20 et 7/23 respectivement.



Figure 23 : Azithromycine ® 00mg/7.5ml

Pour une suspension concentrée d'azithromycine ®, dissoudre 12.5ml l'eau pour reconstitution dans 300mg /7.5ml de la poudre Azithromycine ® et mélanger la suspension obtenue pour quelle deviennent homogène. Puis filtrer d'une quantité suffisante.



Figure 24 : Préparation d'azithromycine ®300mg/7.5ml

IV.3.3 Origine de Lévoпта® 0.05%

Lévocabastine est un antihistaminique présent sous le nom de marque lévophta® 0.05%. Solution collyre administrer par voie oculaire, Produit par le groupe pharmaceutique SAIDAL spa Algérie, a été acheté auprès d'une officine locale à Ahmed Rachedi.



Figure 25 : Lévoпта® 0.05%

IV.3.4 Origine du Matériel biologique (Végétal) et préparation le filtrat de l'ail (*Allium sativum*).

Le filtrat de l'ail (*Allium sativum*), a été obtenu par broyage d'une quantité suffisante d'ail, Puis la filtration par le papier filtre pour obtenir le filtrat homogène.



Figure 26 : Préparation de filtrat de l'ail (*Allium sativum*).

IV.4 Déroulement du test CAM (*in ovo*)



Figure 27 : Application 5ul de solutions préparées sur la CAM.

Au 8^{ème} jour de l'incubation, les fenêtres ont été rouvertes, Les œufs préalablement préparés ont été réparti en 5 groupes de nombre d'œufs varié, puis appliquée par micropipette un volume de 5ul des solutions/suspensions médicamenteuses, Le premier sera traité par Dexaméthasone 4mg/ml comme un témoin positif, le deuxième par Azithromycine 300mg /7.5ml, le troisième par lévocabastine 0.05%.

Le quatrième traitée par une série de dilution de filtrat de l'ail (*Allium sativum*), préparée précédemment et le dernier groupe représentera les témoins négatifs traités par l'eau physiologie. Dans toutes les expérimentations on dépose le produit à tester directement sur la CAM. Les fenêtres ont été refermées avec du ruban adhésif transparent et les œufs ont été réincubés.

Au 12^{ème} jour, une grande ouverture a été réalisée sur la coquille des œufs, des images ont été prises pour un traitement informatisé ultérieur.

Un traitement préalable des images permet d'apporter des améliorations de la qualité des images et réduire les parasites ce qui faciliterait l'observation et l'évaluation quantitative. Ainsi, une série de manipulation, par les logiciels de traitement d'image suivants : photoshop express +Optikaproview, permet de transformer une image brute en une image grise à 8bit.

Des observations sous stéréomicroscope ont été alors effectuées pour évaluer la vascularisation par rapport à un contrôle de vascularisation normale. Puis, on a procédé au comptage des vaisseaux d'ordre secondaire et tertiaire dans la zone d'observation. Après, on a calculé le taux de réduction (diminution) de la vascularisation pour chaque groupe (**Figure 33**), suivant la formule :

$$\text{TRV}(\%) = [(V_c - V_t) / V_c] \times 100$$

D'où :

TRV : le taux de réduction des vaisseaux sanguins exprimé en pourcentage.

Vc : Nombre des vaisseaux sanguins du deuxième et troisième ordre chez les témoins.

Vt : Nombre des vaisseaux sanguins du deuxième et troisième ordre chez les groupes traités.

IV.5. Déroulement du test CAM (*ex ovo*)

Au 8^{ème} jour de l'incubation, on retire les gobelets. On a appliquée par une micropipette 5ul de l'extrait filtrat de l'ail (*Allium sativum*). On le répète plusieurs fois sur le même CAM avec une série de dilution ($\frac{1}{2}, \frac{1}{4}, \frac{1}{6}, \frac{1}{8}, \frac{1}{10}$) On observe immédiatement les réactions possibles. A la fin fermer les gobelets de culture par les boites de pétrie puis réincubés.



Figure 28 : application le filtrat de l'ail (*Allium sativum*) .

IV.6. Analyse statistique

Toutes les données de cette étude sont exprimées en moyenne \pm Ecart type de la moyenne. La signification statistique a été analysée en utilisant le test-t de Student par la comparaison entre les groupes traités et le témoin. Durant l'analyse statistique on a eu recours au logiciel statistique Graph Pad prism9.2.0(332) version essai gratuit. On note que pour *P*valeurs inférieures à 0.05, ont été considérées comme significatives.

*Résultats et
discussions*

V. Résultats et discussions

V.1. Evaluation qualitative

Le suivi quotidien, macroscopique et sous stéréomicroscope, du développement des embryons du poulet, que ce soit *in ovo* ou *ex ovo*, nous a permis de relever les constats suivants :

1- Le système circulatoire de l'embryon et de ses annexes devient fonctionnel en premier lieu vers le troisième jour de l'incubation, et que les vaisseaux du sac vitellin apparaissent bien avant ceux de la membrane chorioallantoïdienne (CAM), qui commencent à être visible à partir du quatrième jour d'incubation (**Figure 29,30**).



Figure 29: Vaisseaux du sac vitellin

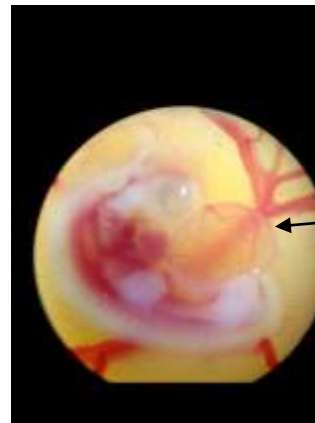


Figure 30: Vaisseaux de la CAM

2- La CAM présente une croissance très rapide, au point où, au huitième jour, elle recouvre toute la surface visible sous la fenêtre ouverte sur la coquille. Durant cette période, la croissance des vaisseaux sanguins du CAM prend une allure exponentielle (**Figure 31**). Au 14^{ème} jour, la CAM enveloppe la totalité de l'embryon et ses annexes (amnios, vésicule vitelline) (**Figure 32**).



Figure 31 : CAM à J8

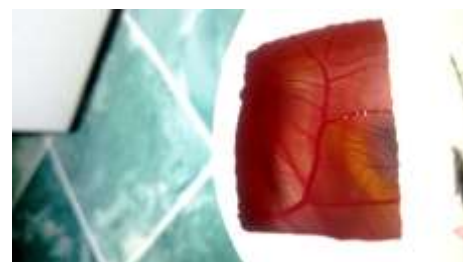


Figure 32 : CAM à J14

3- La vascularisation de la CAM, se projette dans le tissu mésenchymateux sous-jacent l'épithélium ectodermique suivant un modèle hiérarchisé. Ceci permet d'observer des aspects en "Y" dites primaires à partir de laquelle diverge des branches secondaires et tertiaires (Figure33).



Figure33 :Observation des vaisseaux primaire, secondaire et tertiaire sous stéréomicroscope.

4- Il est possible de distinguer différents niveaux d'action du traitement appliqué sur la Vascularisation allantoïdienne qu'on classe d'une manière sommaire en :

- Le traitement des CAM par certain médicament *in ovo*



Figure34: Vascularisation normal de la CAM



Figure35:Résorption des vaisseaux sanguins dexa à J12

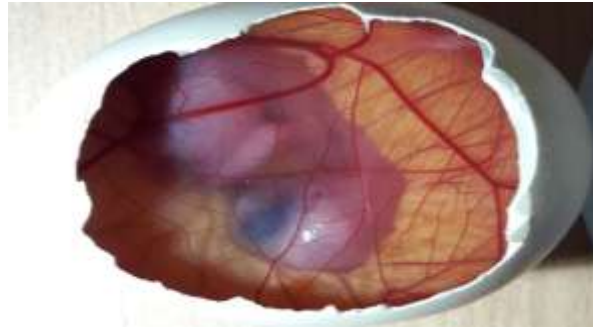


Figure36:Œuf traité par l'eau physiologique, observation à

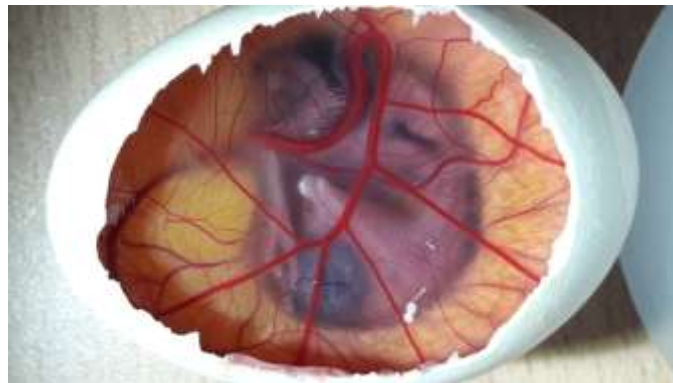


Figure37:Un Œuf traité par lévocabastine® 0.05%, observation à



Figure38:Un oeuf traité par Azithromycine®300mg/7.5ml, observation à J12

- Le traitement des CAM par le filtrat de l'ail *Allium sativum* *in ovo* et *ex ovo*

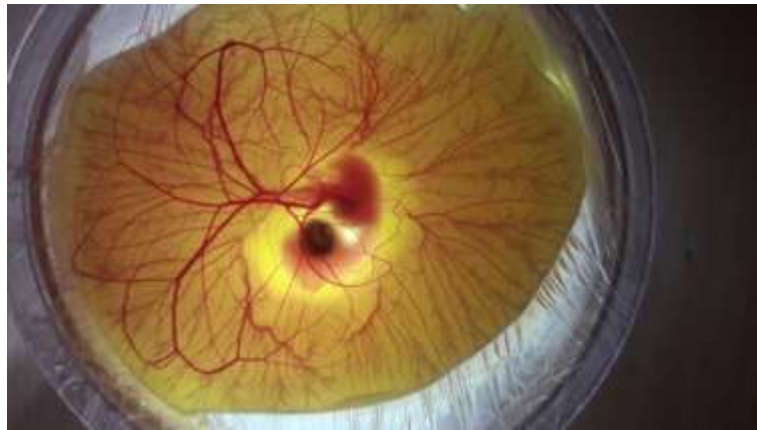


Figure39:Aspect d'un embryon et ses CAM, amnios et sac vitellin *ex ovo* à J8.

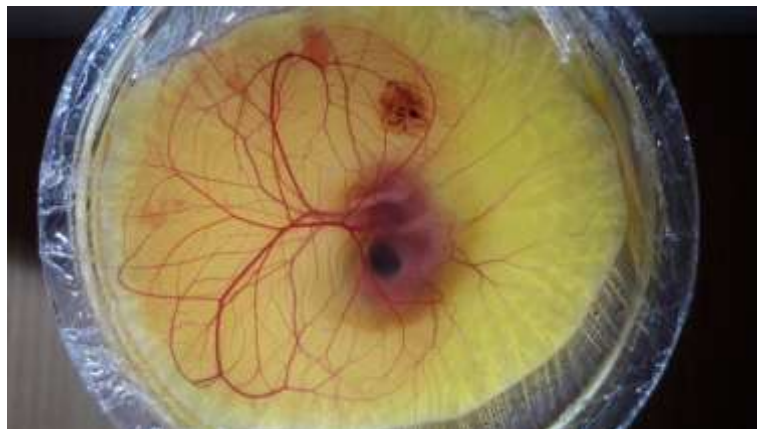


Figure40:Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, *ex ovo*, à J8.

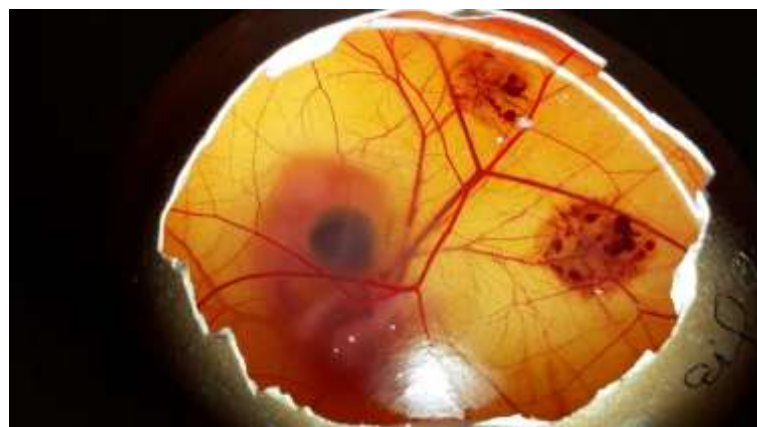


Figure41:Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, *in ovo*, à J8

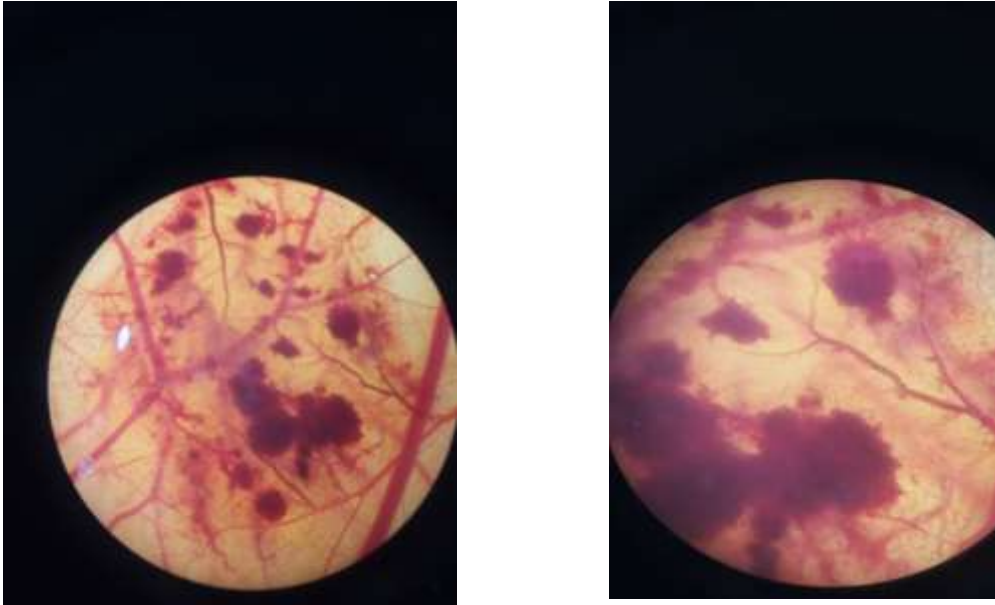


Figure41:Effet de filtrat de l'ail sur la CAM appliqué, *in ovo*, à J8, observation sous stéréomicroscope

5-un taux de mortalité considérable dans tous les groupes. Ceci peut être dû à des facteurs externes à l'expérimentation (infections, conditions climatiques,...), donc difficile à contrôler.

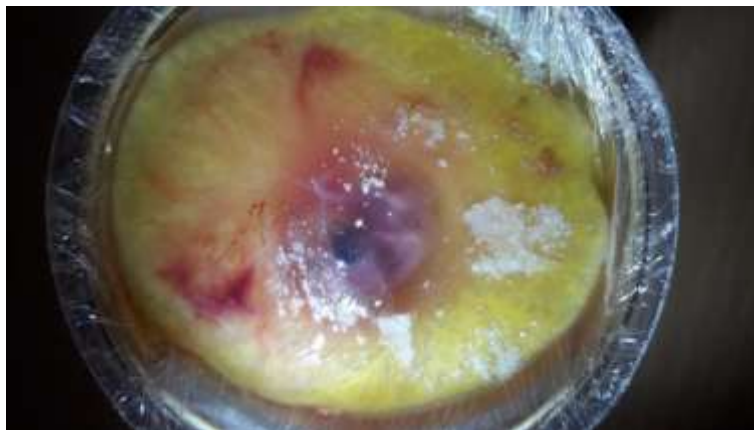


Figure42:Embryon mort *ex ovo*



Figure42:Embryon mort *in ovo*

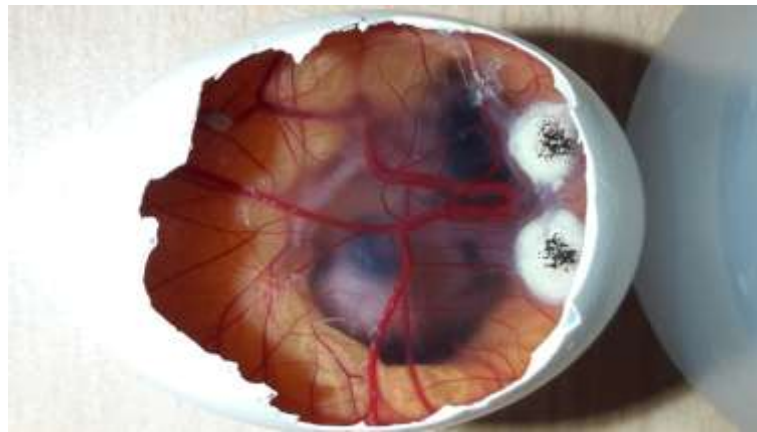


Figure43:Embryon (CAM) infecté

6- l'observation nous mènent à croire que les traitements appliqués (lévocabastine® 0.05% ;Azithromycine ® 300mg/7.5ml ; le filtrat de l'ail ne présentent aucune toxicité sur l'embryon, en fait, tous les embryons survivent suite au traitement.

V.2. Evaluation quantitative

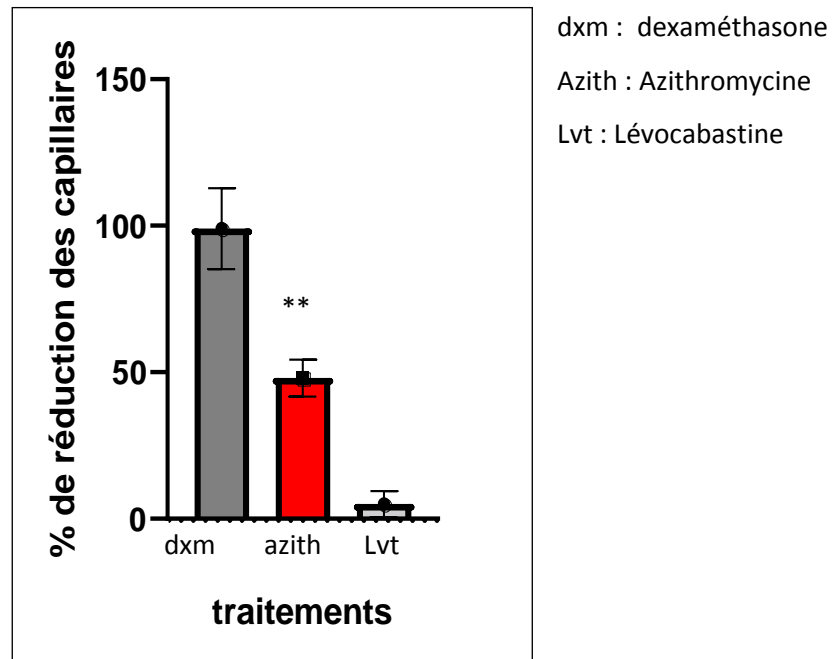


Figure44: Action des traitements sur la vascularisation des CAM

** : Différence très significative ($p < 0,01$) par rapport au témoin positif

D'après les données présentées sur la figure, il ressort que la Dexaméthasone, administrée à une dose de $2\mu\text{g}$, réduit de 99% la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon du poulet par rapport au témoin négatif (recevant uniquement de l'eau physiologique). L'action de la Dexaméthasone semble être claire, puissante et du point de vue statistique elle est très hautement significative ($p < 0.0001$). La Dexaméthasone est un corticostéroïde surrénalien synthétique doté de puissantes propriétés anti-inflammatoires. En plus de se lier à des récepteurs stéroïdiens nucléaires spécifiques, la Dexaméthasone interfère également avec l'activation du NF-kB et les voies apoptotiques (National cancer institute, 2021).

En clinique, La Dexaméthasonea fait l'objet d'études en vue de son emploi comme traitement antiangiogénique en association avec d'autres agents chimiothérapeutiques (Glode et al., 2003). En ophtalmologie, ce corticoïde constitue toujours un standard dans le traitement des affections ophtalmiques en relation avec l'angiogenèse (Nehmé et Edelman, 2008).

Nos résultats, bien que préliminaires, ont permis d'une part, des observations concourant avec ce qui est déjà établie. En fait, nous nous sommes basés sur les résultats de l'équipe de

Folkman (1987) pour adopter la dose testée. D'après ces auteurs, la Dexaméthasone exerce son pouvoir angiostatique à des doses très faibles ($1/25^{\text{ème}}$) comparées à celles de l'hydrocortisone. Ainsi, ils démontrent que l'effet antiangiogénique est indépendant de l'effet anti-inflammatoire.

On croit que l'inhibition de la néovascularisation due à la Dexaméthasone passe par la répression de l'expression de VEGF (**Fischer, 2001**).

Des travaux récents propose l'augmentation de la voie de la gluconéogenèse dans un modèle cellulaire murin pour expliquer l'action antiangiogénique de la Dexaméthasone (**Sfang et al., 2016**).

D'autre part on constate que l'application d'azithromycine permet d'obtenir une diminution de la vascularisation des CAM à un moyenne de 48% par rapport au témoin négatif (eau physiologique), ce qui correspond à la moitié de l'effet de la Dexaméthasone (témoin positif). Ces observations concours avec les résultats obtenus par plusieurs équipes (**Li, et al., 2017**).

Cependant il serait utile de rappeler que ces derniers ont eu recours à des modèles expérimentaux différents du CAM que nous avons employée. Par ailleurs, Il semble que Azithromycine exerce son action par la suppression de la voie de signalisation du récepteur 2(VEGFR2) du VEGF (**Li, et al., 2017**).

La lévocabastine apparait sans action sur la vascularisation de la CAM. La bibliographie consultée nous mène à croire que notre travail constitue la première étude consacrée à ce sujet. Ce médicament est un antagoniste puissant et sélectif des récepteurs H1 de l'histamine, qui a été développé pour l'administration nasale et oculaire (Dechant et al ,1991).Il est actuellement disponible pour soulagement des signes et symptômes de l'allergie saisonnière conjonctivite (**Netland et al, 2000**), mais semble être dépourvue d'action antiangiogénique.

Revenant à l'action de l'ail, celui-ci montre une action puissante et assez particulière. Son action, à l'opposé des médicaments sus-cités qui bloquent la formation de nouveaux vaisseaux à partir de ceux pré-existant, présente un autre mode d'action sur les vaisseaux sanguins en l'occurrence l'effet destructeur des vaisseaux sanguins de l'anglais, vascular disrupting agents(**Lippert, 2007**).Donc, l'application de filtrat de l'ail se traduit par une irritation des

CAM, des saignements, des thromboses. Cet effet, clair puissant, reproductible et confirmé, présente une cinétique dose-dépendante. En outre, il est clair qu'au fur et à mesure que la dose augmente le temps nécessaire pour observer les séquelles diminuent radicalement (à l'ordre de secondes pour l'extrait non dilué). Une équipe tunisienne obtint les mêmes résultats que les nôtres ce qui confirme l'idée que le filtrat de l'ail possède un effet perturbateur des vaisseaux sanguins (**Hadriche, 2021**).

Cette étude préliminaire vise, principalement, l'évaluation du potentiel antiangiogénique d'un médicament anti-inflammatoire, la Dexaméthasone (Dexasone® 4mg/ml), d'un antibiotique, l'Azithromycine (Zomax 300mg/7.5ml) et le filtrat de l'ail (*Allium sativum*). Elle s'inscrit, d'une part, dans la logique de la réorientation des médicaments actuellement en utilisation clinique, ou reprofilage. Et d'autre part, elle recherche de nouvelles biomolécules d'origine biologique qui peuvent être douées de propriétés antiangiogéniques.

Le modèle expérimental choisi pour mener ce travail consiste en les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon du poulet. Ceci est utilisé couramment dans l'étude *in vivo* de l'angiogenèse et de l'anti-angiogenèse vu la simplicité, le coût modeste et la reproductibilité des résultats (**Ribatti et al., 2001**).

Enfin, ce travail reste incomplet et des remarques sur des incohérences du dispositif expérimental méritent d'être soulignées. Entre autres, la taille des groupes reste excessivement réduite ce qui influence sur la qualité des analyses statistiques et par la suite sur les conclusions en tirées. En fait, dans des travaux précédents les chercheurs ont eu recours à plus de 600 œufs pour arriver à des résultats convaincants (**Knighon et al., 1977**).

En plus le recours à des œufs d'origines hétérogènes influence sur la pertinence des observations.

Conclusion

Conclusion

Afin d'explorer l'effet anti-angiogénique des médicaments et des petites molécules des plantes, nous avons opté pour un test, *in ovo et ex ovo* l'effet inhibiteur d'un médicament anti-inflammatoire, la Dexaméthasone (Dexasone® 4mg/ml) (témoin positif), d'un antibiotique, l'Azithromycine (Zomax 300mg/7.5ml) et le filtrat de l'ail (*Allium sativum*). vis-à-vis la néovascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon de poulet. Bien que préliminaire, les résultats obtenus suggèrent différents effets :

Alors que la Dexaméthasone réduit fortement la vascularisation du CAM, l'azithromycine 'affiche effet antiangiogénique modéré et lévocabastine semble dépourvu de toute action sur l'angiogénèse .Enfin, le filtrat de l'ail (*Allium sativum*) produit un Effet destructeur des vaisseaux sanguins.

Donc en perspective, il est nécessaire de poursuivre et approfondir ce travail de recherche par :

- Révérer les données recueillies sur des échantillons plus larges ;
- Compléter l'investigation par la réalisation des analyse histologiques ;
- Recourir à des modèles expérimentaux plus performants, cultures cellulaires, Matrigèle, modèle murin, ... ;
- Tester des molécules et des mélanges contrôlés à fin de mettre en évidence l'existence. de synergie entre les différents composants.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abdel-Rahman, O. and M. Fouad (2014).** Risk of cardiovascular toxicities in patients with solid tumors treated with sunitinib, axitinib, cediranib or regorafenib: An updated systematic review and comparative meta-analysis. *Critical Reviews in Oncology Hematology* 92(3): 194-207.
- **Adair, T. H., & Montani, J. P. (2010, October).** Angiogenesis. In Colloquium series on integrated systems physiology: from molecule to function (Vol. 2, No. 1, pp. 1-84). Morgan & Claypool Life Sciences.
- **Agrawal, P. (2015).** Advantages and challenges in drug re-profiling. *J Pharmacovigil S*, 2, 2.
- **Alami, M. (2019).** De nouvelles perspectives en thérapie antivasculaire Pourquoi faire compliquer quand on peut faire simple?
- **Alami, M. (2021).** Chapitre 14: De nouvelles perspectives en thérapie antivasculaire: pourquoi faire compliqué quand on peut faire simple?. In *Chimie et biologie de EDP Sciences*. P 237
- **Albiges, L., Gizzi, M., Carton, E., & Escudier, B. (2015).** Axitinib in metastatic renal cell carcinoma. *Expert review of anticancer therapy*, 15(5), 499-507.
- **Albregues, J., Meneguzzi, G., and Gaggioli, C. (2014).** L'invasion des cellules tumorales-Quand les fibroblastes s'en mêlent. *médecine/sciences*, 30(4), 391-397.
- **Ames B.N., Gold L.S., (1990).** Chemical carcinogenesis: too many rodent carcinogenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 7772–7776.

B

- **Baluk P, Fuxe J, Hashizume H, Romano T, Lashnits E, Butz S, et al. (2007).** Functionally specialized junctions between endothelial cells of lymphatic vessels. *J Exp Med*;204:2349—62.
- **Bennis, Y., Guillet, B., Curti, C., and Pisano, P. (2010).** Intérêts thérapeutiques des médicaments antiangiogéniques disponibles en cancérologie. *Thérapies*, 65(2), 95-105.
- **Bergers, G., and Benjamin, L. E. (2003).** Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature reviews cancer*, 3(6), 401-410.
- **Berges, O., Dhermain, F., and Bidault, F. (2010).** L'imagerie en radiothérapie. *Bulletin du Cancer*, 97(2), 225-231.
- **Bernaudin, J. F., Kambouchner, M., and Lacave, R. (2013).** La circulation lymphatique, structure des vaisseaux, développement, formation de la lymphe. *Revue générale. Revue de Pneumologie Clinique*, 69(2), 93-101.
- **Bertolaccini, L., Olivero, G., (2001).** Cancer immunotherapy. A future therapeutical choice? *Minerva Chir.*, 56, 183–191.
- **Bielenberg D. R et Zetter B.R. (2015).** The Contribution of Angiogenesis to the Process of Metastasis. *Cancer Journal*, 21 (4): 267-273.725-35.
- **Blackadar, C. B. (2016).** Historical review of the causes of cancer. *World journal of clinical oncology*, 7(1), 54.
- **Botta, A. (2003).** Relations entre génotoxicité, mutagenèse et cancérogenèse. *l'Environnement IPMdSd (ed) Journées Nationales de Santé au Travail dans le BTP. Service Hospitalo-universitaire de Médecine et Santé au Travail, Marseille, 9-13.p 10*
- **Bretagne, M., Boudou-Rouquette, P., Huillard, O., Thomas-Schoemann, A., Chahwakilian, A., Orvoen, G., ... and Blanchet, B. (2016).** Inhibiteurs de tyrosine

kinase ciblant l'angiogenèse et sujets âgés: tolérance, évaluation pré-thérapeutique et gestion des effets indésirables. Bulletin du Cancer, 103(3), 259-272

- **Brogi E, Wu T, Namiki A, Isner JM. (1994).** Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, while hypoxia upregulates VEGF expression only. Circulation ; 90 : 649-52.
- **Brooks PC, Montgomery AMP, Rosenfeld M, Reiseld RA, Hu T, Klier G, et al. (1994).** Integrin $\alpha v \beta 3$ antagonists promote tumor regression by inducing apoptosis of angiogenic blood vessels. Cell; 79 : 1157-64.
- **Brooks PC, Stromblad S, Sanders LC, Vonschalscha TL, Aimes RT, Stetlerstevenson WG, et al. (1996).** Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin $\alpha V \beta 3$. Cell ; 85 : 683-93.
- **Brosseau, S, Naltet, C., Gounant, V., and Zalcman, G. (2015).** Antiangiogéniques en cancérologie thoracique: critères de prescription et gestion des effets indésirables. Revue des Maladies Respiratoires Actualités, 7(4), 414-422

C

- **Caprioli, A., Minko, K., Drevon, C., Eichmann, A., Dieterlen-Lievre, F. And Jaffredo, T. (2001).** Hemangioblast commitment in the avian allantois: cellular and molecular aspects. Dev Biol 238: 64-78.
- **Carmeliet, P. (2005).** VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. Oncology, 69(Suppl. 3), 4-10.
- **Carmeliet, P., and Jain, R. K. (2011).** Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. Nature, 473(7347), p299

- **Carmeliet, P., and Jain, R.K. (2000).** Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407, 249-257.
- **Cézé N., Lecomte T., Watier H. (2009).** Anticorps monoclonaux Thérapeutiques et ciblage vasculaire. *medecine/sciences*, (25): 1099-104.
- **Clavel, G., Bessis, N., and Boissier, M. C. (2003).** Avancées récentes sur l'implication de l'angiogenèse dans la polyarthrite rhumatoïde. *Revue du rhumatisme*, 70(9), 697-702.
- **Clere, N., and Faure, S. (2018).** L'hormonothérapie anticancéreuse. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(578), 8-11.
- **Coon, J. T., M. Hoyle, et al. (2010).** Bevacizumab, sorafenib tosylate, sunitinib and temsirolimus for renal cell carcinoma: a systematic review and economic evaluation. *Health Technology Assessment* 14(2): 1-+.
- **Couffinhal, T., Dufourcq, P., Daret, D., and Duplaà, C. (2001).** Les mécanismes de l'angiogenèse. Applications médicales et thérapeutiques. *La Revue de médecine interne*, 22(11), 1064-1082
- **Coulon, M. A., Morère, J. F., Piperno-Neumann, S., Ladouani, A., Andriambolona, V., Driss, B., & Breau, J. L. (1999)** cancer.p 126.
- **Cox CM, Poole TJ (2000).** Angioblast differentiation is influenced by the local environment: FGF-2 induces angioblasts and pattern vessel formation in the quail embryo. *Dev Dyn* 218:371–382
- **Cuenod, C. A., and Lartigau, E. (2004).** Angiogenèse tumorale et imagerie. *Journal de Radiologie*, 85(9), 1375.

D

- **Darrasse-Jèze, G., and Klatzmann, D. (2011).** Immunothérapie des cancers: une lueur au bout du tunnel?
- **Dechant, K. L., and Goa, K. L. (1991).** Levocabastine. *Drugs*, 41(2), 202-224
- **Dich, J., Zahm, S. H., Hanberg, A., & Adami, H. O. (1997).** Pesticides and cancer. *Cancer Causes and Control*, 8(3), 420-443.
- **Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2005).** Antioxidant Activity Of Some Algerian Medicinal Plants Extracts Containing Phenolic Compounds. *Food Chem* 2006;97(4):654-60. Doi: 10.1016/J.Foodchem..04.028
- **Dreyer, C., Raymond, E., & Faivre, S. (2009).** Les thérapies ciblées et leurs indications dans les tumeurs solides. *La Revue de médecine interne*, 30(5), 416-424.
- **Dumortier, J., Ratineau, C., Roche, C., Lombard-Bohas, C., Chayvialle, J. A., and Scoazec, J. Y. (1999).** Angiogenèse et tumeurs endocrines. *Bulletin du cancer*, 86(2), 148-53.
- **Duran, C. L., Howell, D. W., Dave, J. M., Smith, R. L., Torrie, M. E., Essner, J. J., and Bayless, K. J. (2011).** Molecular regulation of sprouting angiogenesis. *Comprehensive Physiology*, 8(1), 153-235.

E

- **Eilken, H. M., & Adams, R. H. (2010).** Dynamics of endothelial cell behavior in sprouting angiogenesis. *Current opinion in cell biology*, 22(5), 617-625.
- **El Rhaffari, L., & Zaid, A. (2002).** Pratique De La Phytothérapie Dans Le Sud-Est Du Maroc (Tafilalet): Un Savoir Empirique Pour Une Pharmacopée Rénovée

- **Esch F, Baird A, Ling N, et al. (2005).** Primary structure of bovine pituitary basic fibroblast growth factor (FGF) and comparison with the amino-terminal sequence of bovine brain acidic FGF Proc Natl Acad Sci USA **1985**, 82 6507-6511

F

- **Faure, S. (2015).** Thérapies ciblées anticancéreuses (1/2). Actualités pharmaceutiques, 54(5461)
- **Fayette, J., Soria, J. C., and Armand, J. P. (2006).** Le ciblage de l'angiogenèse en oncologie. Pathologie Biologie, 54(4), 199-205.
- **Feige, J. J. (2010).** L'angiogenèse tumorale: progrès récents et défis persistants. Bulletin du cancer, 97(11), 1305-1310.
- **Ferrara, N. (1995).** The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis. Breast cancer research and treatment, 36(2), 127-137.
- **Ferrara, N., Hillan, K. J., & Novotny, W. (2005).** Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. Biochemical and biophysical research communications, 333(2), 328-335.
- **Ferrari, S. M., Fallahi, P., Politti, U., Materazzi, G., Baldini, E., Ulisse, S., ... & Antonelli, A. (2015).** Molecular targeted therapies of aggressive thyroid cancer. Frontiers in endocrinology, 6, 176.
- **Fischer, S., Renz, D., Schaper, W., & Karliczek, G. F. (2001).** In vitro effects of dexamethasone on hypoxia-induced hyperpermeability and expression of vascular endothelial growth factor. European journal of pharmacology, 411(3), 231-243.

- **Fléchon, A., Boyle, H., and Négrier, S. (2010).** Gestion des toxicités des antiangiogéniques dans le traitement des cancers du rein. *Bulletin du Cancer*, 97(2), S73-S82.
- **Folkman J, (1971).** : Tumor angiogenesis : therapeutic implications. *N. Engl. J. Med.*, 285 : 1182-6.
- **Folkman, J. U. D. A. H., & Ingber, D. E. (1987).** Angiostatic steroids. Method of discovery and mechanism of action. *Annals of surgery*, 206(3), 374.
- **Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. (1996).** Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4604-13.
- **Franks, M. E., Macpherson, G. R., and Figg, W. D. (2004).** Thalidomide. *The Lancet*, 363(9423), 1802-1811
- **Freddie Bray, Jacques Ferlay, Isabelle Soerjomataram, Rebecca L. Siegel, Lindsey A. Torre, Ahmedin Jemal, Global Cancer Statistics (2018): GLOBOCAN Estimates Of Incidence And Mortality Worldwide For 36 Cancers In 185 Countries, CA CANCER J CLIN 2018;68:394– 424**
- **Fridman, W. H., and Sautès-Fridman, C. (2014).** Le microenvironnement tumoral- Matrice nourricière, champ de bataille et cible thérapeutique des cancers. *médecine/sciences*, 30(4), 359-365.
- **Fukumura, D., and Jain, R. K. (2007).** Tumor microenvironment abnormalities: causes, consequences, and strategies to normalize. *Journal of cellular biochemistry*, 101(4), 937-949.
- **Funasaka T, Raz A. (2007).** The role of autocrine motility factor in tumor and tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev*; 26:

G

- **Galaup, A., and Germain, S. (2008).** Les anticorps anti-PlGF-Un nouvel outil thérapeutique anti-angiogénique?. *médecine/sciences*, 24(5), 459-462.
- **Gérard, J. P., Thariat, J., Giraud, P., and Cosset, J. M. (2010).** Histoire de l'évolution des techniques de radiothérapie. *Bulletin du cancer*, 97(7), 743-751.
- **Gerber HP, Ferrara N. (2005).** Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumabas monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. *Cancer Res*; 65: 671-80
- **Gerhardt H, Golding M, Fruttiger M, et al (2003).** VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelialtip cell filopodia. *J Cell Biol* 161: 1163–1177 doi: 10.1083/jcb.200302047 PMID: 12810700
- **Giordano, F. J., and Johnson, R. S. (2001).** Angiogenesis: the role of themicroenvironment in flipping the switch. *Current opinion in genetics and development*, 11(1), 35-40.
- **Glode, L.M., Barqawi, A., Crighton, F., Crawford, E.D. and Kerbel, R., (2003).** Metronomic therapy with cyclophosphamide and dexamethasone for prostate carcinoma. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*, 98(8), pp.1643-1648.
- **Goldman, L., and Masson, P. L. (2015).** Goldman's Cecil Medicine Cancérologie. Elsevier Health Sciences.
- **Góth, M. I., Hubina, E., Raptis, S., Nagy, G. M., & Tóth, B. E. (2003).** Physiological and pathological angiogenesis in the endocrine system. *Microscopy research and technique*, 60(1), 98-106.

- **Gothié, E., and Pouysségur, J. (2002).** HIF-1: régulateur central de l'hypoxie. *médecine/sciences*, and 18(1), 70-78.
- **Guillamo, J. S. (2011).** Stratégies anti-angiogéniques dans le glioblastome. *Revue Neurologique*, 167(10), 662-667.
- **Gupta, S. C., Sung, B., Prasad, S., Webb, L. J., and Aggarwal, B. B. (2013).** Cancer drug discovery by repurposing: teaching new tricks to old dogs. *Trends in pharmacological sciences*, 34(9), 508-517.

H

- **Hadrache-Jarraya, H., Limam, F., Aouani, E., Amri, M. and Mokni, M., (2021).** Vasomodulatory effects of semi-purified fractions of garlic aqueous extract on chick chorioallantoic membrane. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(3).
- **Halimi, J. M., Azizi, M., Bobrie, G., Bouché, O., Deray, G., des Guetz, G., ... and Rieu, P. (2008).** Effets vasculaires et rénaux des médicaments anti-angiogéniques: recommandations françaises pour la pratique (SN, SFHTA, APNET, FFCDD). *Néphrologie & thérapeutique*, 4(7), 602-615.
- **Hanahan D and Weinberg RA. (2000).** The hallmarks of cancer. *Cell*; 100: 57-70.
- **Hanahan D and Weinberg RA. (2011).** Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*; 144: 646-674.
- **Haupt, V. J., and Schroeder, M. (2011).** Old friends in new guise: repositioning of known drugs with structural bioinformatics. *Briefings in bioinformatics*, 12(4), 312-326.
- **Heck, T. A. M., Vaeyens, M. M., and Van Oosterwyck, H. (2015).** Computational models of sprouting angiogenesis and cell migration: towards multiscale

mechanochemical models of angiogenesis. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 10(1), 108-141.

- **Hejmadi Momna (2009)**. Introduction to Cancer Biology Edition : Momna Hejmadi & Ventus Publishing ApS ISBN 978-87-7681-478-6 p :37 ,06 ,p : 24 , p17
- **Hennings, H., Glick, A. B., Greenhalgh, D. A., Morgan, D. L., Strickland, J. E., Tennenbaum, T., and Yuspa, S. H. (1993)**. Critical aspects of initiation, promotion, and progression in multistage epidermal carcinogenesis. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 202(1), 1-8. P 01
- **Hom, D.B., and R.H.Maisel, (1992)**. Angiogenic growth factors :their effects and potential in soft tissue wound healing. *Ann otol rhinol laryngol* 101:349
- **Hoseinkhani, Z., Norooznejhad, F., Rastegari-Pouyani, M., & Mansouri, K. (2020)**. Medicinal Plants Extracts with Antiangiogenic Activity: Where Is the Link?. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(3), 370
- **Hsieh, H. L., and Tsai, M. M. (2019)**. Tumor progression-dependent angiogenesis in gastric cancer and its potential application. *World journal of gastrointestinal oncology*, 11(9), 686.
- **Huntington GS, McClure CFW. (1908)**. The anatomy and development of the jugular lymph sacs in the domestic cat (*Felis domestica*). *Anat Rec*;2:1—18.
- **Huynh-Do, U. (2006, August)**. Angiogenèse et anti-angiogenèse: les deux visages de la néovascularisation. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 6, No. 35, pp. 763-768). EMH Media.

I

- **Integrated Taxonomic Information System – Report (2021)** *Allium sativum* L. Taxonomic Serial No.: 42652.

- **Ishida, J., Konishi, M., Ebner, N., and Springer, J. (2016).** Repurposing of approved cardiovascular drugs. *Journal of translational medicine*, 14(1), 269.

J

- **Jackson JR, Seed MP, Kircher CH, Willoughby DA, Winkler JD (1997).** The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *The FASEB J* 11: 457–465. PMID: 9194526
- **Jain RK. (2005).** Antiangiogenic therapy for cancer: Current and emerging concepts. *Oncology (Williston Park)*;19:7–16.
- **Janin, N. (1994).** Introduction au processus de la cancérogenèse: les cancers sont des maladies génétiques somatiques. *La Revue de médecine interne*, 15(12), 821-829.p 821
- **Jeong D E, Song H J, et al (2015).**"Repurposing the anti-malarial drug artesunate as a novel therapeutic agent for metastatic renal cell carcinoma due to its attenuation of tumor growth, metastasis, and angiogenesis." *Oncotarget* 6(32): 33046-330
- **JP, G. (2020).** L'évaluation: moteur du processus de planification sanitaire" *Plan National Cancer 2015-2019"*. *Algerian Journal of Health Sciences*, 2(3), 53-61.

K

- **Katzung, B. G. (2017).** Basic and clinical pharmacology 14th edition. McGraw Hill Professional.p949
- **Kelly, B.D., Hackett, S.F., Hirota, K., Oshima, Y., Cai, Z., Berg-Dixon, S., Rowan, A., Yan, Z., Campochiaro, P.A. And Semenza, G.L. (2003).** Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of

angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circ Res.* 93: 1074-1081.

- **Killer HE, Jaggi GP, Miller NR, Flammer J, Meyer P. (2008).** Does immunohistochemistry allow easy detection of lymphatics in the optic nerve sheath? *J Histochem Cytochem*;56:1087—92.
- **King, R. J. B., and Robins, M. W. (2006).** *Cancer biology.* Pearson Education.p :6,8.
- **Knighton, D., Ausprunk, D., Tapper, D., & Folkman, J. (1977).** Avascular and vascular phases of tumour growth in the chick embryo. *British journal of cancer*, 35(3), 347-356.
- **Kripke, M. L. (1981).** Immunologic Mechanisms in UV Radiation Carcinogenesis. *Advances in Cancer Research*, 34, 69-106.

L

- **Lacouture M, Wu S, Robert C, et al. (2008).** Evolving strategies for the management of hand-foot skin reaction associated with the multitargeted kinase inhibitors sorafenib and sunitinib. *Oncologist*; 13(9): 1001-11
- **Lambrigts, C., Kaux, J. F., & Maquet, D. (2021).** Apport de la Rééducation dans le suivi d'un cancer. *Revue Médicale de Liège*, 76(5-6)), 545-549.
- **Leak LV, Burke JF. (1968).** Ultrastructural studies on the lymphatic anchoring filaments. *J Cell Biol*;36:129—49.
- **Li, F., Huang, J., Ji, D., Meng, Q., Wang, C., Chen, S., ... & Li, C. (2017).** Azithromycin effectively inhibits tumor angiogenesis by suppressing vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated signaling pathways in lung cancer. *Oncology letters*, 14(1), 89-96.

- **Li, L., Madu, C. O., Lu, A., and Lu, Y. (2010).** HIF-1 α promotes a hypoxia-independent cell migration. *The open biology journal*, 3, 8.
- **Lippert III, J.W., (2007).** Vascular disrupting agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(2), pp.605-615
- **Loeb LA, Harris CC. (2008).** Advances in chemical carcinogenesis: a historical review and prospective. *Cancer Res.* 68(17):6863–72
- **Lokeshwar, B.L. (2011).** Chemically modified non-antimicrobial tetracyclines are multifunctional drugs against advanced cancers. *Pharmacol. Res.* 63, 146–150
- **Londhe, V. P., Gavasane, A. T., Nipate, S. S., Bandawane, D. D., And Chaudhari, P. D. (2011).** Role Of Garlic (*Allium Sativum*) In Various Diseases: An Overview. *Angiogenesis*, 12, 13.
- **Lopez, L. R., Bleich, R. M., and Arthur, J. C. (2020).** Microbiota effects on carcinogenesis: initiation, promotion and progression. *Annual Review of Medicine*, 72.p03.06
- **Lorioty ohann, Pierre MORDANT (2011).** *Cancérologie* 2^{ème} Edition ELSEVIER / MASSON P47
- **Lugano, R., Ramachandran, M., and Dimberg, A. (2020).** Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(9), 1745-1770.

M

- **Mazeron, R., Bourhis, J., and Deutsch, E. (2008).** Angiogenèse et radiothérapie: tout ce qu'un oncologue radiothérapeute doit savoir. *Cancer/Radiothérapie*, 12(1), 50-60.
- **McLachlan, J., & Banerjee, S. (2015).** Pazopanib in ovarian cancer. Expert review of anticancer therapy, 15(9), 995-1005.
- **Méjean A.T., Lebret. (2008)** genese de la metastase La cascade métastatique
- **Meuss, A. R. (2000).** Herbal medicine.
- **Mokhtar, H. C., Kara, K., Saida, A., & Farida, B. (2020).** Données épidémiologiques du cancer dans l'Est et le Sud-Est Algérien, 2014-2017. *Algerian Journal of Health Sciences*, 2(3), 14-31.
- **Monier, R., and Tubiana, M. (2008).** Cancérogenèse. Accroissement des connaissances et évolution des concepts. *Oncologie*, 10(5), 319-347. P326
- **Mucke, H. A. M. (2015).** "Drug Repurposing Patent Applications July-September 2015." *Assay and Drug Development Technologies* 13(10): 661-666.

N

- **Nagy, J. A., Chang, S. H., Dvorak, A. M., and Dvorak, H. F. (2009).** Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know?. *British journal of cancer*, 100(6), 865-869
- **Nakamura, T., and Mizuno, S. (2010).** The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 86(6), 588-610.

- **National cancer institute (2021)** NCI Thesaurus Dexamethasone (Code C422) .
- **Nehmé, A. and Edelman, J., (2008).** Dexamethasone inhibits high glucose–, TNF- α –, and IL-1 β –induced secretion of inflammatory and angiogenic mediators from retinal microvascular pericytes. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(5), pp.2030-2038.
- **Netland, P. A., Leahy, C., & Krenzer, K. L. (2000).** Emedastine ophthalmic solution 0.05% versus levocabastine ophthalmic suspension 0.05% in the treatment of allergic conjunctivitis using the conjunctival allergen challenge model. *American journal of ophthalmology*, 130(6), 717-723.

O

- **O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, et al. (1997).** Endostatin : an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* ; 88 : 277-85.
- **O'Reilly MS, Brem H, Folkman J. (1995).** Treatment of murine hemangioendotheliomas with the angiogenesis inhibitor AGM-1470. *J Pediatr Surg* ; 30 : 325-9 discussion 9-30.
- **O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, Folkman J. (1996).** Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nature Med*;2: 689-92.
- **Otrock, Z. K., Mahfouz, R. A., Makarem, J. A., and Shamseddine, A. I. (2007).** Understanding the biology of angiogenesis: review of the most important molecular mechanisms. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 39(2), 212-220.

P

- **Paesler, J., Gehrke, I., Gandhirajan, R. K., Filipovich, A., Hertweck, M., Erdfelder, F., ... & Kreuzer, K. A. (2010).** The vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors vatalanib and pazopanib potently induce apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells in vitro and in vivo. *Clinical cancer research*, 16(13), 3390-3398.
- **Pandya, N. M., Dhalla, N. S., & Santani, D. D. (2006).** Angiogenesis—a new target for future therapy. *Vascular pharmacology*, 44(5), 265-274.
- **Pantziarka, P., & André, N. (2019).** drug repurposing. *Frontiers in medicine*, 6, 154.
- **Paraic A. Kenny, Ph.D, (2007).** Stages of Cancer Development Edition : by Infobase Publishing, Inc.p :90, 93.
- **Park, S. H., Ryu, M. H., Ryoo, B. Y., Im, S. A., Kwon, H. C., Lee, S. S., ... & Kang, Y. K. (2012).** Sorafenib In Patients With Metastatic Gastrointestinal Stromal Tumors Who Failed Two Or More Prior Tyrosine Kinase Inhibitors: A Phase II Study Of Korean Gastrointestinal Stromal Tumors Study Group. *Investigational New Drugs*, 30(6), 2377-2383.
- **Parnham, M. J., Haber, V. E., Giamarellos-Bourboulis, E. J., Perletti, G., Verleden, G. M., & Vos, R. (2014).** Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacology & therapeutics*, 143(2), 225-245.
- **Patan, S., Munn, L. L., and Jain, R. K. (1996).** Intussusceptive microvascular growth in a human colon adenocarcinoma xenograft: a novel mechanism of tumor angiogenesis. *Microvascular research*, 51(2), 260-272.
- **Patel-Hett, S., and D'Amore, P. A. (2011).** Signal transduction in vasculogenesis and developmental angiogenesis. *The International journal of developmental biology*, p12.

- **Peters, D. H., Friedel, H. A., and McTavish, D. (1992).** Azithromycin. *Drugs*, 44(5), 750-799.
- **Petterson A, Nagy JA, Brown LF, Sundberg C, Morgan E, Jungles S, Carter R, Krieger JE, Manseau EJ, Harvey SV, Eckelhoefer IA, Feng D, Dvorak AM, Mulligan RC, Dvorak HF: (2000).** Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest*; 80: 99–115.
- **Pietrantonio, F., Cremolini, C., Aprile, G., Lonardi, S., Orlandi, A., Mennitto, A., ... & Marmorino, F. (2015).** Single-agent panitumumab in frail elderly patients with advanced RAS and BRAF wild-type colorectal cancer: challenging drug label to light up new hope. *The oncologist*, 20(11), 1261-1265.
- **Plate, K. H., Breier, G., and Risau, W. (1994).** Molecular mechanisms of developmental and tumor angiogenesis. *Brain pathology*, 4(3), 207-218.
- **Pr Philippe Giraud et Pr Jean Trédaniel. (2019).** *Cancérologie*. 2^{ème} édition Collège National des Enseignants en Cancérologie (CNEC) .P30
- **Presta, M., Dell’Era, P., Mitola, S., Moroni, E., Ronca, R., and Rusnati, M. (2005).** Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine & growth factor reviews*, 16(2), 159-178.
- **Probst, G. S., L. E. Hill and B. J. Bewsey, J (1980).** *Toxicol. Environ.Health*, , 6, 333–349. Publishing, Inc.p :20

Q

- **Quesada, A. R., Muñoz-Chápuli, R., & Medina, M. A. (2006).** Anti-angiogenic drugs: from bench to clinical trials. *Medicinal research reviews*, 26(4), 483-530.

R

- **Ramos, G. B., Arguelles, C. L., Herrera, A. A., & Ragasa, C. V. (2010).** Screening For Potential Anti-Angiogenic Property Utilizing Avian Embryo Chorioallantois Membranes (Cams) II. Garlic (*Allium Sativum* L.) Oil. *Asia Life Sciences-The Asian International Journal Of Life Sciences*, 20(1), 13-23.
- **Raymond W. Ruddon, M.D., Ph.D, (2007).** *Cancer biology*, Fourth edition Oxford University Press, p : 04.
- **Ribatti D, Vacca A, Nico B, Roncal IL, Dammacco F (2001).** Postnatal vasculogenesis. *Mech Dev* 100:157–163
- **Ribatti, D., Nico, B., and Crivellato, E. (2009).** Morphological and molecular aspects of physiological vascular morphogenesis. *Angiogenesis*, 12(2), 101-111.
- **Ribatti, D., Nico, B., and Crivellato, E. (2015).** The development of the vascular system: a historical overview. *Vascular Morphogenesis*, 1-14.
- **Ribatti, D., Nico, B., Crivellato, E., Roccaro, A. M., & Vacca, A. (2007).** The history of the angiogenic switch concept. *Leukemia*, 21(1), 44-52.
- **Ribatti, D., Nico, B., Vacca, A., Roncali, L., Burri, P. H., & Djonov, V. (2001).** Chorioallantoic membrane capillary bed: a useful target for studying angiogenesis and anti-angiogenesis in vivo. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, 264(4), 317-324.
- **Ribatti, Humana , Press ,Totowa. (2013).** In vivo angiogenic activity of erythropoietin. *Tissue-Protective Cytokines*: 227-235.
- **Risau W, Flamme I (1995).** Vasculogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 11:73–91

- **RISAU, W. and LEMMON, V. (1988).** Changes in the vascular extracellular matrix during embryonic vasculogenesis and angiogenesis. *Dev Biol* 125: 441-450.
- **RisauW(1997).** Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 386: 671–674.
- **Robert, J. (2013).** Biologie de la métastase. *Bulletin Cancer*, 100(4), 333- 342
- **Rüegg, C. (2002).** Une nouvelle cible pour la thérapeutique anticancéreuse: la vascularisation tumorale.
- **Ruoslahti, E. (2002).** Specialization of tumour vasculature. *Nature Reviews Cancer*, 2(2), 83-90.

S

- **Sabin FR (1902).** On the origin of the lymphatic system from the veins and the development of the lymph hearts and thoracic duct in the pig. *Am J Anat*;1:367—89.
- **Sato, Y. (2003).** Molecular diagnosis of tumor angiogenesis and anti-angiogenic cancer therapy. *International Journal of Clinical Oncology*, 8(4), 200 -206.
- **Schlienger, J. L. (2014).** Diabète Et Phytothérapie: Les Faits. *Médecine Des Maladies Métaboliques*, 8(1), 101-106
- **Schuster, M., Nechansky, A., and Kircheis, R. (2006).** Cancer immunotherapy. *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 1(2), 138-147.p :138
- **Semenza GL. HIF-1 and human disease (2000).** one highly involved factor. *Genes Dev*; 14: 1983-91.
- **Shang, F., Liu, M., Li, B., Zhang, X., Sheng, Y., Liu, S., ... & Xiu, R. (2016).** The anti-angiogenic effect of dexamethasone in a murine hepatocellular carcinoma model

by augmentation of gluconeogenesis pathway in malignant cells. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 77(5), 1087-1096.

- **Shitara, K., and Nishikawa, H. (2018).** Regulatory T cells: a potential target in cancer immunotherapy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1417(1), 104-115.
- **Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D., and Keshet, E. (1992).** Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*, 359(6398), 843-845.
- **Singhal, S. et al. (1999).** Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N. Engl. J. Med.* 341, 1565–1571
- **Spiegelaere, De., Casteleyn, W., Van den Broeck, C., Plendl, W., Bahramsoltani, J., Simoens M., ... and Cornillie, P. (2012).** Intussusceptive angiogenesis: a biologically relevant form of angiogenesis. *Journal of vascular research*, 49(5), 390-404.
- **Stoddart, R. W. (1983).** The Generation of Cancer: Initiation, promotion, progression and the multiple influences of the environment. P 153
- **Su, J., Zhu, H. L., Yao, Y., and Duan, Y. (2021).** Antiangiogenic Therapy: Challenges and Future Directions. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 21(2), 87-89.
- **Szekanecz, Z., and Koch, A. E. (2007).** Mechanisms of disease: angiogenesis in inflammatory diseases. *Nature clinical practice Rheumatology*, 3(11), 635-643

T

- **Takahashi, Y., Bucana, C. D., Liu, W., Yoneda, J., Kitadai, Y., Cleary, K. R., and Ellis, L. M. (1996).** Platelet-derived endothelial cell growth factor in human colon cancer angiogenesis: role of infiltrating cells. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 88(16), 1146-1151.
- **Taylor, M., Georger, B., Lagodny, J., Farace, F., Vassal, G., and Rössler, J. (2009).** Neuroblastome: intérêt des traitements anti-angiogéniques. *Archives de pédiatrie*, 16(5), 457-467.
- **Tobelem, G. (1990).** L'angiogenèse tumorale
- **Tonnesen MG, Feng X, Clark RA (2000).** Angiogenesis in wound healing. in *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (Vol. 5, No. 1, pp. 40–46). Nature Publishing Group.
- **Trédan, O. (2014).** Impact du microenvironnement tumoral sur les traitements anticancéreux. *La Lettre du cancérologue (Boulogne)*, 23(9), 389-392.
- **Treps, L., and Gavard, J. (2015).** L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tourne mal. *médecine/sciences*, 31(11), 989-995.
- **Tubiana, M. (2008).** Généralités sur la cancérogenèse. *Comptes rendus biologies*, 331(2), 114-125.

V

- **Valdes, T. I., Kreutzer, D., & Moussy, F. (2002).** The chick chorioallantoic membrane as anovel in vivo model for the testing of biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 62 (2), 273-282.

W

- **Wacker A. et Gerhardt H. (2011).** Endothelial development taking shape. *Current opinion in cell biology*, 23 (6): 676-685.
- **Weidner N., Semple J., Welch W., Folkman J.(1991).** : Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. *N. Engl. J. Med*, 3 : 1-8.
- **Weinberg RA (2014).** Coming full circle-from endless complexity to simplicity and back again. *Cell*; 157: 267-271.
- **Wigle JT, Harvey N, Detmar M, Lagutina I, Grosveld G, Gunn MD, et al. (2002).** An essential role for Prox1 in the induction of the lymphatic endothelial cell phenotype. *EMBO J*;21:1505—13.
- **Wigle JT, Oliver G.(1999).** Prox1 function is required for the development of the murine lymphatic system. *Cell*;98:769—78.

Y

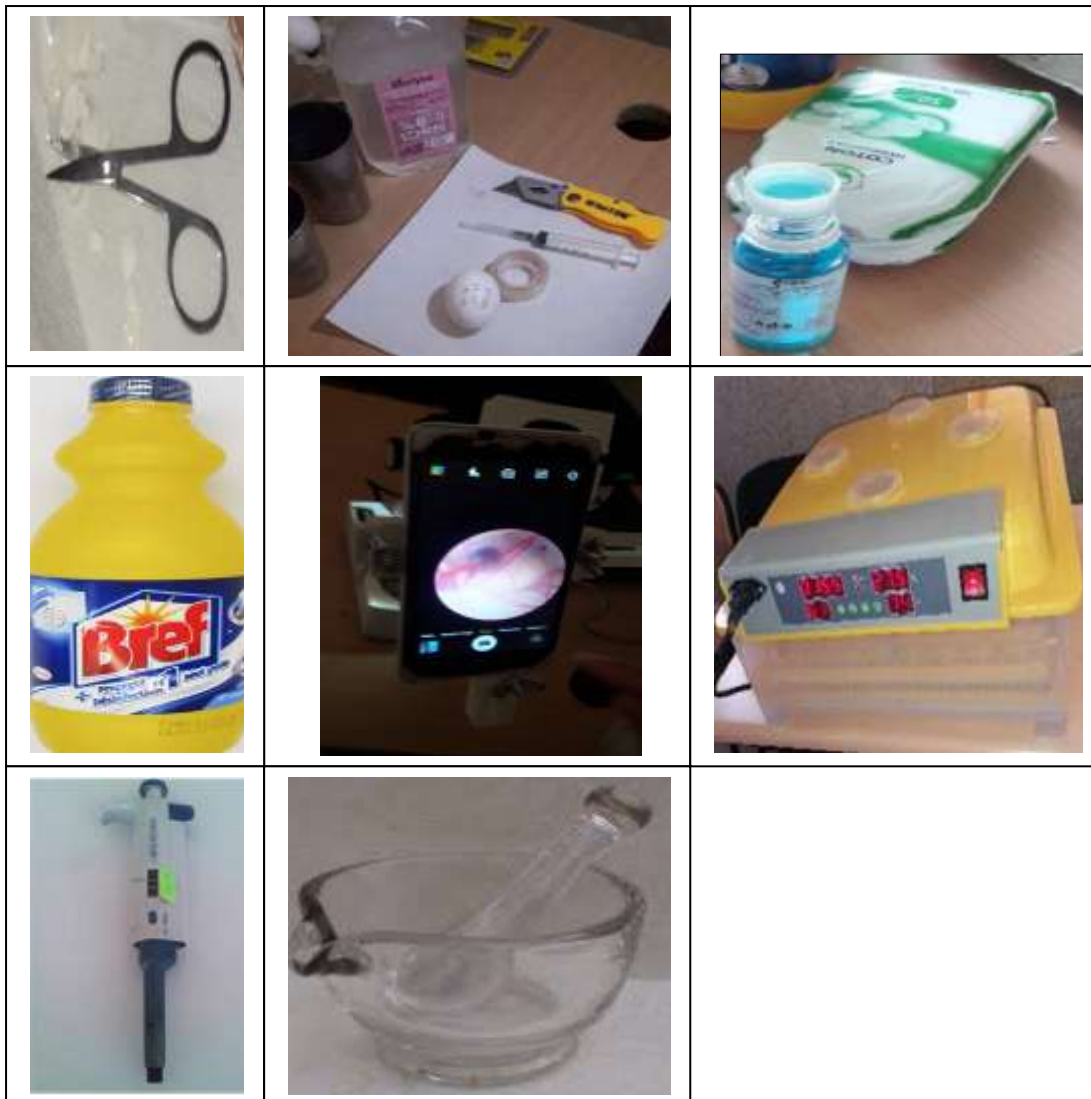
- **Yokota, J. (2000).** Tumor progression and metastasis. *Carcinogenesis*, 21(3), 497-503.p 497
- **Yuan, A., Yang, P. C., Yu, C. J., Chen, W. J., Lin, F. Y., Kuo, S. H., and Luh, K. T. (2000).** Interleukin-8 messenger ribonucleic acid expression correlates with tumor progression, tumor angiogenesis, patient survival, and timing of relapse in non–small-cell lung cancer. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162(5), 1957-1963.

Z

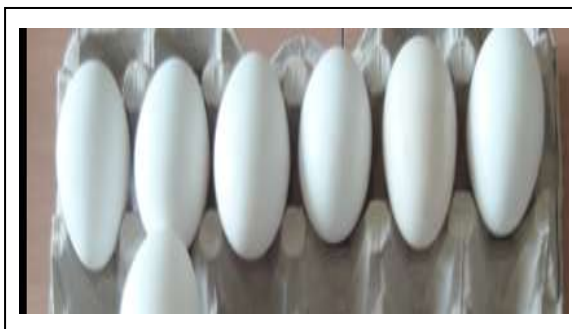
- **Zetter, B. R. (1998).**Angiogenesis and tumor metastasis. Annual review of medicine, 49(1), 407-424.

Annexes

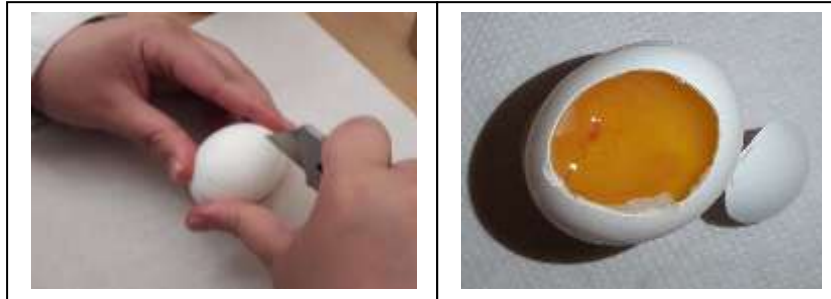
Annexe 01. Le matériel utilisé de laboratoire, les produits chimiques.



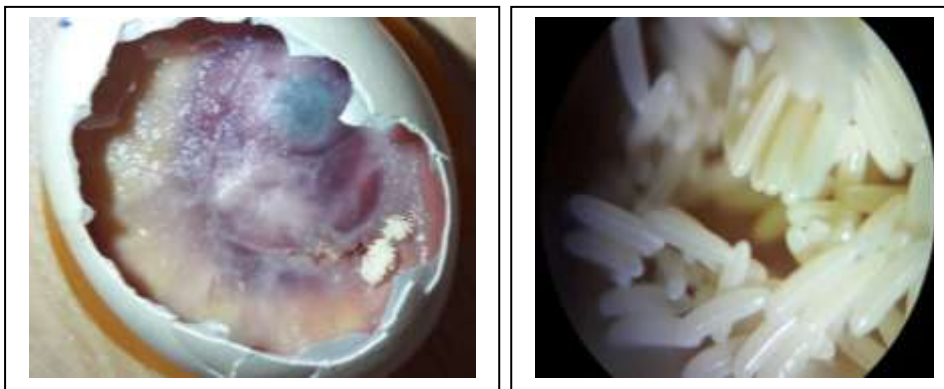
Annexe 02. Les œufs légorn et sauvage utilisée



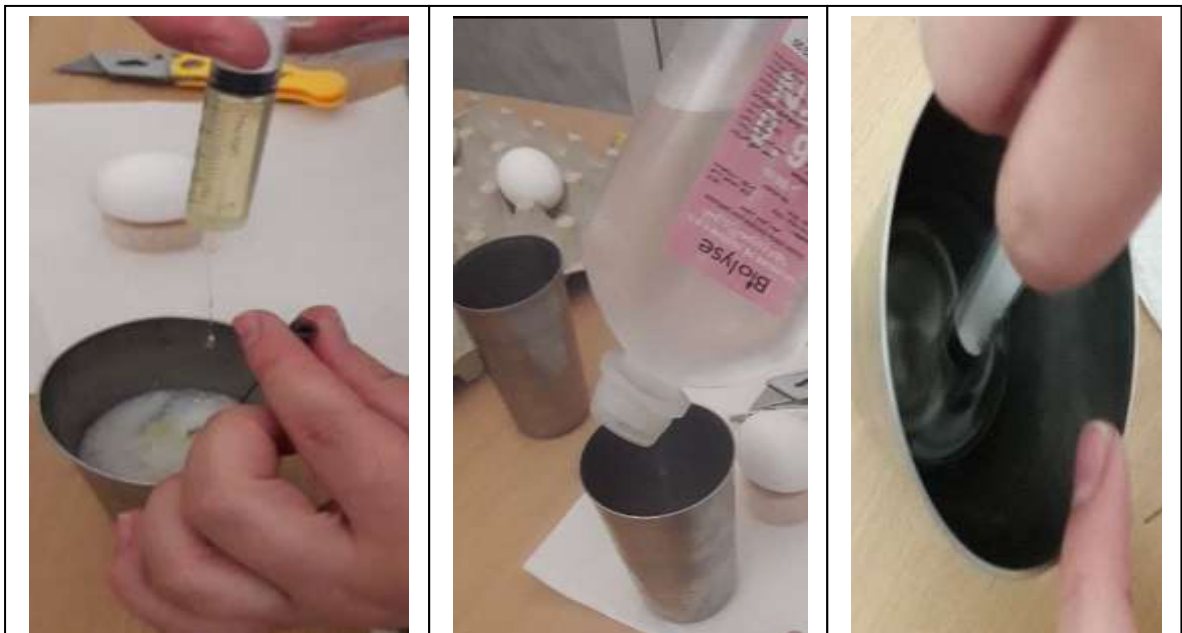
Annexe03. Ouverture d'une fenêtre sur la circonférence de la coquille d'œuf



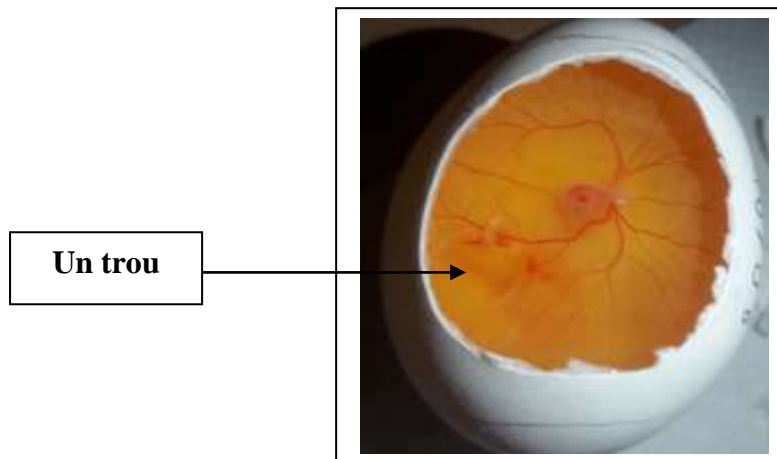
Annexe04. Attaques infectieuses.



Annexe05. Rinçage l'aiguille après chaque prélèvement de l'albumine pour éviter le décrouchage



Annexe 06. trou de niveau de la CAM au (j 3)



Annexe 07. Poids de l'œuf avant de prélever l'Albumen (J3) et le Poids de l'embryon au moment du sacrifice (J12) et après 21 jours, successivement.



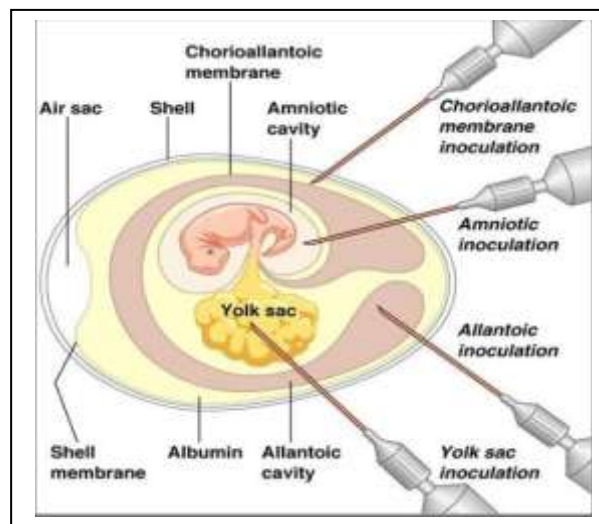
Annexe 08. L'incubateur a des conditions défavorables de température faible et l'humidité élevée



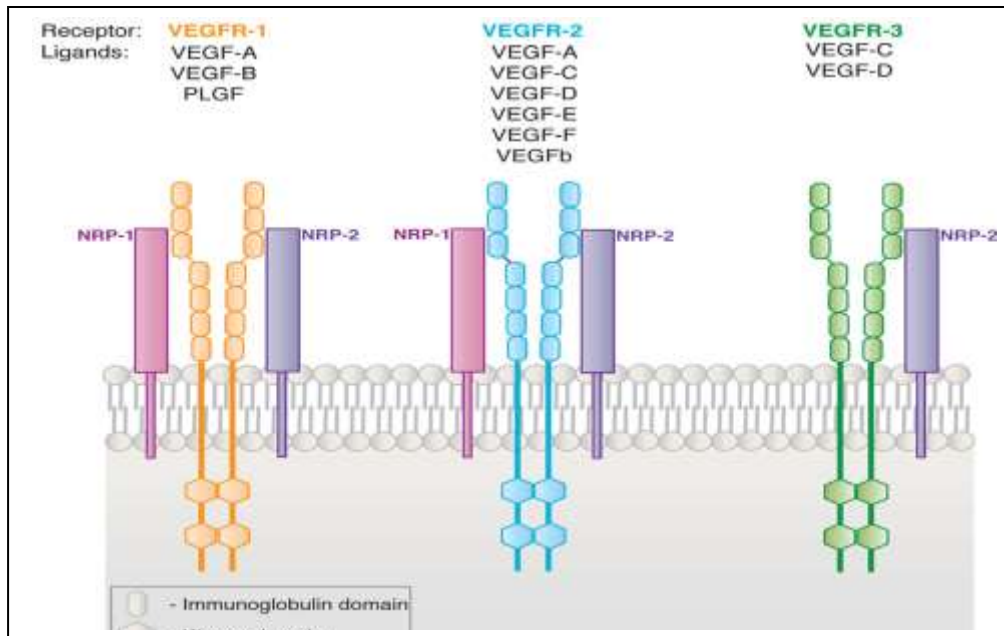
Annexe 09. L'Ail utilisée dans notre traitement de CAM



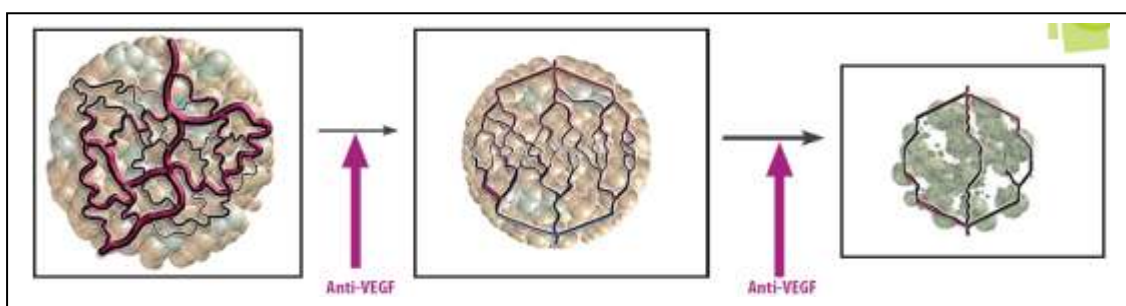
Annexe10. La membrane chorioallantoïque. La CAM est composée d'un épithélium multicouche ; l'ectoderme à l'interface aérienne, le mésoderme (ou le stroma) et l'endoderme à l'interface avec le sac allantoïde **Valdes, T. et al., (2002).**



Annexe 11. Récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et leurs ligands **Patel-Hett et D'Amore, (2011).**

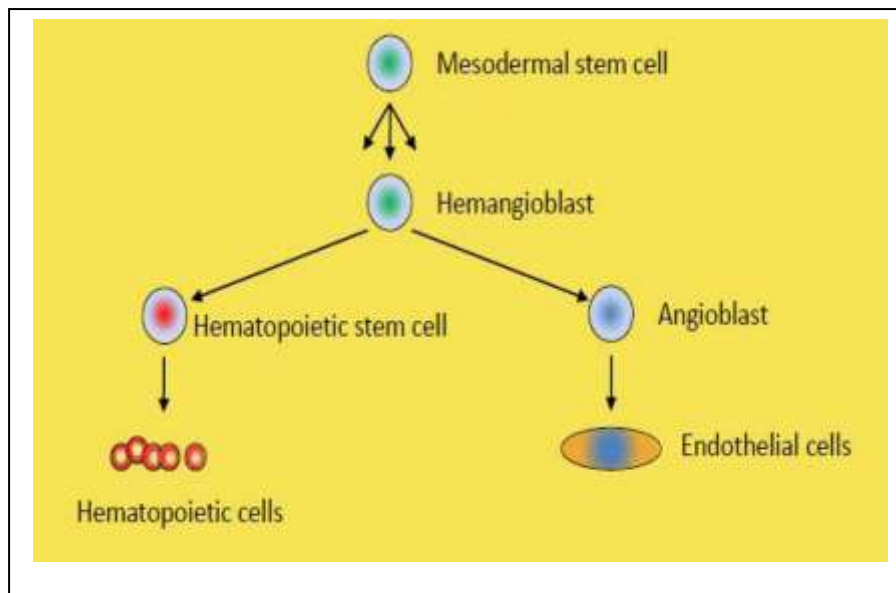


Annexe12. Le traitement par anti-VEGF **Trédan, (2014).**



Annexe 13. Origine des cellules endothéliales et des cellules hématopoïétiques.

- ✓ Les cellules souches mésodermiques sont la source de cellules souches hématopoïétiques et d'angioblastes dans l'embryon en développement.
- ✓ L'hémangioblaste est un précurseur à la fois des angioblastes et des cellules souches hématopoïétiques.
- ✓ Les angioblastes se différencient en cellules endothéliales.
- ✓ Les cellules hématopoïétiques peuvent se différencier en tous les types cellulaires présents dans le sang circulant **Adair et Montani, (2010)**.



Diplôme préparé	Master en Biochimie appliqué
Thème :	
Etude de l'effet anti-angiogénique des médicaments	
Présenté par : <ul style="list-style-type: none"> • DJEBLI Soumia. • GHENDOUF Cheima. 	Devant le jury composé de : Président: M ^r BOUTELAA Sabar MCB/ C.U.Mila Examinateur : M ^{me} BOUGEURIA Hasiba MCB/ C.U.Mila Promoteur : M ^f MOUSSAOUI Bilal MAA/ C.U.Mila
Résumé	
<p>Le traitement des cancers constitue un problème de santé publique et repose entre autres sur la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie, l'hormonothérapie et les thérapies ciblées. Parmi les nouvelles stratégies thérapeutiques, le blocage de l'angiogenèse fait l'objet de nombreux essais clinique. Et cette étude explore, <i>in ovo</i> et <i>ex ovo</i>, l'effet inhibiteur des médicaments l'azithromycine, lévocabastine et le filtrat de l'ail (<i>Allium sativum</i>) vis-à-vis la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM). Alors a des doses de saturation, l'azithromycine diminue 48% de la vascularisation de la CAM ce qui correspond à la moitié de l'effet de la Dexaméthasone (témoin positif); La lévocabastine ne traduit aucune interaction avec les vaisseaux et le filtrat de l'ail montre une irritation des CAM, des saignements, des thromboses. Et ces données laissent croire que l'azithromycine possède un effet anti-angiogénique, le filtrat de l'ail affiche un effet destructeur des vaisseaux sanguins, alors que La lévocabastine semble être dépourvue d'action antiangiogénique. Donc, l'ail et l'azithromycine et méritent une exploration approfondie de son potentiel angiostatique dans le cadre d'une approche thérapeutique.</p> <p>Les mots clés : cancer, angiogenèse, la membrane chorioallantoïdienne, L'azithromycine , Lévocabastine, Ail (<i>Allium sativum</i>).</p>	
Le : 28/09/2021	
« Année Universitaire: 2020/2021 »	