

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية لشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université 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 antiangiogénique d'un
médicament : la dexaméthasone**

Présenté par :

- **BAGHDADI Cheyma**
- **GUERDOUH Nidhal**

Devant le jury composé de :

- ***Président : ZOUAGHI Mohammed (MAA).**
- ***Examineur : BOUTELAA Sabar (MCB).**
- ***Promoteur : MOUSSAOUI Bilal (MAA).**

Année Universitaire: 2019/2020

Remerciement

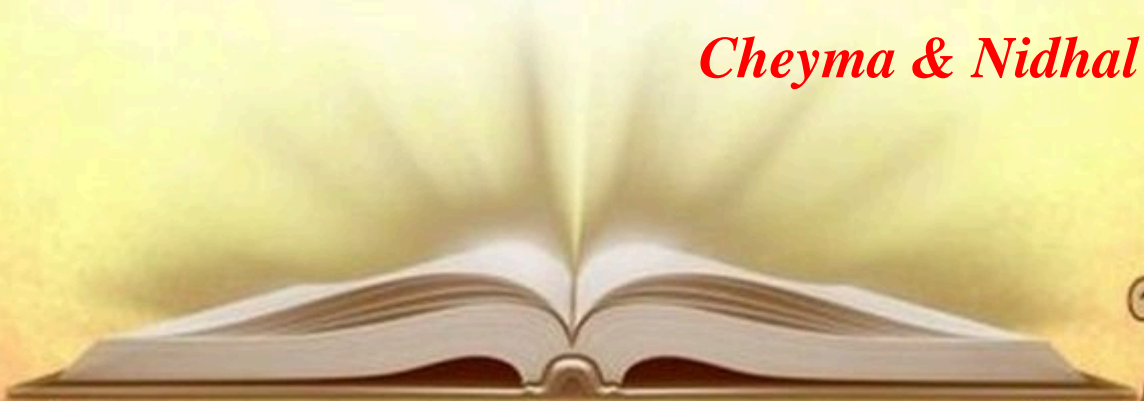
*Avant toute chose, nous tenons à remercier le bon **Dieu**, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience.*

*Tout d'abord un grand merci pour l'encadrant Monsieur **Bilal MOUSSAOUI** , votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien, et pour nous avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail.*

*Nos remerciements vont aux membres du jury Mr **ZOUAGHI Mohammed** et Mr **BOUTHALAA Sabar** qui nous fait l'honneur d'accepter de jurer notre travail.*

Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants du département des Sciences de la Nature et de Vie qui ont contribué à notre formation. Nous remercions aussi toutes les personnes qui a participé de près ou de loi, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Cheyma & Nidhal





Dédicace

Je dédie ce travail :

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

*A mes chères Parents, ma mère **NASSIMA** et mon
père **SAID** Pour tous leurs amours, pour tous les
efforts qu'ils ont consentis, leur tendresse, leurs
sacrifices, leur encouragement et leur soutien tout le
long de mes études.*

*A mes chères frères **Mohamed Ali, Nadir et Yahya,**
et toutes ma familles **BAGHDADI**, la famille
MECHERI, mes oncles et mes tantes.*

*A ma chère binôme **Nidhal***

A tous mes chères amies et camarades

*A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour
que ce Projet soit possible, je vous dis merci.*

Cheyma



Dédicace

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

Ma très chère mère **Fatiha Moussaoui, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

** Mon très cher père **Messaoud** qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.*

***Que Dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je suis puisse vous combler de bonheur.*

Mon époux **Dr Menade Hamza Alladdine mon modèle merci pour tous ce que tu me donne Dieu vous donne santé, bonheur et réussite.*

Mes chère frères **Raid et **Ziad**. Dieu vous donne santé, bonheur et réussite. * Ma cher binôme **Cheyma**.*

Nidhal

Résumé

Au cours des dernières années, plusieurs études dans le domaine de la cancérogenèse ou la pathologie tumorale, travaillent pour développer des thérapies anti-cancéreuses ciblant les processus de l'angiogenèse afin de bloquer la croissance tumorale et les métastases.

Cette étude explore, in ovo, l'effet inhibiteur d'un médicament anti-inflammatoire, dexaméthasone, vis-à-vis la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM), à une dose équivalente à 2 µg, ce médicament diminue la vascularisation de la CAM a un pourcentage de 95 % de blocage par rapport au témoin.

Ces données laissent croire que le dexaméthasone possède un effet antiangiogénique et donc mérite une exploration approfondie de son potentiel angiostatique dans le cadre d'une approche thérapeutique.

Mots-clés : cancérogenèse, angiogenèse, la membrane chorioallantoïdienne (CAM), dexaméthasone.

Abstract

In recent years, several studies in the field of carcinogenesis or tumor pathology have been working to develop anti-cancer therapies targeting angiogenesis processes to block tumor growth and metastases.

This study explores, *in ovo*, the inhibitory effect of an anti-inflammatory drug dexamethasone with respect to the vascularization of the chorioallantoid membrane (CAM), at a dose equivalent to 2 $\mu\text{g}/10\text{ml}$, this drug decreases the vascularization of CAM has a 95% blocking percentage compared to the control.

These data suggest that dexamethasone has an antiangiogenic effect and therefore merits further exploration of its angiostatic potential as part of a therapeutic approach.

Keywords: carcinogenesis, angiogenesis, chorioallantoid membrane (CAM), dexamethasone.

ملخص

تعمل العديد من الدراسات في مجال السرطان أو أمراض الأورام في السنوات الأخيرة، على تطوير العلاجات المضادة للسرطان التي تستهدف عمليات تولد الأوعية الدموية لمنع نمو الأورام المنتقلة.

تستكشف هذه الدراسة، **in ovo** ، التأثير المثبط لدواء مضاد للالتهابات (**dexaméthasone**) على الأوعية الدموية للغشاء المشيمي (**CAM**) ، بجرعة تعادل 2 ميكروغرام. أظهرت النتائج أن هذا الدواء يقلل من تشكل الأوعية الدموية لغشاء **CAM** بنسبة 99% مقارنة بالشاهد .

مما سبق يظهر أن **dexaméthasone** يمكن أن يرشح لدراسات معمقة قصد استعماله كعلاج مضاد لتخليق الأوعية الدموية لدى مرضى السرطان.

الكلمات المفتاحية: السرطان، تولد الأوعية، الغشاء المشيمي **CAM** ، **Dexaméthasone**.

Table des matières

I. Résumé

II. Liste des abréviations

III. Liste des figures

IV. Introduction

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : biologie du cancer

1. Définition du cancer.....	3
2. Caractéristiques des cellules cancéreuses	3
3. Causes du cancer.....	4
4. Les étapes du processus de cancérogenèse	5
4.1. L'initiation.....	5
4.2. La promotion	5
4.3. La progression	5
5. Les gènes impliqués dans la cancérogenèse	6
5.1. Proto-oncogène.....	6
5.2. Anti-oncogènes ou gènes suppresseurs des tumeurs	6
6. Traitement du cancer.....	7
6.1. Les traitements conventionnels	7
6.1.1. La chirurgie	7
6.1.2. La radiothérapie.....	7
6.1.3. La chimiothérapie.....	7
6.1.4. L'hormonothérapie.....	8
6.2. Traitements ciblés.....	8
6.2.1. Thérapie antiangiogénique	8
6.2.2. L'immunothérapie.....	8

Chapitre 2: Angiogenèse

1. Vasculogenèse.....	10
2. L'angiogenèse	10
2.1. Les cellules endothéliales	11
3. Les étapes de l'angiogenèse.....	11
3.1. La sélection.....	11

3.2.	La migration	12
3.3.	La fusion et la formation de la lumière.....	13
3.4.	La maturation et le flux sanguin	13
4.	Médiateurs de l'angiogenèse.....	14
4.1.	Les activateurs	14
4.1.1.	VEGF (vascular endothelial growth factor).....	14
4.1.2.	FGF (fibroblast growth factor).....	15
4.1.3.	PD-ECGF (Facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes).....	15
4.1.4.	HGF (Facteur de croissance des hépatocytes).....	15
4.2.	Les inhibiteurs	15
5.	Angiogenèse tumorale	16
5.1.	Les mécanismes de l'angiogenèse tumorale.....	16
5.2.	Rôle du "Switch angiogénique" dans la sortie de dormance tumorale.....	17
5.3.	Le microenvironnement tumoral	18
5.4.	Structure et caractéristiques des vaisseaux tumoraux.....	20
5.5.	Rôle de l'angiogenèse dans la progression tumoral et la métastase	20
6.	La lymphangiogenèse	21
7.	Thérapie anti-angiogénique	22
7.1.	Bevacizumab	23
7.2.	Le sunitinib (SutentR_)	23
7.3.	Sorafenib.....	23
8.	Efficacité clinique des antiangiogéniques.....	23
9.	Résistance aux traitements anti-angiogéniques	23
10.	Les avantages de la thérapie antiangiogénique	24
11.	Les inconvénients de la thérapie antiangiogénique.....	24
11.1.	Atteintes cardio-vasculaires	24
11.2.	Atteintes rénales.....	24
11.3.	Atteintes cutanées	25

Partie 2: Etude expérimentale

Chapitre 3: Matériel et méthode

1. Matériel et méthodes.....	26
1.1. Collecte des œufs et incubation.....	26
1.2. Préparation des membranes chorioallantoïdienne.....	27
1.3. Préparation de la Dexasone® 4mg/ml.....	28
1.4. Déroulement du test CAM.....	29

Chapitre 4: Résultat et discussion

1. Evaluation qualitative.....	31
2. Evaluation quantitative.....	34
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des figures :

Figure 1 : Les altérations communes à toutes les cellules cancéreuses et l'origine à leur prolifération incontrôlée (Hanahan & Weinberg, 2011).	4
Figure 2 : Différentes étapes du cancer (Béliveau & Gingras, 2007).	5
Figure 3 : Vasculogénèse et angiogénèse (Michael & Pepper, 2000).	10
Figure 4 : Mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front (Treppe & Gavard, 2015).	12
Figure 5: Les étapes de l'angiogénèse normale (Treppe & Gavard, 2015).	14
Figure 6 : Comparaison de la vasculature normale et tumorale (Azzi & Gavard, 2014).	16
Figure 7 : Les différents modes de formation des vaisseaux tumoraux. (Treppe & Gavard, 2015).	17
Figure 8: Représentation schématique des médiateurs moléculaires et cellulaires du switch angiogénique (Bensimon, 2012).	18
Figure 9 : Aberrations du réseau vasculaire tumoral (Treppe & Gavard, 2015).	20
Figure 10 : Les phases prévasculaire et vasculaire de la tumorigénèse (Michael S. & Pepper, 2000).	21
Figure 11 : Désinfection des œufs	26
Figure 12 : Incubateur (WQ01).	27
Figure 13: Vérification de la fécondité des œufs	27
Figure 14 : Prélèvement de l'Albumen	28
Figure 15: Révélation de la membrane chorioallantoïdienne	28
Figure 16 :La dexaméthasone	29
Figure 17 : Déroulement du test CAM	29
Figure 18 : Observation des vaisseaux du sac vitellin et vaisseaux de la CAM	31
Figure 19 : Observation du CAM au 8 ème et 14 ème jour	31
Figure 20 : Observation des vaisseaux primaire, secondaire et tertiaire sous stéréomicroscope	32
Figure 21 : : Les différents niveaux d'action du traitement sur la CAM	39
Figure 22 : Histogramme représente le pourcentage de réduction des vaisseaux	40

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Ang-1	Angiopoïétine-1
Ang-2	Angiopoïétine-2
BRCA1	Breast cancer 1
CAM	Membrane chorioallantoïdienne
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
c-KIT	Stem-cell Growth Factor Receptor
CDK	Cylin dependent kinase
DLL4	Delta-like ligand 4
EGCG	Epigallocatechine
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Epithelial Growth Factor Receptor
FAC	Fibroblastes associés aux carcinomes
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Fibroblast growth factor
FLT-3	Fms-related tyrosine kinase-3
HIF- α	Hypoxia inducible factor- α
HIF- β	Hypoxia inducible factor- β
HIF-1	Hypoxia inducible factor-1
HIF-2	Hypoxia inducible factor-2
HRE	Élément de réponse à l'hypoxie
HTA	Hypertension artérielle

IFNA2b	Interféron alpha 2b
IL2	Interleukine-2
IL8	Interleukine-8
ITK	Inhibiteur tyrosine kinase
MEC	Matrice extra-cellulaire
NK	Natural killer
ORL	Oto-rhino-laryngologique
PDGF	Platelet-derived growth factor
PDGF-BB	Platelet-derived growth factor-BB
PDGFR	Platelet-derived growth factor receptor
PFKFB3	Phosphofruktokinase-2/fructose-2, 6-bisphosphatase
PHD2	Prolyl-hydroxylase domain 2
PI3-K	Phosphatidylinositol 3-kinase
PTEN	Phosphatase and tensin homologue
pVHL	Von Hippel-Lindau Pvh1
Rb	Retinoblastoma
SMP	Syndrome main-piedSMP
TGF- β	Transforming growth factor- β
TGF- β 1	Transforming growth factor β 1
TIMP-3	Tissue inhibitor of metalloproteinase-3
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
TS	Gènes suppresseurs de tumeur
UV	Ultra-violet
VEGF	Vascular endothelial growth factor

VEGF-C	Vascular endothelial growth factor-C
VEGF-D	Vascular endothelial growth factor-D
VEGF-R	Vascular endothelial growth factor receptor
VEGFR-1	Vascular endothelial growth factor receptor-1
VEGFR-2	Vascular endothelial growth factor receptor-2
VEGFR-3	Vascular endothelial growth factor receptor-3

Introduction

Introduction

Selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), les estimations du nombre des nouveaux cas atteint 18,1 millions et environ 9,6 millions de décès en 2018. Un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeront un cancer au cours de leur vie, et un homme sur huit et une femme sur 11 meurent de cette maladie. A l'échelle mondiale, le nombre total de personnes vivant avec un cancer dans les cinq ans suivant le diagnostic, appelé prévalence à cinq ans, est estimé à 43,8 millions (Organisation Mondiale de la Santé, 2018).

En fait, les tumeurs reçoivent l'oxygène par diffusion passive à partir des capillaires voisins. Pour croître au-delà de 1 à 2 mm³ (petites tumeurs infra-cliniques), une tumeur doit recevoir de l'oxygène et des nutriments, sinon elle reste hypoxique et finalement se nécrose (Folkman 2008)

Folkman, le père fondateur de la thérapie anti-angiogénique tumorale, stipula que la croissance tumorale est un processus angiogénèse-dépendant (Folkman 1990). Ainsi, toute augmentation de la population cellulaire tumorale exige une augmentation préalable de la densité capillaire tumorale (Folkman 2003). De la même façon, l'apparition de métastases nécessite une néovascularisation préalable (Risau 1987; Bielenberg and Zetter 2015), et une angiogénèse faible se traduit par une diminution des métastases (Liotta, Kleinerman et al. 1974).

Depuis plus de trois décennies, on a proposé de cibler l'angiogénèse pour bloquer la croissance tumorale et, bien sûr, sa progression pour donner des métastases (Folkman, 1971 ; Figg et Folkman, 2008). 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, Hillan et al. 2005; Pietrantonio, Orlandi et al. 2015). D'autre part sorafenib (Davoudi, bin Noordin et al. 2014; Ferrari, Politti et al. 2015), sunitinib (Porta, Paglino et al. 2014), pazopanib (McLachlan and Banerjee 2015), l'axitinib (Albiges, Gizzi et al. 2015) bloquent la transduction du signal bien que le VEGF se fixe sur son récepteur spécifique (Paesler, Gehrke et al. 2010; Tugues, Koch et al. 2011; Daimon, Kato et al. 2012).

Pourtant, l'évaluation clinique de cette nouvelle classe thérapeutique ne permet pas de conclure aujourd'hui sur une amélioration globalement majeure du service médical rendu aux patients. L'efficacité est très variable selon les indications et selon les protocoles (Bennis

et al ,2010). L'utilisation à grand échelle de cette catégorie thérapeutique commence à révéler ses limites ainsi que les risques inhérents (Abdel-Rahman and Fouad 2014). Sans oublier le fardeau économique qu'exerce le recours à des médicaments de référence, princeps (Coon, Hoyle et al. 2010).

Par ailleurs, une nouvelle stratégie consiste au reprofilage ou revalorisation de molécules (médicaments) déjà en service. Ainsi, des médicaments en usage pour le traitement d'une telle ou telle pathologie, peuvent trouver une application nouvelle (Mucke 2015; Heckman-Stoddard, Gandini et al. 2016; Ishida, Konishi et al. 2016). A titre d'exemple, Artesunate (ART) un anti-malarial bien connue réputé faiblement toxique, montre une action anticancéreuse sélective et anti-angiogénique contre le carcinome cellulaire du rein (Jeong, Song et al. 2015).

La Dexaméthasone peut être prescrite pour remplacer la cortisone chez les patients qui présentent une carence en cortisone. De plus, peut servir à traiter un grand nombre de troubles dont les maladies respiratoires (telles que l'asthme), les maladies de la peau, les allergies graves, certaines maladies oculaires, la polyarthrite rhumatoïde, les maladies intestinales inflammatoires, certains troubles hématologiques, et certaines formes de cancer. L'inflammation joue un rôle dans toutes ces maladies. La Dexaméthasone agit en diminuant l'inflammation (SAIDAL ,2020).

Au cours de cette étude on propose la réalisation de ce qui suit :

- Une synthèse bibliographique des connaissances actuelles dans le domaine de la biologie des cancers, l'angiogenèse et les traitements anti-angiogéniques.
- Une exploration, in ovo, du potentiel inhibiteur de la néovascularisation d'un médicament anti-inflammatoire corticostéroïde, Dexasone ® 4mg/ml.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Biologie du cancer

1. Définition du cancer

Le cancer est une maladie multifactorielle ; elle résulte d'altérations génétique et épigénétique de la cellule perturbant son bon fonctionnement (Cheeseman, 2016). Le cancer est aussi le résultat d'un processus d'évolution darwinienne au niveau cellulaire, avec mutations aléatoires et sélection des cellules qui se multiplient le plus rapidement dans un environnement donné (Morange, 2014).

De nombreuses altérations génétiques sont nécessaires pour qu'un tissu normal devienne tumoral (Bièche, 2004). Toutes les tumeurs ne sont pas cancéreuses, celles qui restent dans un endroit et n'affectent pas les tissus environnants sont dits bénignes (Belk, 2004).

2. Caractéristiques des cellules cancéreuses

Le phénotype tumoral généralement se caractérise par un ensemble de propriétés : perte du contrôle de la division cellulaire, inhibition de l'apoptose, instabilité génétique favorisant la survenue d'altérations génétiques supplémentaires, apparition d'un phénotype migratoire et invasif des cellules, formation d'une néoangiogenèse. (Sanson & Taillibert 2004), l'échappement au système immunitaire (Faure, 2015) la capacité à susciter la genèse de vaisseaux sanguins (angiogenèse), la capacité à former des métastases (Bouyahya et al, 2018). (Voir figure1)

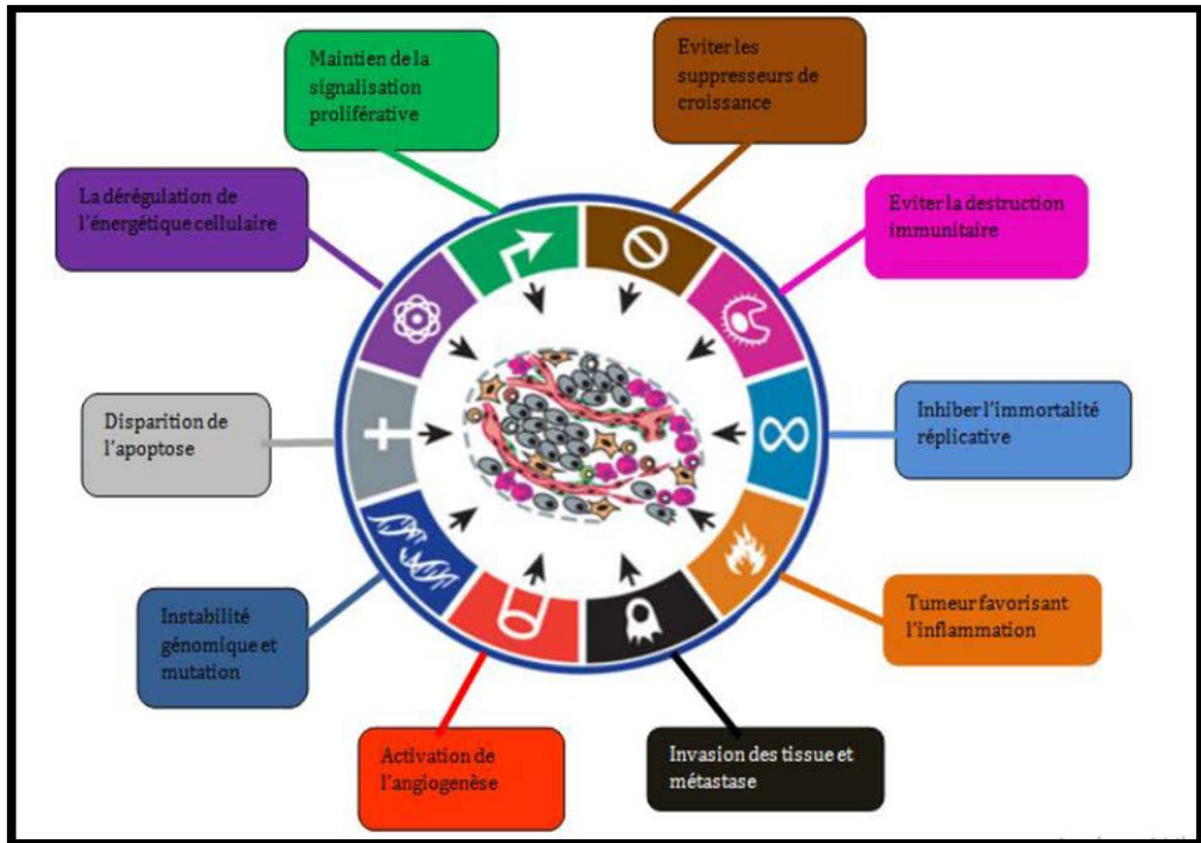


Figure 1 : Les altérations communes à toutes les cellules cancéreuses et l'origine à leur prolifération incontrôlée (Hanahan & Weinberg, 2011).

3. Causes du cancer

Plusieurs facteurs étiologiques sont à l'origine des cancers ils peuvent être répartis en 3 classes :

- Les composés chimiques (Fridman & Sautès-Fridman, 2014). Ces derniers peuvent être d'origine endogène, formés au cours du métabolisme cellulaire ou exogène, apportés dans l'organisme par l'air respiré ou les aliments (Monier & Tubiana, 2008).

- Les agents physiques (rayons ultraviolets solaires, rayonnements ionisants) (Fridman & Sautès-Fridman, 2014).

- Les agents biologiques (virus, bactéries, parasites) (Fridman & Sautès-Fridman, 2014). Tous ces agents sont mutagènes ; c'est-à-dire qu'ils provoquent des mutations, ou changements dans l'acide désoxyribonucléique (ADN) et la structure des chromosomes, qui à leur tour entraînent une division cellulaire incontrôlée (Kahn, 1987).

4. Les étapes du processus de cancérogenèse

La cancérogenèse est un processus complexe se déroulant selon un modèle à plusieurs étapes comprenant l'initiation, la promotion et la progression (Vogelstein et Kinzler, 1993 ; Balmain et Yuspa, 2014).

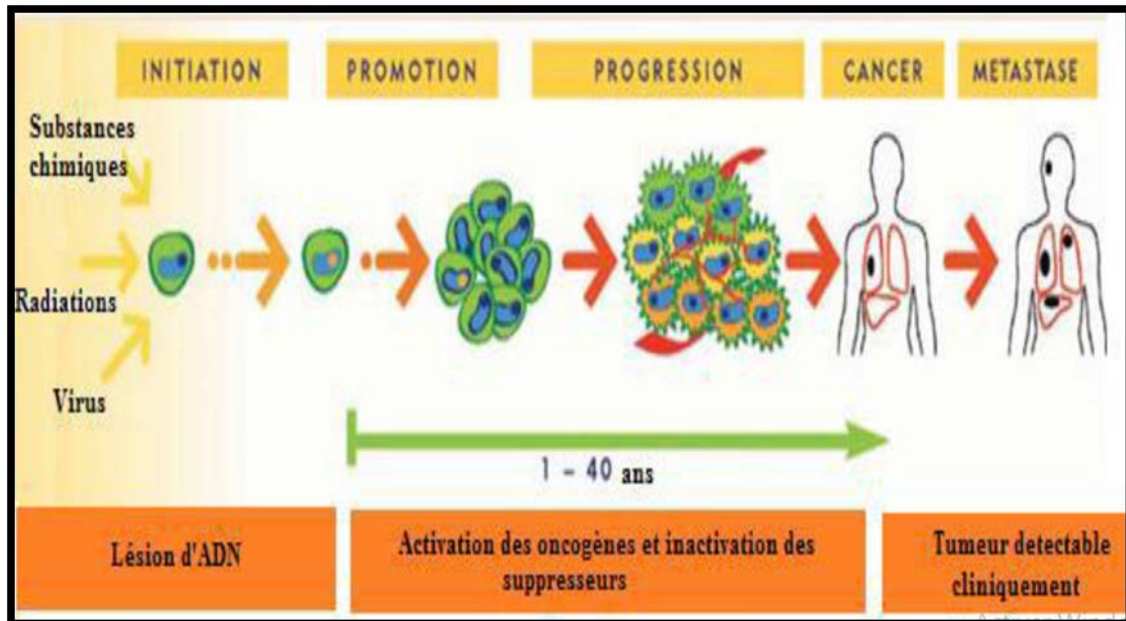


Figure 2 : Différentes étapes du cancer (Béliveau & Gingras, 2007).

4.1. L'initiation

L'initiation est due à l'altération du génome rendant les cellules capables de se diviser en l'absence d'une incitation venue du tissu (Cheeseman et al, 2016). Les altérations de l'ADN peuvent être causées par un génotoxique d'origine endogène (ERO) ou exogène, par exemple les UV solaires (Butterworth, 1990).

4.2. La promotion

Cette étape est caractérisée par l'expression d'un gène altéré et la prolifération des cellules initiées (mendelsohn et al, 2014). Par un nouvel agent, capable, soit de stimuler la prolifération cellulaire, soit de causer une désorganisation tissulaire (Tubiana, 2008). Plusieurs agents dits promoteurs de carcinogenèse sont impliqués dans cette étape ; La nutrition et les habitudes alimentaires, l'alcoolisme, le tabagisme, les infections les traumatismes répétés et l'âge sont les plus importants (King, 1996).

4.3. La progression

Au cours de la progression, les cellules devenues autonomes acquièrent la capacité d'envahir les tissus voisins et de migrer (Struhl, 2007). Une perte de fonction caractérise les cellules cancéreuses qui deviennent alors incapables d'effectuer leurs fonctions normales au sein d'un tissu (Liotta, 1992).

La progression tumorale installe une instabilité génétique qui augmente radicalement le taux des mutations (Monier, 2000). L'instabilité génétique conduit les cellules cancéreuses à l'acquisition de nouvelles propriétés d'indépendance et de nouvelles caractéristiques fonctionnelles (Liotta, 1992).

5. Les gènes impliqués dans la cancérogenèse

Des gènes responsables de modifications conduisant à l'apparition de ces clones et à leur prolifération anarchique ont été identifiés. Le génome des cellules eucaryotes renferme en effet deux familles de gènes, les proto-oncogènes et les gènes suppresseurs de tumeurs, capables de provoquer ou d'accélérer le processus cancéreux lorsque leur structure ou la régulation de leur expression est altérée. Ces gènes se distinguent par leur mécanisme d'action (Bièche, 2004).

5.1. Proto-oncogène

Il existe dans une cellule saine au moins 350 gènes qui, à la suite d'une mutation ou d'une recombinaison avec un rétrovirus, peuvent devenir des oncogènes. On a appelé ceux-ci proto-oncogènes ; ce sont des gènes impliqués dans des fonctions cellulaires liées au cycle cellulaire et à la division cellulaire (facteurs de croissance, récepteurs des facteurs de croissance, transmission du signal des récepteurs membranaires au noyau, signalisation entre les gènes dans le noyau) (Tubiana, 2008).

Par exemple La progression tumorale d'un phénotype agressif vers un gliome malin résulte de l'accumulation de différentes altération, affectant d'une part les voies de transduction de signal activée par des récepteurs à activité tyrosine kinase tels que le R-EGF (cf supra) et le PDGF / PDGFR, et inhibées par PTEN/MMAC1, et d'autre part les protéines nucléaires impliquées directement dans le cycle cellulaire, telles que P53, les kinases cyclines dépendantes (CDK4) , leurs inhibiteurs (p16, p15), et leur cible Rb (Sanson & Taillibert, 2004)

5.2. Anti-oncogènes ou gènes suppresseurs des tumeurs

Les gènes suppresseurs de tumeur (TS) normalement inhibent le cancer en s'opposant à l'action des oncogènes, favorisant la réparation de l'ADN muté, ou le contrôle du développement des tissus (Junien, 1986). Quand les gènes TS sont mutés, ces protections sont perdues. Donc l'inactivation des TS conduit à l'accumulation d'erreurs dans le génome pouvant amener à l'apparition d'une cellule cancéreuse. (Bunz, 2008).

Certains gènes, en particulier le p53, jouent un rôle important dans ces phénomènes. Ce gène peut interrompre la progression de la cellule agressée dans le cycle cellulaire de façon à augmenter le temps disponible pour la réparation de l'ADN. Il joue aussi un rôle important pour déclencher l'apoptose. Le gène p53, localisé sur le chromosome 17p13.1 (Sanson & Taillibert, 2004). Et à ce jour le plus important des gènes suppresseur du cancer puisqu'il est muté dans la moitié des tumeurs humaines ; il code pour une protéine de 53 kDa impliquée à la fois dans le contrôle du cycle cellulaire, la stabilité du génome et l'induction de l'apoptose (Sanson & Taillibert, 2004).

6. Traitement du cancer

6.1. Les traitements conventionnels

6.1.1. La chirurgie

C'est le premier traitement conventionnel utilisé contre les tumeurs localisés ou les tumeurs solides à développement, est un moyen permettant de l'ablation de la tumeur (Pasquet, 2011). La chirurgie est souvent nécessaire pour le diagnostic initial nécessitant une simple biopsie ou une exérèse plus ou moins élargie et complète (Jayr et Muret, 2010).

6.1.2. La radiothérapie

La radiothérapie est une méthode de traitement qui utilise les rayonnements ionisants (Meyer et al, 2007). L'objectif de la radiothérapie est de délivrer une dose de rayonnement ionisant la plus élevée possible dans le volume cible tumoral tout en limitant l'irradiation des tissus sains avoisinants, à l'aide des techniques d'imagerie anatomique (Giammarile, 2007).

6.1.3. La chimiothérapie

Consiste à l'administration d'un traitement chimique qui permet de ralentir la prolifération des cellules tumorales et empêché le développement des métastases (Chabner & Roberts, 2005). Les médicaments de chimiothérapie peuvent produire des effets secondaires

importants, touchant les grandes fonctions et augmentant ainsi les facteurs de risques de complications préopératoires (cœur, poumon, rein, infection, etc.) (Jayr & Muret ,2010).

6.1.4. L'hormonothérapie

Les cancers du sein et de la prostate sont parmi les plus fréquents, les hormones sexuelles qui stimulent la prolifération des cellules de ces tissus jouent un rôle essentiel dans leur genèse et leur évolution (Monier1 &Tubiana, 2008).

Dans la plupart des cas, l'hormonothérapie est prescrite en annexe de l'intervention chirurgicale et/ou de la radiothérapie, durant plusieurs années. Dans d'autres cas, elle est prescrite avant la chirurgie pour diminuer la taille d'une tumeur afin de faciliter l'opération. Si le cancer est métastasé, il est question d'hormono-thérapie palliative : elle est utilisée en association à d'autres traitements afin de stabiliser l'évolution métastatique (Vuillet-A-Ciles et al, 2014).

6.2. Traitements ciblés

6.2.1. Thérapie antiangiogénique

Les traitements antiangiogéniques réduisent la formation des microvaisseaux et augmentent les zones nécrotiques, marqueurs indirects des régions hypoxiques au sein de la tumeur. Ils agissent selon différents mécanismes. Soit par action directe sur la cytokine (VEGF, PDGF, ...) comme c'est le cas de l'avastine® qui est un anticorps monoclonal dirigé contre le VEGF (Ferrara et al, 2005). Soit par blocage du récepteur du message, dans le cas Sunitinib (Cheng et al, 2013).

6.2.2. L'immunothérapie

Le terme «immunothérapie» englobe une grande variété de concepts et de méthodes. Les immunothérapies plus anciennes et non spécifiques comprennent des cytokines immunostimulantes telles que l'interleukine-2 (IL-2) et l'interféron (IFN). Les médicaments d'immunothérapie sont maintenant approuvés pour le traitement de plusieurs types de cancer. La "food and drug administration"(FDA) a récemment approuvé l'anticorps anti-PD-1

pembrolizumab pour le traitement de toutes les tumeurs solides non résecables ou après un traitement antérieur et qui n'ont pas d'autres options de traitement satisfaisantes (Oiseth et Aziz, 2017).

Chapitre 2

Angiogenèse

1. Vasculogenèse

La vasculogenèse recouvre le développement de l'arbre vasculaire dans les étapes précoces de l'embryogenèse à partir d'îlots cellulaires spécifiques pluripotents composés de cellules précurseurs du système endothélial et hématopoïétique (Martin & Ouafik, 2012)

La vasculogenèse processus qui donne naissance à un réseau primitif des structures vasculaires comme par exemple le tube endocardique et les rudiments de l'aorte dorsale, elle est principalement observée à l'évènement du développement embryonnaire (Michael & Pepper, 2000). Elle consiste à la différenciation des précurseurs des cellules endothéliales dérivés du mésoderme et leur association en un réseau vasculaire primitif. (Azzi & Gavard, 2014).

La vascularisation de certains organes (par exemple, les poumons) est également effectuée par vasculogenèse, tandis que d'autres (par exemple, le système nerveux central) sont vascularisés par un processus d'angiogenèse (Michael & Pepper, 2000).

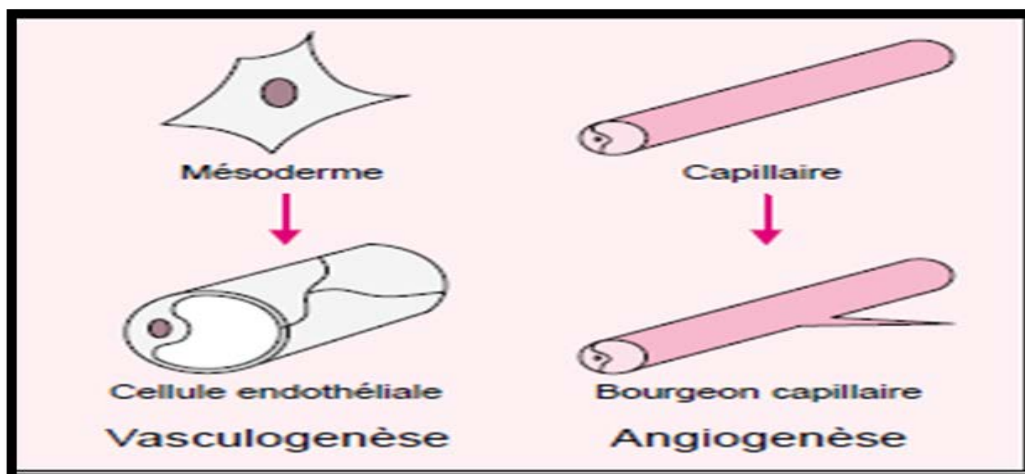


Figure 3 : Vasculogenèse et angiogenèse (Michael & Pepper, 2000).

2. L'angiogenèse

L'angiogenèse physiologique, quant à elle, correspond au développement de nouveaux capillaires sanguins à partir des capillaires préexistants. Ce processus physiologique existe durant l'embryogenèse en complément de la vasculogenèse ou indépendamment selon les tissus (Martin & Ouafik, 2012). Ce processus implique le mouvement et la différenciation de cellules endothéliales et non endothéliales (péricytes, cellules musculaires lisses). (Michael & Pepper, 2000)

L'angiogenèse n'est normalement observée que dans des conditions ou au sein de mécanismes physiologiques strictement régulés comme la réparation tissulaire, le cycle menstruel, la grossesse ou pour répondre à des besoins particuliers en oxygène et en nutriments (Treppe & Gavard, 2015). Ce phénomène résulte d'un équilibre entre facteurs activateurs et inhibiteurs (Azzi & Gavard, 2014).

2.1. Les cellules endothéliales

Aux années 1960-1970 c'est l'apparition des premières cultures de cellules endothéliales pour que les processus d'angiogenèse commencent à être étudiés et que leur implication dans les tumeurs soit proposée (Treppe & Gavard, 2015).

Les cellules endothéliales sont organisées en une fine monocouche reliées entre elles par des jonctions cellulaires spécialisées situées à la face interne des vaisseaux, elles sont en interaction avec les péricytes et une matrice basale différenciée, elle contrôle finement l'infiltration des protéines plasmatiques et les échanges entre le compartiment sanguin et les tissus environnants reposent sur l'ouverture et la fermeture des jonctions cellule-cellule (Azzi & Gavard, 2014).

Les cellules endothéliales sont parmi les plus stables de l'organisme ; leur temps de renouvellement peut excéder 1 000 jours, mais cette durée peut être réduite à seulement cinq jours lors de l'angiogenèse, leur stimulation par différents facteurs angiogéniques, les plus couramment observés étant le bFGF (basic fibroblast growth factor) et le VEGF (vascular endothelial growth factor) (Gingras & Béliveau, 1997).

3. Les étapes de l'angiogenèse

3.1. La sélection

La première étape de l'angiogenèse correspond à l'activation et à la sélection de cellules endothéliales (Treppe & Gavard, 2015). Les signaux pro- et anti-angiogéniques gouvernent le devenir des cellules endothéliales et les répartissent en cellules de front (tip cell) qui bourgeonnent à partir du vaisseau existant, se dirigent vers la source du signal angiogénique et guident le néo-vaisseau ; et en cellules de soutien (stalk cells) qui prolifèrent en arrière, permettant l'allongement du vaisseau. D'un point de vue moléculaire deux voies de signalisation, reposant sur le DLL4 (delta-like ligand 4), un ligand de Notch, et le VEGF (vascular endothelial growth factor) et son récepteur VEGF-R (VEGF receptor), sont

largement impliquées dans le processus de sélection de la cellule de front (Azzi & Gavard, 2014).

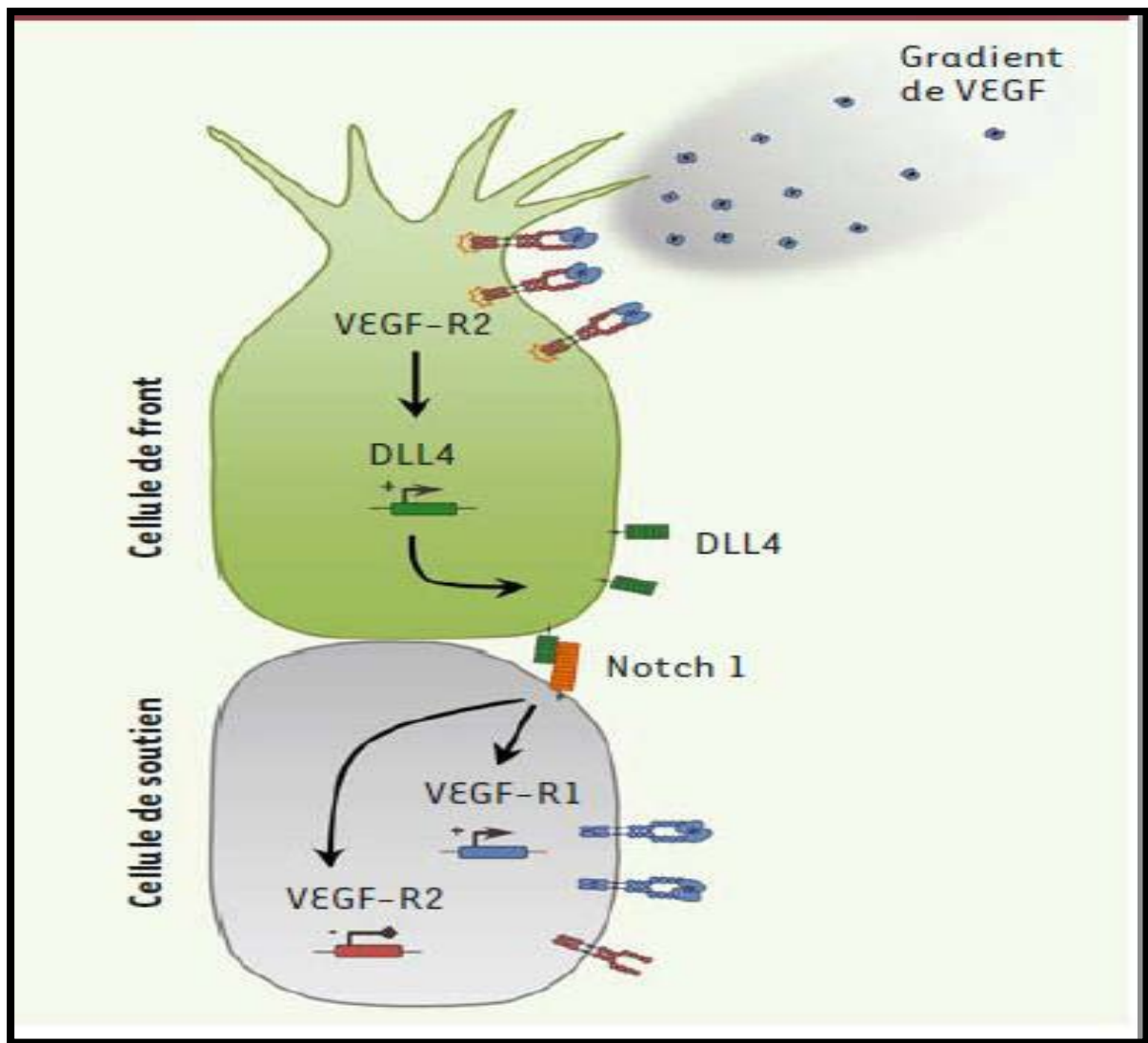


Figure 4 : Mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front (Treppe & Gavard, 2015).

3.2. La migration

À la suite de son activation et de sa sélection, la cellule de front bourgeonne à partir du vaisseau et acquiert de nombreuses protrusions membranaires de type filopodes qui sont hautement dynamiques (Treppe & Gavard, 2015). L'acquisition de cette capacité de migration repose sur un affaiblissement des interactions entre les cellules endothéliales et une dégradation de la matrice extracellulaire. L'adhérence cellulaire permet une migration collective en arrière (Azzi & Gavard, 2014).

3.3. La fusion et la formation de la lumière

Sous l'impulsion de la prolifération des cellules de soutien, le néo-vaisseau s'allonge, guidé par la cellule de front. Ce processus repose sur l'établissement d'un gradient de VEGF-C qui est sécrété par les macrophages présents au niveau des sites de bourgeonnement. Par l'intermédiaire de son récepteur VEGF-R3, le VEGF-C stimule les cibles transcriptionnelles de la voie de signalisation impliquant Notch et diminue la sensibilité des cellules de front au VEGF. Lorsque deux cellules de front entrent en contact au travers de leurs filopodes, les deux bourgeons vasculaires fusionnent par anastomose et forment un vaisseau connecté (Treps & Gavard, 2015) (voir Figure 4).

3.4. 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'angiopoïétine1 (Ang1) et son récepteur Tie2 s'oppose aux actions du VEGF. Elle induit le renforcement des jonctions entre les cellules endothéliales ainsi que leur quiescence. Un gradient de PDGF-BB (platelet-derived growth factor) et de TGF- β 1 (transforming growth factor) induit parallèlement le recrutement des péricytes et des cellules musculaires lisses, ainsi que le dépôt d'une nouvelle matrice extracellulaire à la surface des vaisseaux, assurant ainsi la maturation finale d'un vaisseau sanguin fonctionnel (Treps & Gavard, 2015).

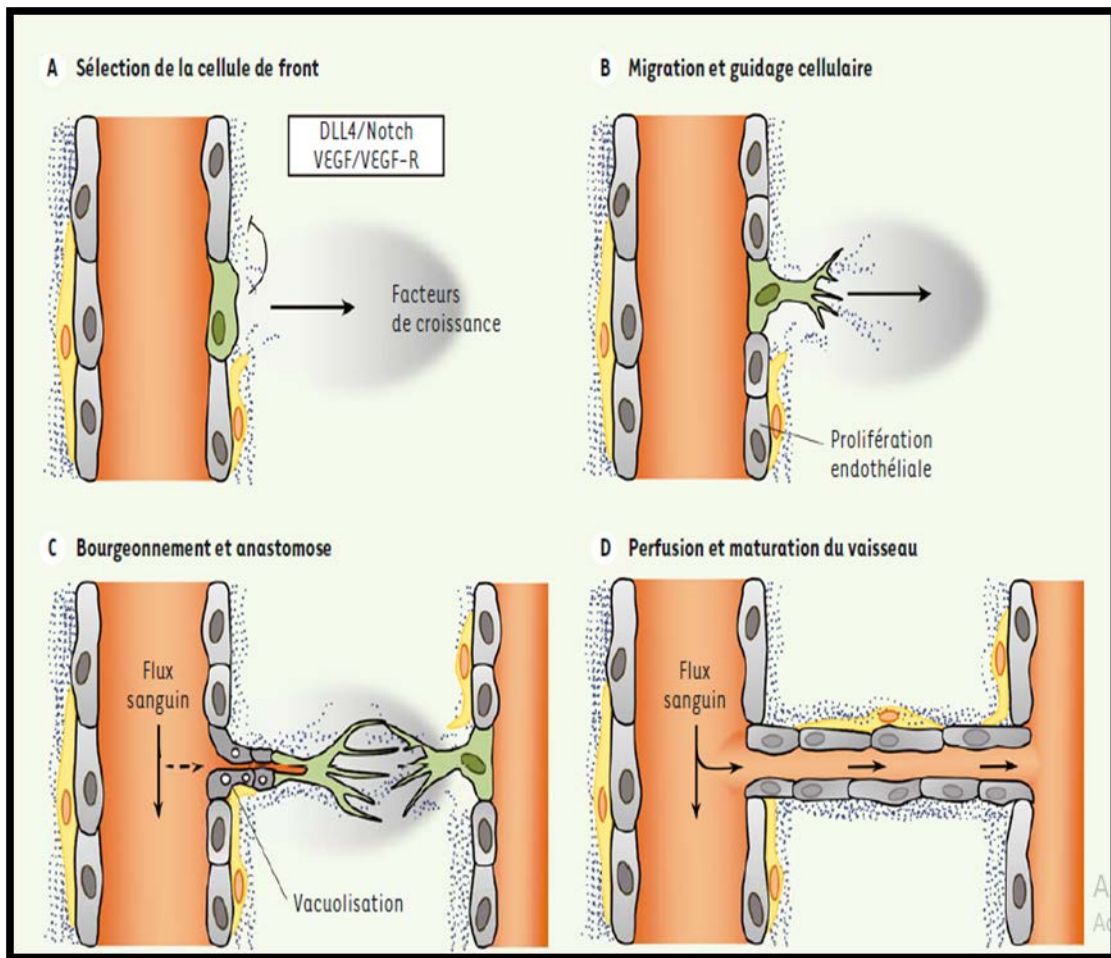


Figure 5: Les étapes de l'angiogenèse normale (Treppe & Gavard, 2015).

4. Médiateurs de l'angiogenèse

4.1. Les activateurs

4.1.1. VEGF (vascular endothelial growth factor)

Les VEGFs constituent une superfamille de cinq molécules (VEGF-A à VEGF-E) homologues et structurellement apparentés au PDGF (platelet derived growth factor) et au PlGF (placental growth factor). Les membres de cette superfamille agissent sous forme d'homodimères et d'hétérodimères (Detrait & Etchevers, 2005).

Le VEGF est fortement exprimé par les tissus en hypoxie, qui recrutent de nouveaux vaisseaux à partir des territoires environnants pour assurer leurs besoins en oxygène et nutriments. Plus la vascularisation des tissus, et donc leur oxygénation, se développe, plus l'expression du VEGF diminue (Suchting et al, 2007).

4.1.2. FGF (fibroblast growth factor)

Le FGF peut également être sécrété de façon anormale au sein de la tumeur, par la cellule transformée, mais également par le stroma tumoral, favorisant le développement tumoral, l'invasion et l'angiogenèse (Flippot et al, 2015). Le bFGF est présent dans les cellules nerveuses, les kératinocytes, les macrophages et les cellules endothéliales; en outre, des chercheurs l'ont détecté dans des tumeurs reliées au cancer du cerveau, du pancréas, de la vessie et de la prostate (Kerbel & Folkman, 2002).

4.1.3. PD-ECGF (Facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes)

L'un des premiers facteurs impliqués dans l'attraction des péricytes vers l'endothélium est le PDGF, apparenté structurellement au VEGF. Il existe 4 gènes, PDGF-A à -D, codant pour des unités s'assemblant en homo- ou hétérodimères. Ces molécules se lient à deux types de récepteurs transmembranaires dimériques : le PDGFR α reconnaissant les isoformes PDGF-AA, -AB, -BB, et -CC, et le PDGFR β reconnaissant les isoformes PDGF-BB et -DD (Detrait & Ethevers, 2005). Le PDGF intervient également lors de la stabilisation et de la maturation des nouveaux capillaires suite à l'association avec des péricytes.

4.1.4. HGF (Facteur de croissance des hépatocytes)

Ce facteur influe non seulement sur la croissance des hépatocytes mais aussi sur celle d'autres types de cellules, notamment les cellules endothéliales. Il existe encore peu de résultats publiés sur la relation entre le HGF et la formation de micro-vaisseaux dans les tissus des tumeurs (Hilberg et al, 2008).

4.2. Les inhibiteurs

Il existe un grand nombre de molécules inhibitrices de l'angiogenèse, naturelles ou de synthèse. Certaines d'entre elles ont déjà été utilisées pour cibler la néo-vascularisation associée aux tumeurs ou à l'inflammation (Szekanecz et al, 2010). Les cytokines angiostatiques inhibent la sécrétion de médiateurs angiogéniques et bloquent ainsi indirectement la néo-vascularisation. Ainsi le TGF- β est un inhibiteur puissant de la mitose des cellules endothéliales, il inhibe aussi la migration de ces cellules, réduit l'expression de VEGFR-2 et stimule la synthèse d'intégrines et de composants de la matrice extracellulaire (Michael et Pepper, 2000).

5. Angiogenèse tumorale

La formation de nouveaux vaisseaux sanguins, par angiogenèse, joue un rôle capital dans la croissance et la progression tumorale. En assurant l'apport en oxygène, en nutriments et en facteurs de croissance aux cellules cancéreuses, le réseau vasculaire tumoral est indispensable au développement de la tumeur (Taylor et al ,2009).

L'angiogenèse tumorale s'organise selon le concept du switch angiogénique. On pourrait la comparer à une balance dont la position varie en fonction du poids des mécanismes pro-angiogéniques et de celui des mécanismes anti-angiogéniques. Ce switch angiogénique peut être en « on » lorsque la balance est en faveur des mécanismes de l'angiogenèse ou en « off » lorsque l'effet des molécules anti-angiogéniques est prédominant sur les molécules pro-angiogéniques. (Méjean & Lebret, 2008).

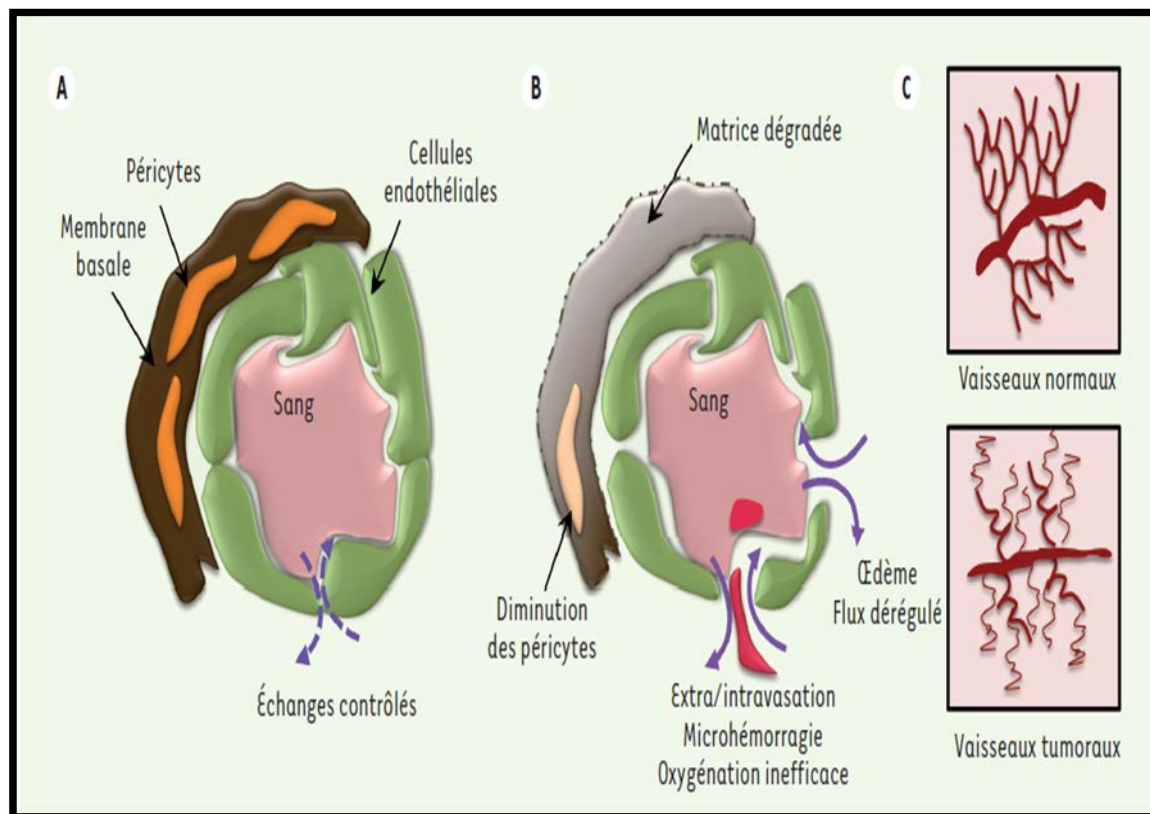


Figure 6 : Comparaison de la vasculature normale et tumorale (Azzi & Gavard, 2014).

5.1. Les mécanismes de l'angiogenèse tumorale

La formation des néo-vaisseaux tumoraux est le résultat de plusieurs mécanismes dont le bourgeonnement de micro-vaisseaux à partir de vaisseaux sanguins (Taylor & al ,2009). Dépend particulièrement des concentrations en VEGF dans le milieu (Treppe & Gavard,

2015). Elle était aussi dépendante du recrutement de progéniteurs endothéliaux issus de la moelle osseuse et capable de se différencier in situ en cellules endothéliales matures afin de compléter l'angiogenèse assurée par l'endothélium préexistant (processus appelé vasculogénèse) (Taylor et al ,2009).

La transdifférenciation, processus par lequel les cellules tumorales à caractère souche acquièrent un phénotype pseudo-endothélial et tapissent la paroi interne des vaisseaux ; enfin l'invagination, qui correspond au mécanisme par lequel les vaisseaux préexistants se divisent en deux pour permettre la formation d'un tissu Trans vasculaire (Azzi & Gavard, 2014).

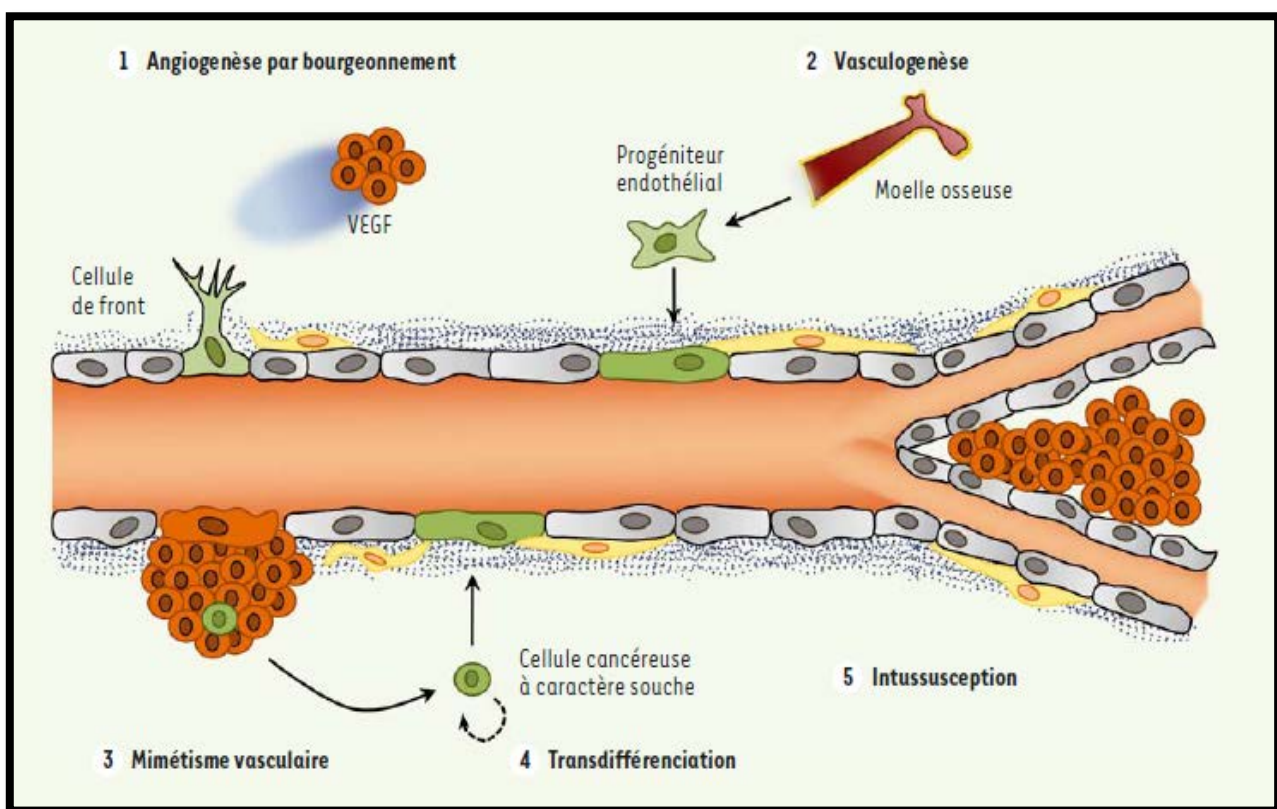


Figure 7 : Les différents modes de formation des vaisseaux tumoraux. (Treps & Gavard, 2015).

5.2. Rôle du "Switch angiogénique" dans la sortie de dormance tumorale

Le terme « dormance tumorale » désigne la persistance de cellules tumorales en petit nombre dans l'organisme, sans croissance tumorale. Le développement des tumeurs en dormance est déclenché par l'altération de l'immunité adaptative de l'animal ; ainsi que la capacité de la tumeur à établir un réseau vasculaire anormale connecté avec son

environnement « switch angiogénique » joue un rôle dans la sortie de dormance tumorale (Bensimon, 2012). Le switch se fait alors en faveur de l'angiogenèse dont les conséquences sont la croissance tumorale et la diffusion métastatique (Méjean & Lebreton, 2008).

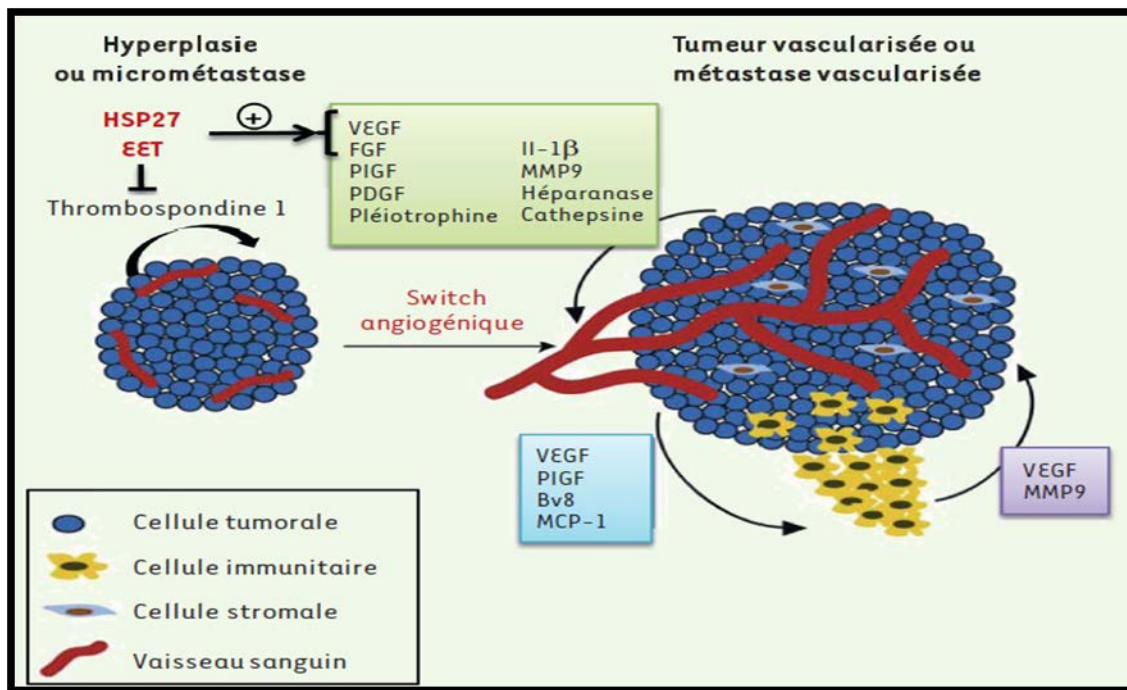


Figure 8: Représentation schématique des médiateurs moléculaires et cellulaires du switch angiogénique (Bensimon, 2012).

5.3. Le microenvironnement tumoral

Les tumeurs, primitives ou métastatiques, sont constituées de cellules malignes, mais également d'un microenvironnement qui leur est propre et constitue le lieu principal d'interactions entre les cellules cancéreuses et l'organisme (Houédé & Irani, 2015). Le microenvironnement tumoral est le lieu de convergence de nombreuses cellules immunitaires qui contribuent à entretenir un état pathologique d'inflammation chronique (Lorion et al, 2016). Ces différents types cellulaires secrètent différents facteurs comme VEGF, FGF, facteur de nécrose tumorale (TNF α), facteur de croissance placentaire (PLGF),... qui jouent un rôle primordial dans le processus angiogénique (Martin et Ouafik, 2007 ; Fridman et Sautès-Fridman, 2014).

Les cellules endothéliales stimulent la prolifération tumorale directement par la production locale de facteurs de croissance, et indirectement lors de l'angiogenèse tumorale qui apporte d'autres facteurs de croissance véhiculés par le sang (Provot, 2014). Elles

sécrètent aussi d'autres facteurs, comme le monoxyde d'azote (NO) qui induit la dilatation des vaisseaux sanguin par relâchement des péricytes (Conway, et al, 2001).

Les cellules immunitaires infiltrées influencent aussi fortement la prolifération des cellules endothéliales pour créer un nouveau vaisseau sanguin en sécrétant une panoplie de facteurs : facteur de croissance de l'épiderme (EGF), TGF β , (TNF α), FGF, interleukines, etc. (Provot, 2014 ; Riabov et al, 2014 ; Marone, et al, 2016).

Une fois le processus de desmoplasie bien engagé, les cellules stromales les plus fréquentes sont des cellules de type fibroblastique appelées CAF (cancer-associated fibroblasts) ou TAF (tumor-associated fibroblasts). Les CAF présentent des caractéristiques différentes des fibroblastes normaux, notamment un profil d'expression génique qui leur est propre. Leur phénotype est dit activé. Ils proviennent de myofibroblastes, de fibroblastes résidents, de cellules souches, de fibroblastes sénescents, de la moelle osseuse (Albregues et al, 2014 ; Buache et Rio, 2014). Les CAF synthétisent et sécrètent abondamment des molécules solubles stimulant l'angiogenèse par des mécanismes paracrines, entre autres figurent les bFGF, VEGF, PDGF, TGF- β ,... (Huang et al, 2014).

Le tissu adipeux est fréquemment retrouvé à proximité des cancers invasifs, en particulier dans le cancer du sein. Parmi les cellules qui le composent, les adipocytes matures, du fait de leur activité sécrétoire, sont hautement susceptibles d'influencer l'agressivité tumorale. En fait, les adipocytes peuvent synthétiser des cytokines, VEGF par exemple, impliquées dans l'angiogenèse (Laurent et al, 2014).

La matrice extracellulaire (MEC) est un réseau complexe de fibres, d'une grande diversité de molécules protéiques, glycoprotéiques, protéoglycanes, et de polysaccharides. Outre le fait qu'ils représentent un substrat facilitant les mouvements cellulaires, ces fibres assurent flexibilité et résistance aux tissus et constituent des canaux de communication intercellulaire (Kalluri, 2003). En dehors de leurs rôles structuraux, la MEC exerce un contrôle rigoureux sur le comportement cellulaire et peut être de ce fait impliquée dans la plupart des processus physiologiques ainsi que dans des conditions pathologiques (Mongiat et al, 2016). La MEC régule l'angiogenèse à différents niveaux et par différentes manières. A travers des interactions d'adhésion avec les intégrines exprimées sur les cellules endothéliales, La MEC orchestre des cascades de signalisation intracellulaires complexes et affecte, de ce fait, plusieurs aspects fondamentaux de leur biologie : la prolifération, la migration, l'organisation du cytosquelette, la morphologie cellulaire, la survie cellulaire,... et par conséquence la

stabilisation des vaisseaux sanguins (Neve et al. 2014). En outre, les molécules de la MEC et ses fragments jouent un rôle primordial dans l'installation de l'angiogenèse (Mongiat et al, 2016) et en fin les cytokines angiogéniques directement fixées (bFGF, EGF) sur la MEC et qui nécessitent une activation protéolytique (Hynes et Naba, 2012).

5.4. Structure et caractéristiques des vaisseaux tumoraux

Une perméabilité constitutive importante, une dilatation, un réseau chaotique et un flux de sang aberrant caractérisent les vaisseaux tumoraux (Treps & Gavard, 2015). Ces derniers sont dilatés, irréguliers, perméables et désorganisés. Ils sont souvent dépourvus de péricytes et de cellules musculaires lisses. La perte de l'intégrité des jonctions cellulaires formées par la VE (vascular endothelial)-cadhérine contribue au dysfonctionnement de la barrière endothéliale et à une perméabilité accrue (Azzi & Gavard, 2014).

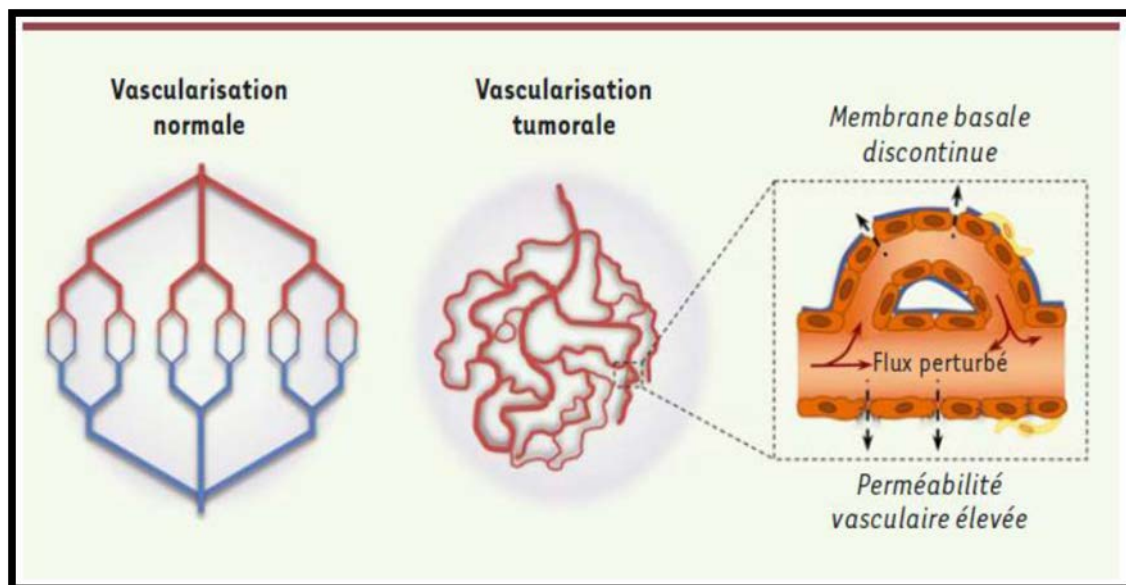


Figure 9 : Aberrations du réseau vasculaire tumoral (Treps & Gavard, 2015).

5.5. Rôle de l'angiogenèse dans la progression tumoral et la métastase

L'angiogenèse tumorale devient vite primordiale pour le développement de la tumeur. En effet l'angiogenèse tumorale participe à l'augmentation de l'afflux en oxygène et en nutriments, dont l'apport par simple diffusion n'est plus suffisant à la croissance de la tumeur (l'oxygène ne peut diffuser passivement que sur de courtes distances, de l'ordre d'une centaine de micromètres (Treps & Gavard, 2015).

La progression tumorale débute par une phase pré-vasculaire, et, à partir d'une certaine taille de la tumeur, on observe une transition vers une phase vasculaire, transition appelée

angiogenic switch. Ce phénomène est néfaste pour l'organisme car il permet la croissance de la tumeur, la dissémination des cellules tumorales et la formation de métastases (Michael S. & Pepper, 2000).

La progression métastatique résulte d'étapes multiples, progressives bien structurées et bien organisées appelées cascade métastatique. Ces étapes sont de mieux en mieux connues comme, par exemple, l'angiogenèse qui est indispensable non seulement à la croissance de la tumeur primaire mais également à la colonisation de l'organe cible (Méjean et Lebret, 2008).

Il existe différentes étapes, maintenant bien répertoriées, dans le processus de la cascade métastatique :

- les étapes dans la tumeur primaire : angiogenèse et prolifération de la tumeur principale, 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, angiogenèse et prolifération (Méjean et Lebret, 2008).

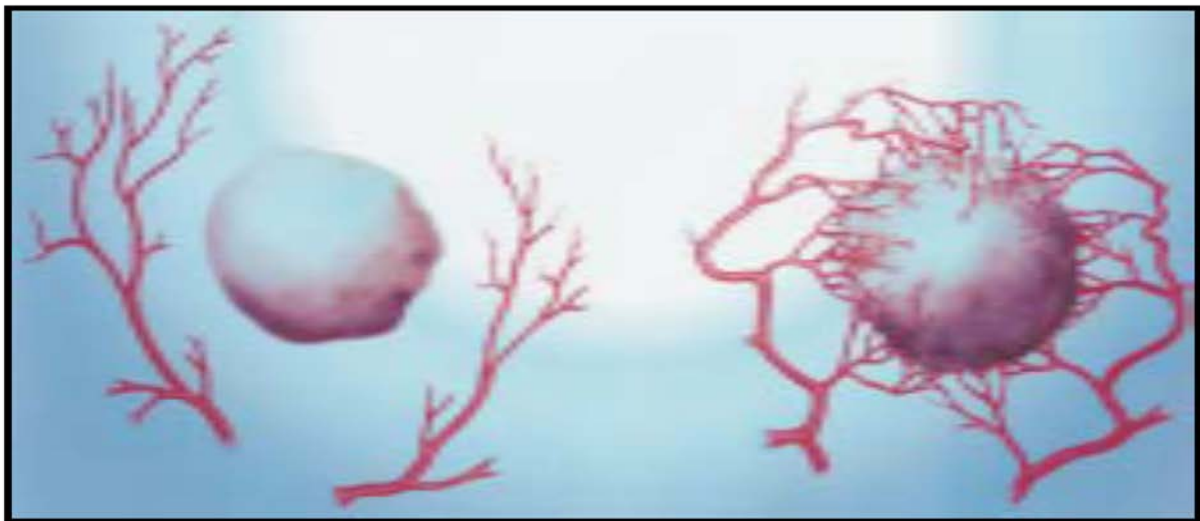


Figure 10 : Les phases prévasculaire et vasculaire de la tumorigenèse (Michael S. & Pepper, 2000).

6. La lymphangiogenèse

La survie et le développement des tumeurs dépendent d'événements et d'échanges biologiques nutritionnels et respiratoires assurés par le sang et la lymphe ainsi que La production des facteurs de croissances par les cellules cancéreuses stimulant la néoformation

des vaisseaux lymphatiques, ces derniers sont considérés comme la voie primaire de dissémination des métastases (Leclers et al. 2005)

Le système lymphatique est formé de vaisseaux qui drainent les liquides interstitiels de l'organisme vers des organes lymphoïdes (ganglions lymphatiques, la rate...) et vers les organes les plus évolués (le thymus, la moelle osseuse...) (Leclers et al, 2005). Les capillaires lymphatiques ont une paroi plus fine et une lumière plus grande que les capillaires sanguins ; ils ne contiennent pas de péricytes et ne comportent pas de membrane basale. Des filaments d'ancrage lient les capillaires lymphatiques à la matrice extracellulaire et assurent leur stabilité anatomique (Gligorov & Lévy, 2014).

La lymphangiogenèse, dont les étapes sont schématiquement similaires à celles de l'angiogenèse (Mandriota et Pepper, 1999). Leurs mécanismes sont tout aussi complexes que ceux impliqués dans l'angiogenèse ; Il est maintenant certain que les tumeurs synthétisent des facteurs de croissance agissant directement ou indirectement sur la croissance des vaisseaux lymphatiques. Ce sont les VEGF-C et VEGF-D qui ont été les facteurs les mieux étudiés. Ils agissent sur la lymphangiogenèse par l'activation du récepteur 3 du VEGF (VEGFR-3). Bloquer VEGF-C ou -D et inhiber VEGFR-3 sont des stratégies thérapeutiques probablement très intéressantes pour lutter contre la lymphangiogenèse (Méjean & Lebret, 2008).

7. Thérapie anti-angiogénique

Grâce à une meilleure identification des facteurs moléculaires mis en jeu, des médicaments ont été mis au point pour cibler spécifiquement l'angiogenèse tumorale afin de limiter la vascularisation anormale de certains cancers et de freiner ainsi l'évolution de la maladie. l'intérêt du traitement antiangiogénique repose sur l'hypothèse que l'inhibition de l'angiogenèse doit empêcher la croissance tumorale tout en étant mieux toléré que les traitements anticancéreux conventionnels. En bloquant le développement des vaisseaux tumoraux, les antiangiogéniques diminueraient la perfusion de la tumeur et activeraient l'apoptose et la nécrose des cellules tumorales (Bennis et al ,2010). Actuellement, il existe un grand nombre de molécules inhibitrices de l'angiogenèse, naturelles ou de synthèse (Szekanecz al, 2010).

armi les plus étulisés en thérapie antiangiogénique ceux qui suivent :

7.1. Bevacizumab

Le bevacizumab (avastin) a été le premier antiangiogénique à montrer une efficacité dans le cancer du sein et le seul à obtenir une autorisation de mise sur le marché de la FDA en 2008 (Molnar-Stanciu et al, 2012). Il est un anticorps monoclonal immunoglobuline G1 (Ig G1) humanisé dirigé spécifiquement contre le VEGF (Ducray & Idhah, 2012). Il est actuellement utilisé en association avec plusieurs types de chimiothérapie (El Mesbahia et al, 2011). Le bévazumab augmentait également le taux de réponses objectives de 10 % (Jary et al, 2014).

7.2. Le sunitinib (SutentR_)

Le sunitinib est efficace en particulier dans le traitement du carcinome rénal à cellules claires métastatiques ou clear cell renal carcinoma (ccRCC) (Gu et al, 2016). Le sunitinib est un inhibiteur des tyrosines kinases de récepteurs variés : VEGF-R1 et 2 impliqués dans l'angiogenèse, récepteurs des facteurs de croissance dérivés des plaquettes (PDGFR). L'inhibition de ces kinases entraîne un blocage de la transduction, et de nombreux processus intracellulaires comme la croissance cellulaire, la progression tumorale, le développement des métastases et l'angiogenèse. (Belmondo et al, 2012).

7.3. Sorafenib

Le sorafenib (Nexavar®) inhibe les kinases Raf et cible ainsi les voies de signalisations dépendant des MAPK (mitogen activated protein kinase) et la voie Raf/MEK (MAPK/ERK kinase)/ERK (extracellular signal-regulated kinase). Il interagit également avec les récepteurs VEGF-R2 et R3, PDGFR-B, et c-kit. Il est efficace dans les traitements du mélanome, des cancers du rein de type ccRCC et dans les hépato carcinomes non opérables, ainsi que dans les cancers différenciés de la thyroïde (Gu et al, 2016).

8. Efficacité clinique des antiangiogéniques

En cancérologie, l'efficacité clinique d'un traitement est évaluée habituellement par sa capacité à améliorer la survie globale (SG) des malades lors d'études comparatives à grandes échelles (essais cliniques de phase III) (Bennis et al, 2010).

9. Résistance aux traitements anti-angiogéniques

Les agents antiangiogéniques étaient considérée comme une stratégie prometteuse qui permet de bloquer la croissance tumorale et d'améliorer la biodisponibilité des médicaments

jusqu'à la tumeur, l'utilisation en clinique de la plupart de ces agents s'avère limitée du fait du développement de la résistance à certains de ces antiangiogéniques et de leur importante toxicité. L'approche reste toutefois valable puisque cet outil thérapeutique a permis d'allonger la survie des patients sans progression pour ceux atteints de cancers coliques, mammaires, rénaux, pulmonaires hépatiques. L'identification de marqueurs biologiques de réponse à cette famille de médicaments représente donc un domaine important (Gu et al, 2016).

10. Les avantages de la thérapie antiangiogénique

Les traitements antiangiogéniques sont mieux tolérés que les traitements anticancéreux conventionnels grâce à leur objectif qui bloque le développement des vaisseaux tumoraux et donc l'arrêt de la croissance tumorale ; les antiangiogéniques activeraient l'apoptose, abaisseraient la pression interstitielle et de réguler le flux sanguin au sein de la tumeur, Ceci devrait conduire à une diminution de la masse tumorale (Bennis et al, 2010).

11. Les inconvénients de la thérapie antiangiogénique

Les principaux effets indésirables sont ici résumés.

11.1. Atteintes cardio-vasculaires

Tout patient traité par ces médicaments doit bénéficier d'une évaluation cardiaque, avant, pendant et après le traitement à la recherche d'une augmentation de la pression artérielle, L'effet hypertenseur des antiangiogéniques est expliqué par une vasoconstriction et une augmentation des résistances périphériques liées à l'inhibition de la production de monoxyde d'azote par les vaisseaux mais aussi à une diminution du nombre et de la densité capillaire au niveau des tissus (El Mesbahi et al., 2011).

L'hypertension artérielle 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 (RR = 3 jusqu'à 7,5 mg/kg et RR = 7,5 de 10 à 15 mg/kg). 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).

11.2. Atteintes rénales

L'apparition d'une protéinurie est une toxicité commune des antiangiogéniques, là encore quelle que soit leur classe. Néanmoins, une protéinurie non sévère est présente chez jusqu'à 60 % des malades sous bévacizumab, avec un effet dose-dépendant (Brosseau et al, 2015).

11.3. Atteintes cutanées

Au cours des essais cliniques, une augmentation de l'incidence des saignements post-opératoires ou des complications de cicatrisation des plaies a été observée dans les 60 jours suivant une intervention chirurgicale majeure chez 10 à 20 % des patients traités par bevacizumab au moment de l'intervention chirurgicale. Des modifications de la chevelure ont été également récurrentes. Une décoloration des cheveux après 5 à 6 semaines de traitement a concerné 30 % des patients sous sunitinib (Bennis et al, 2010).

Deuxième partie

Etude expérimentale

Chapitre 3

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Pour déterminer l'effet du corticostéroïde Dexaméthasone sur l'angiogenèse, nous avons opté pour un test, *in ovo*, qui consiste à évaluer la croissance des vaisseaux sanguins dans la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon de poulet, le «Test de CAM ».

La totalité des expérimentations effectuées ont été réalisées au niveau de l'animalerie de l'université A. BOUSSOUF à Mila.

1.1. Collecte des œufs et incubation

Fraîchement fertilisés, 40 œufs de tailles hétérogènes ont été collectés dans une production locale (domestique) à la commune Ahmed Rachedi, wilaya de Mila.

Pour diminuer la contamination à partir de la surface, les œufs ont été désinfectés avec de l'éthanol à 70%, puis séchés dans l'air ambiant (figure 11).



Figure 11 : désinfection des œufs

Ensuite les œufs ont été incubés à 37.5 ° C et 65% d'humidité dans un incubateur d'œufs (WQ01) pendant 72 h. tout en les balancant (retournant) de 60° chaque 2 heures pendant 3 jours (figure 12).



Figure 12 : Incubateur (WQ01).

Au troisième jour, une vérification minutieuse des œufs permet de trier ceux qui sont effectivement fécondés de ceux qui ne le sont pas à l'aide d'une torche appliquée sur le pôle pointu de l'œuf (figure 13)



Figure 13: Vérification de la fécondité des œufs

1.2. Préparation des membranes chorioallantoïdienne

Au 3^{ème} jour d'incubation, et suivant le protocole (Ribatti et al, 2013), 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 2-3ml d'albumen ont été prélevés délicatement pour ne pas toucher le jaune (voir la figure 14).



Figure 14 : Prélèvement de l'Albumen

Le prélèvement provoque la formation d'un sac d'air artificiel qui provoque le décrochage de la CAM de la coquille de l'œuf. Une fenêtre d'environ 2cm de diamètre a été ensuite découpée dans la coquille et recouverte 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.



Figure 15: Révélation de la membrane chorioallantoïdienne.

1.3. 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 150 affichant une date de fabrication de 11/2018 et de péremption de 11/2020.



Figure 16 :La dexaméthasone

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.

1.4. Déroulement du test CAM

Au 8ème jour d'incubation, les fenêtres ont été réouvertes, puis des disques en papier filtre stérilisés ont été déposés directement sur la CAM. Ces disques ont été-préalablement-imbibés soit dans les solutions Dexasone (Dx) soit dans la solution saline 9%.

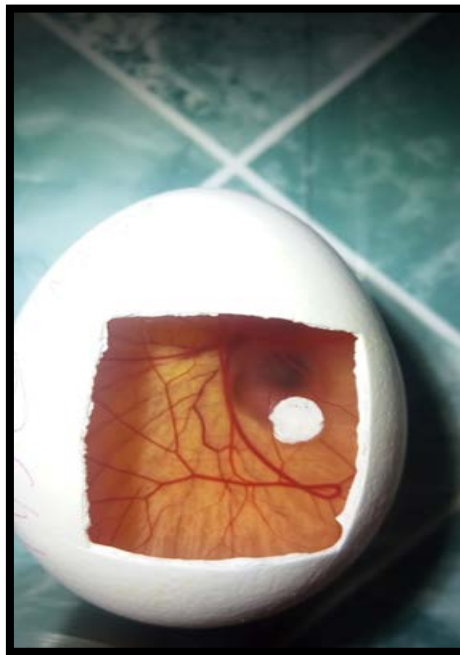


Figure 17 : déroulement du test CAM

Ainsi, les œufs précédemment préparés ont été répartis en 3 groupes ayant chacun 12 œufs ou plus. Le premier consiste en le groupe témoin, sur lequel ont été testés les disques imbibés dans l'eau physiologique. Le groupe Dx pour les embryons testés par la Dexaméthasone à une dose de 2µg /10ml et le troisième représente le témoin positif traité par l'hydrocortisone à une dose de 60 µg.

Les fenêtres ont été refermées avec du ruban adhésif transparent et les œufs ont été réincubés. Au 12ème jour, une grande ouverture a été réalisée sur la coquille des œufs. Des images ont été prises pour un traitement informatisé ultérieure. 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 aux alentours de la pastille. Après, on a calculé le taux de réduction (diminution) de la vascularisation pour chaque groupe, suivant la formule :

$$TRv(\%) = (Vc - Vt) / Vc \times 100.$$

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.

Analyse statistique :

Toutes les données de cette étude sont exprimées en moyenne ± 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 GraphPad prism7. On note que pour P valeurs inférieures à 0.05, ont été considérées comme significatives.

Chapitre 4

Résultats et discussion

1. Evaluation qualitative

Le suivi quotidien, 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 (Figure18).

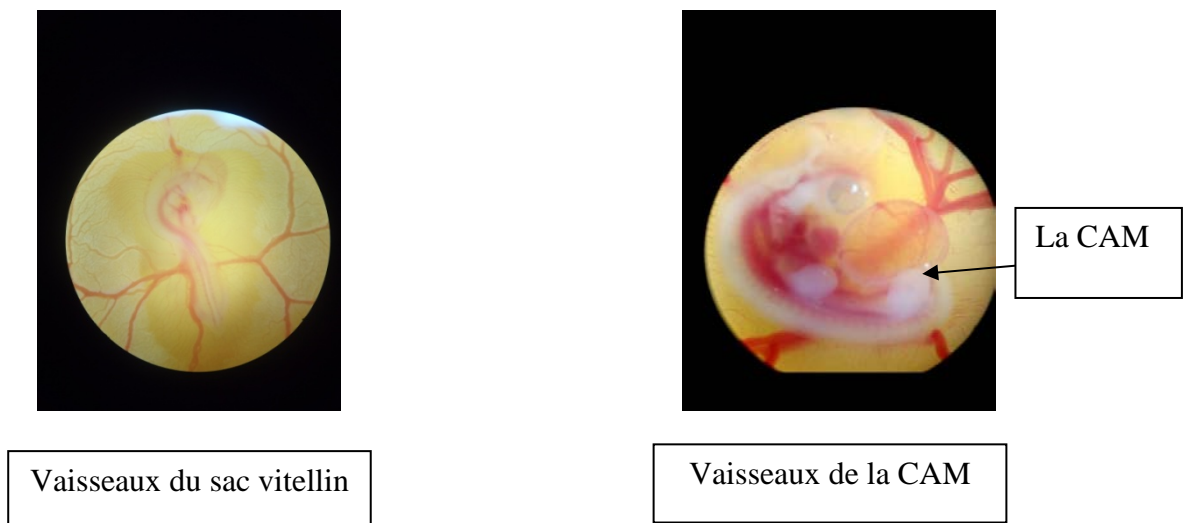


Figure 18 : Observation des vaisseaux du sac vitellin et vaisseaux de la CAM

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 19). Au 14^{ème} jour, la CAM enveloppe la totalité de l'embryon et ses annexes (amnios, vésicule vitelline).

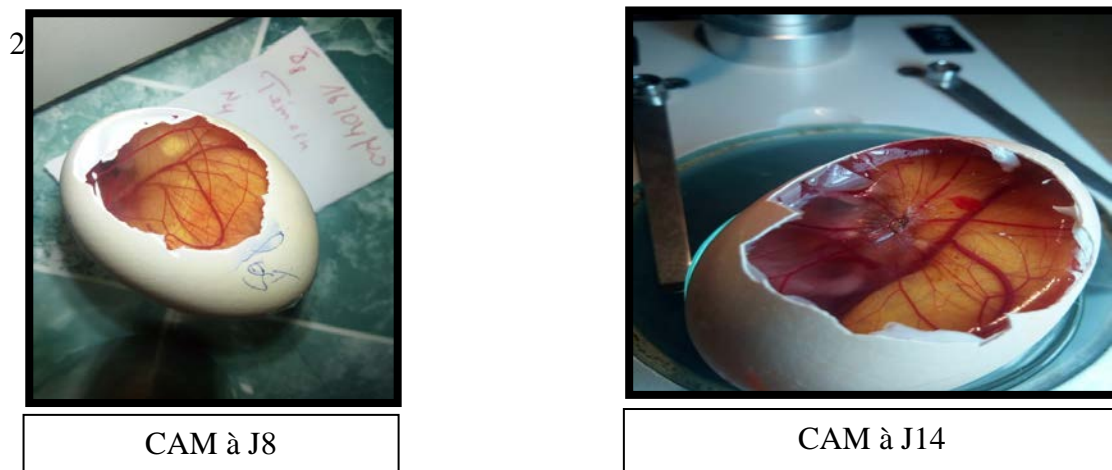


Figure 19 : Observation du CAM au 8 ème et 14 ème jour

3- La vascularisation de la CAM, se projetant 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 (Figure 20).



Figure 20 : 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 :



Vascularisation normale de la CAM



Résorption des vaisseaux sanguins

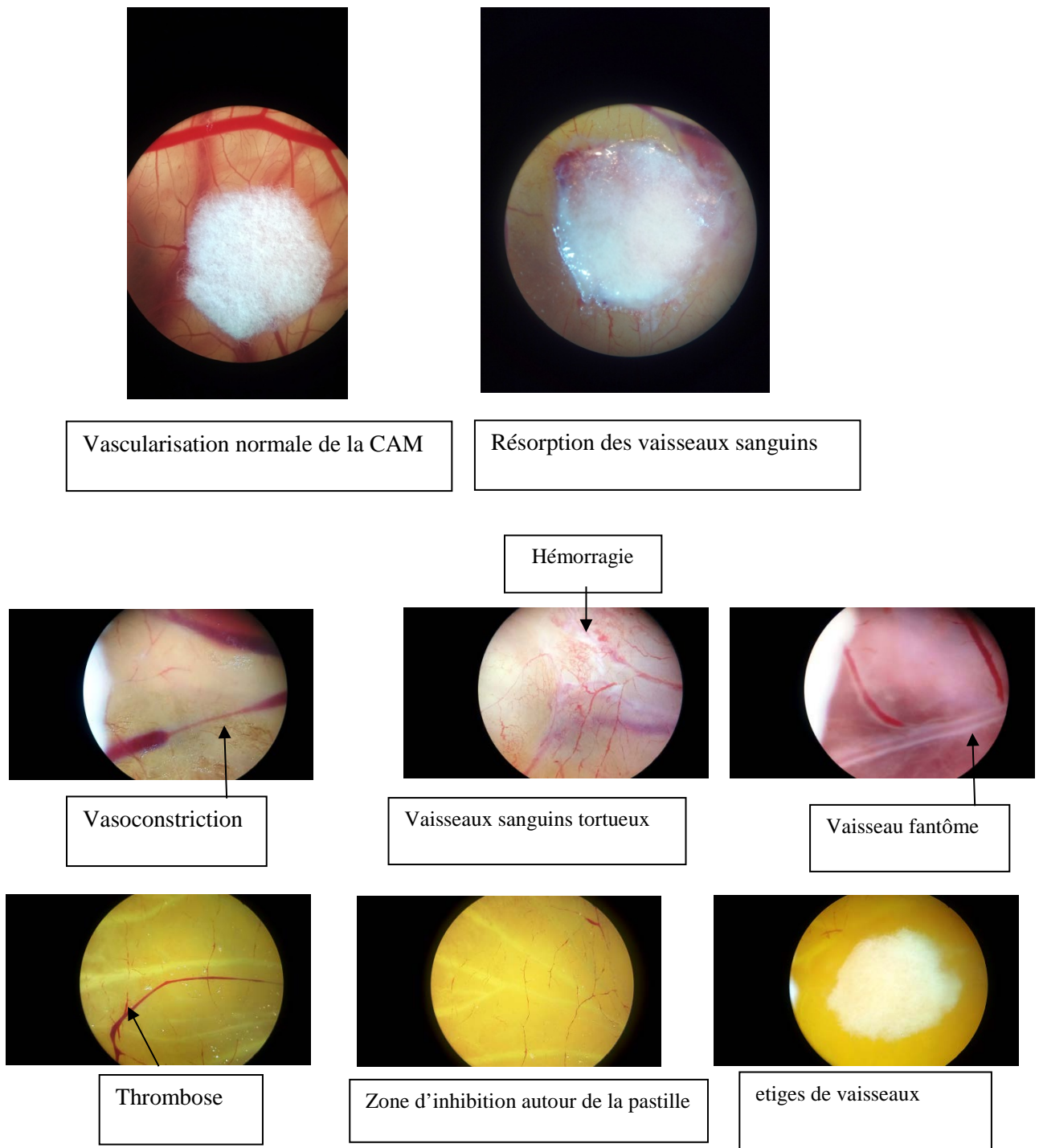


Figure 21 : Les différents niveaux d'action du traitement sur la CAM

5- l'observation nous mènent à croire que la Dexaméthasone est toxique sur l'embryon, en fait tous les embryons meurent suite au traitement.

2. Evaluation quantitative

* significatif

** moins significatif

**** plus significatif

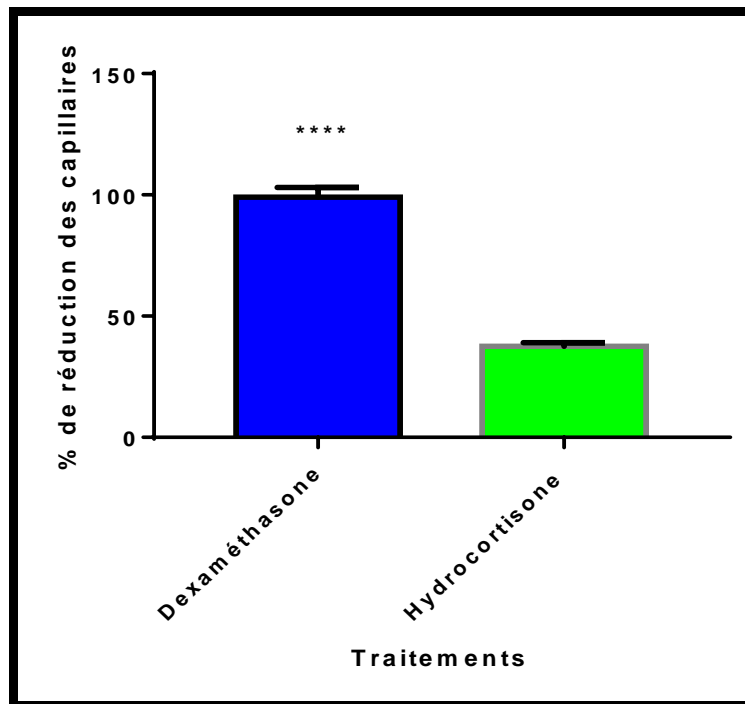


Figure 22 : le pourcentage de réduction des vaisseaux

D'après les données présentées sur l'histogramme, il ressort que la Dexaméthasone, administrée à une dose de $2\mu\text{g}/10\text{ml}$, 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 ($p < 0.0001$) comparée au médicament, l'hydrocortisone, un anti-inflammatoire stéroïdien standard qui représente le témoin positive. Ce dernier diminue de 37,5% la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon du poulet. En effet, il est possible de constater que la différence de l'activité entre les deux médicaments est de l'ordre de 61,5% et que l'effet de la Dexaméthasone est 2,6 fois l'effet de l'hydrocortisone.

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 (NCI04, 2020).

Cette étude préliminaire vise, principalement, l'évaluation du potentiel antiangiogénique d'un médicament anti-inflammatoire, la Dexaméthasone (Dexasone® 4mg/ml). Elle s'inscrit dans la logique de la réorientation des médicaments actuellement en utilisation clinique, ou reprofilage.

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 vue la simplicité, le coût modeste et la reproductibilité des résultats (Ribatti et *al.*, 2001).

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 repression 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 (fang et al, 2016).

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 (Knighton et *al.*, 1977).

Conclusion

Conclusion

Afin d'explorer l'effet anti-angiogénique de la Dexaméthasone à la dose de 2 µg, vis-à-vis la néovascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon du poulet, nous avons opté pour un test *in ovo*.

La Dexaméthasone réduit de 99% la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon du poulet. De cette étude, il apparaît que la Dexaméthasone semble douée de propriétés antiangiogénique. A cet égard, il est possible de considérer la Dexaméthasone comme candidat pour une utilisation dans la pharmacothérapie antiangiogénique anticancéreuse.

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

- Revérifier les données recueillies sur des échantillons plus larges.
- Recourir à des modèles expérimentaux plus performants, cultures cellulaires, modèle murin,...
- Elargir la liste des médicaments à tester et vérifier d'éventuelles synergies.

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.
- 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., & Gaggioli, C. (2014). L'invasion des cellules tumorales- Quand les fibroblastes s'en mêlent. *médecine/sciences*, 30(4), 391-397.
- Azzi S., et Gavard J. (2014). Vaisseaux sanguins et tumeurs ou l'art du dialogue. *médecine/sciences*, 30 (4) : 408-414.

B

- Béliveau, R., Gingras, D., 2007. Role of nutrition in preventing cancer. *Canadian Family Physician* 53, 1905-1911
- Belk, C. M., & Borden, V. (2004). *Biology: Science for life*. Pearson Prentice Hall.
- Belmondo, L., Montana, M., Curti, C., Crozet, M., Rathelot, P., Penot-Ragon, C., & Vanelle, P. (2012). Perspectives des thérapies ciblées dans le cancer du sein métastatique. *Thérapie*, 67(6), 491-503
- Bennis, Y., Guillet, B., Curti, C., & Pisano, P. (2010). Intérêts thérapeutiques des médicaments antiangiogéniques disponibles en cancérologie. *Thérapie*, 65(2), 95-105.
- Bensimon, J. (2012). Le switch angiogénique ou comment réveiller les cellules tumorales dormantes. *médecine/sciences*, 28(12), 1069-1071.
- Biéche I. (2004). Molecular and cancer, *Immuno-analyse and biologie spécialisée* (19):13-22.
- Bielenberg, D. R. and B. R. Zetter (2015). The Contribution of Angiogenesis to the Process of Metastasis. *Cancer Journal* 21(4): 267-273.

- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2018). Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*, 16(5), 254-267.
- Brosseau, S., Naltet, C., Gounant, V., & Zalcman, G. (2015). Antiangiogéniques en oncologie thoracique: critères de prescription et gestion des effets indésirables. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 7(4), 414-422
- Buache, É., & Rio, M. C. (2014). Le stroma tumoral-Un terreau fertile pour la cellule cancéreuse. *médecine/sciences*, 30(4), 385-390.
- Bunz, F. (2008). *Principles of cancer genetics* (Vol. 1). New York, NY, USA: Springer.
- Butterworth B. E. (1990). Consideration of both genotoxic and nongenotoxic mechanisms in predicting carcinogenic potential. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 239(2): 117-132.

C

- Chabner, B.A., Roberts, T.G.Jr., 2005. Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews of Cancer* 5, 65-72.
- Cheeseman K., Certad G., Jonathan B., Weitzman. (2016). Parasites et cancer : existe-t-il un lien ? *médecine/sciences*, (32) :867-73. Neuro-oncogenesis: an update *EMC-Neurologie*, (1) : 75–89.
- Cheng, A. L., Kang, Y. K., Lin, D. Y., Park, J. W., Kudo, M., Qin, S. ... & Omata, M. (2013). Sunitinib versus sorafenib in advanced hepatocellular cancer: results of a randomized phase III trial. *Journal of clinical oncology*, 31(32), 4067-4075.
- Conway E. M., Collen D. (2001). Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovascular research*, 49 (3): 507-521.
- 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-+.

D

- Daimon, M., T. Kato, et al. (2012). Thyroid Dysfunction in Patients Treated with Tyrosine Kinase Inhibitors, Sunitinib, Sorafenib and Axitinib, for Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Japanese Journal of Clinical Oncology* 42(8): 742-747.
- Davoudi, E. T., M. I. bin Noordin, et al. (2014). Sorafenib in renal cell carcinoma. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 27(1): 203-208.
- Detrait, E., & Etchevers, H. C. (2005). Vascularisation de la tête et du cou au cours du développement. *Journal of neuroradiology*, 32(3), 147-156.

E

- El Mesbahia O., Tournigandb C., Benbrahimc Z. (2011). Toxicité cardiovasculaire des thérapies antiangiogéniques. *La Revue de médecine interne*, (32) : 369–372.

F

- Faure S. (2015). Thérapies ciblées anticancéreuses (1/2). *Actualités pharmaceutiques*, 54 (546) : 57-61.
- 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.
- Ferrara, N., K. J. Hillan, et al. (2005). Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 333(2): 328-335.
- Ferrari, S. M., U. Politti, et al. (2015). Sorafenib in the treatment of thyroid cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 15(8): 863-874.
- Figg, W. and J. Folkman (2008). *Angiogenesis: an integrative approach from science to medicine*, Springer Science & Business Media.
- 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.

- Flippot, R., Kone, M., Magné, N., & Vignot, S. (2015). La signalisation FGF/FGFR: Implication dans l'oncogénèse et perspectives thérapeutiques. *Bulletin du Cancer*, 102(6), 516-526.
- Folkman, J. (1971). Tumor Angiogenesis: Therapeutic Implications. *New England Journal of Medicine* 285(21): 1182-1186.
- Folkman, J. (1990). What Is the Evidence That Tumors Are Angiogenesis Dependent? *Journal of the National Cancer Institute* 82(1): 4-7.
- Folkman, J. (2003). Angiogenesis and apoptosis. *Seminars in Cancer Biology* 13(2): 159-167.
- Folkman, J. (2008). History of Angiogenesis. *Angiogenesis: An Integrative Approach From Science to Medicine*. W. D. Figg and J. Folkman. Boston, MA, Springer US: 1-14.
- 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.
- Fridman W. H et Sautès-Fridman C. (2014). Le microenvironnement tumoral-Matrice nourricière, champ de bataille et cible thérapeutique des cancers. *médecine/sciences*, 30(4): 359-365.
- Fridman, W. H., & Sautès-Fridman, C. (2014). Le microenvironnement tumoral-Matrice nourricière, champ de bataille et cible thérapeutique des cancers. *médecine/sciences*, 30(4), 359-365.

G

- Giammarile, F. (2007). TEP et optimisation de la radiothérapie: comment? Quels traceurs? Pour quoi faire? *Médecine nucléaire*, 31(9), 516-520.
- Gingras, D., & Béliveau, R. (1997). L'angiogénèse tumorale: une nouvelle cible thérapeutique anticancéreuse.
- Gligorov, J., & Lévy, B. (2014). La lymphangiogénèse. Bases physiologiques et approches physiopathologiques. *e-VEGF-IMMUNO-actu*, 9(1), 5-8.

- Gu, Y., Lu, H., Boisson-Vidal, C., Li, H., Bousquet, G., Janin, A., & Di Benedetto, M. (2016). La résistance aux traitements antiangiogéniques-Une actualité clinique et scientifique. *médecine/sciences*, 32(4), 370-377.

H

- Hanahan D., et Robert A (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5): 646-674.
- Heckman-Stoddard, B. M., S. Gandini, et al. (2016). Repurposing old drugs to chemoprevention: the case of metformin. *Seminars in Oncology* 43(1): 123-133.
- Hilberg F., Roth J., Krssak M., Kautschitsch S., Sommergruber W., Tontsch-Grunt U., Garin-Chesa P., Bader G., Zoephel A., Quant J., Heckel A., Rettig J., (2008). BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res*, (68): 4774-4782.
- https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C422
- Huang, F. Y., Li, L., Liu, Q., Li, Y. N., Bai, R. Z., Huang, Y. H., ... & Lin, Y. Y. (2014). Bacterial surface display of endoglin by antigen 43 induces antitumor effectiveness via bypassing immunotolerance and inhibition of angiogenesis. *International journal of cancer*, 134(8), 1981-1990
- Hynes O., et A. Naba (2012). Overview of the matrisome--an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(1): a004903

I

- Ishida, J., M. Konishi, et al. (2016). Repurposing of approved cardiovascular drugs. *Journal of Translational Medicine* 14.

J

- Jayr, C., & Muret, J. (2010). Mécanismes de l'oncogénèse et principe des traitements anticancéreux: implication pour l'anesthésiste. *Le Praticien en anesthésie réanimation*, 14(6), 347-366.

- Jeong, D. E., H. J. Song, 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): 33046-33064.
- Junien, C. (1986). Les antioncogènes.

K

- Kahn, A. (1987). Mutation, régulation, prédisposition et correction... la génétique super-star.
- Kalluri R (2003). Angiogenesis: Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer* 3(6): 422.
- Kerbel R., Folkman J. (2002). Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat Rev Cancer*. 2: 727-739.
- King, R.J.B., *Cancer biology*. Edition Harlow, Essex (England), 1996, 227p.

L

- Laurent, V., Nieto, L., Valet, P., & Muller, C. (2014). Tissu adipeux et cancer-Une association à haut risque. *médecine/sciences*, 30(4), 398-404.
- Leclers, D., Durand, K., Dutour, A., Barrière, G., Monteil, J., Rigaud, M., & Sturtz, F. (2005). Vaisseaux lymphatiques et cancer. *M/S: médecine sciences*, 21(10), 839-847.
- Liotta, L. A., J. Kleinerman, et al. (1974). Quantitative Relationships of Intravascular Tumor Cells, Tumor Vessels, and Pulmonary Metastases following Tumor Implantation. *Cancer Research* 34(5): 997.
- Liotta, L.A., 1992. Cancer cell invasion and metastasis. *Scientific American* 266, 54-59.
- Lorion, R., Bladou, F., Spatz, A., van Kempen, L., & Irani, J. (2016). Microenvironnement du cancer de la prostate: structure, fonctions et applications thérapeutiques. *Progrès en Urologie*, 26(8), 464-476.

M

- Mandriota, S. J., & Pepper, M. S. (1998). Regulation of angiopoietin-2 mRNA levels in bovine microvascular endothelial cells by cytokines and hypoxia. *Circulation research*, 83(8), 852-859.
- Marone G., G. Varricchi et al. (2016). Mast cells and basophils in inflammatory and tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *European journal of pharmacology* 778: 146-151.
- Martin P. M., and Ouafik L. H. (2007). Interactions entre les cellules tumorales et le microenvironnement tissulaire : « Quand le dialogue remplace le monologue ». *Cancer du sein avancé: 29es Journées de la Société Française de Sénologie et Pathologie Mammaire (SFSPM) Avignon, 14–16 novembre 2007*. D. Serin and G. de Rauglaudre. Paris, Springer Paris: 97-123.
- Martin, P. M., & L'H, O. (2012). Angiogenèse: retour au fondamental. *Oncologie*, 14(4), 199-215.
- McLachlan, J. and S. Banerjee (2015). Pazopanib in ovarian cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy* 15(9): 995-1005.
- Méjean, A., & Leuret, T. (2008). La cascade métastatique: angiogenèse et nouveaux concepts. *Progrès en urologie*, 18, S156-S166.
- Mendelsohn, J., Howley, P. M., Israel, M. A., Gray, J. W., & Thompson, C. B. (2014). *The Molecular Basis of Cancer E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Meyer, J.L., Verhey, J. Xia P. Wong, J., 2007. New technologies in the radiotherapy clinic. *Frontiers in Radiation Oncology* 40, 1-17.
- Michael S. Pepper. (2000). Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire : de la biologie cellulaire à la clinique. *médecine/sciences* ; 16 : 1378-86
- Mongiat, M., Andreuzzi, E., Tarticchio, G., & Paulitti, A. (2016). Extracellular matrix, a hard player in angiogenesis. *International journal of molecular sciences*, 17(11), 1822.
- Monier R. (2000). Aspects fondamentaux : mécanismes de cancérogenèse et relation dose–effet. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences* 323 : 603–610

- Monier, R., & Tubiana, M. (2008). Cancérogenèse. Accroissement des connaissances et évolution des concepts. *Oncologie*, 10(5), 319-347.
- Morange, M. (2014). Les modèles explicatifs du cancer-Aspects historiques. *médecine/sciences*, 30(6-7), 679-682.
- Mucke, H. A. M. (2015). "Drug Repurposing Patent Applications July-September 2015. *Assay and Drug Development Technologies* 13(10): 661-666.

N

- Neve, A., Cantatore, F. P., Maruotti, N., Corrado, A., & Ribatti, D. (2014). Extracellular matrix modulates angiogenesis in physiological and pathological conditions. *BioMed research international*, 2014.

O

- Oiseth, S. J., & Aziz, M. S. (2017). Cancer immunotherapy: a brief review of the history, possibilities, and challenges ahead. *J Cancer Metastasis Treat*, 3(10), 250-261.

P

- Paesler, J., I. Gehrke, et al. (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.
- Pasquet, V. (2011). Recherche bioguidée de molécules anticancéreuses issues de microalgues marines (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- Pietrantonio, F., A. Orlandi, et al. (2015). Bevacizumab-based neoadjuvant chemotherapy for colorectal cancer liver metastases: Pitfalls and helpful tricks in a review for clinicians. *Critical Reviews in Oncology Hematology* 95(3): 272-281.
- Porta, C., C. Paglino, et al. (2014). Sunitinib re-challenge in advanced renal-cell carcinoma. *British Journal of Cancer* 111(6): 1047-1053.
- Provot, S. (2014). Contrôle de la croissance et de la dissémination tumorale par le microenvironnement-Certitudes et hypothèses émergentes. *médecine/sciences*, 30(4), 366-371.

R

- Riabov V., A. Gudima et al. (2014). Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis. *Frontiers in physiology* 5: 75.
- 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. (1987). Endothelium, Angiogenesis and Metastasis. *Onkologie* 10(4): 260-262.

S

- Sanson M., Taillibert, S. (2004). Données générales de neuro-oncogénèse.
- 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.
- Struhl K. (2007). Transcriptional noise and the fidelity of initiation by RNA polymerase II. *Nature Structural and Molecular Biology* 14(2): 103.
- Suchting S., Freitas C et Eichmann A. (2007). L'angiogénèse passé sous contrôle du couple Delta-Notch M/S 4, (23), avril.
- Szekanecz Z., Besenyei T., Paragh G et Koch A. E. (2010). Actualités sur l'angiogénèse synoviale. *Revue du rhumatisme*, 77(1), 14-20.

T

- Taylor, M., Georger, B., Lagodny, J., Farace, F., Vassal, G., & Rössler, J. (2009). Neuroblastome: intérêt des traitements anti-angiogéniques. *Archives de pédiatrie*, 16(5), 457-467.

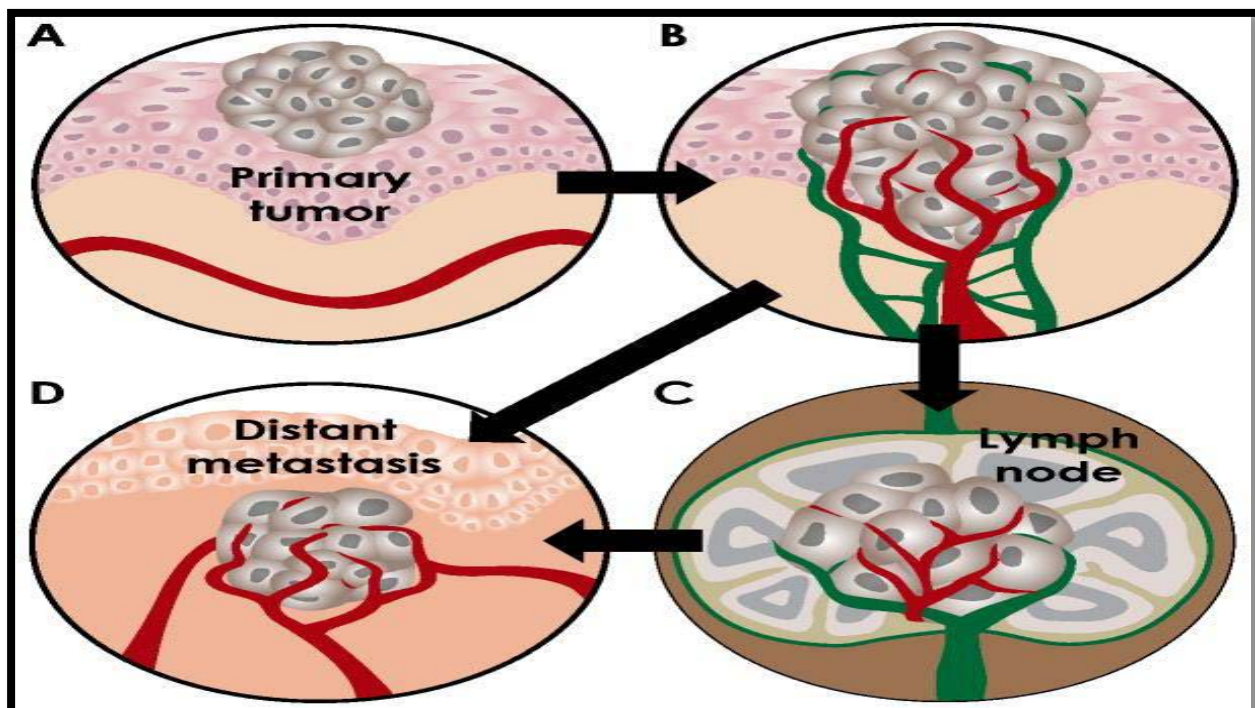
- Treps L. et Gavard J. (2015). L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tourne mal. *médecine/sciences*, 31 (11): 989-995
- Tubiana M. (2008). Généralités sur la cancérogenèse *C. R. Biologies* (331) : 114–125
- Tugues, S., S. Koch, et al. (2011). Vascular endothelial growth factors and receptors: Anti-angiogenic therapy in the treatment of cancer. *Molecular Aspects of Medicine* 32(2): 88-111.

V

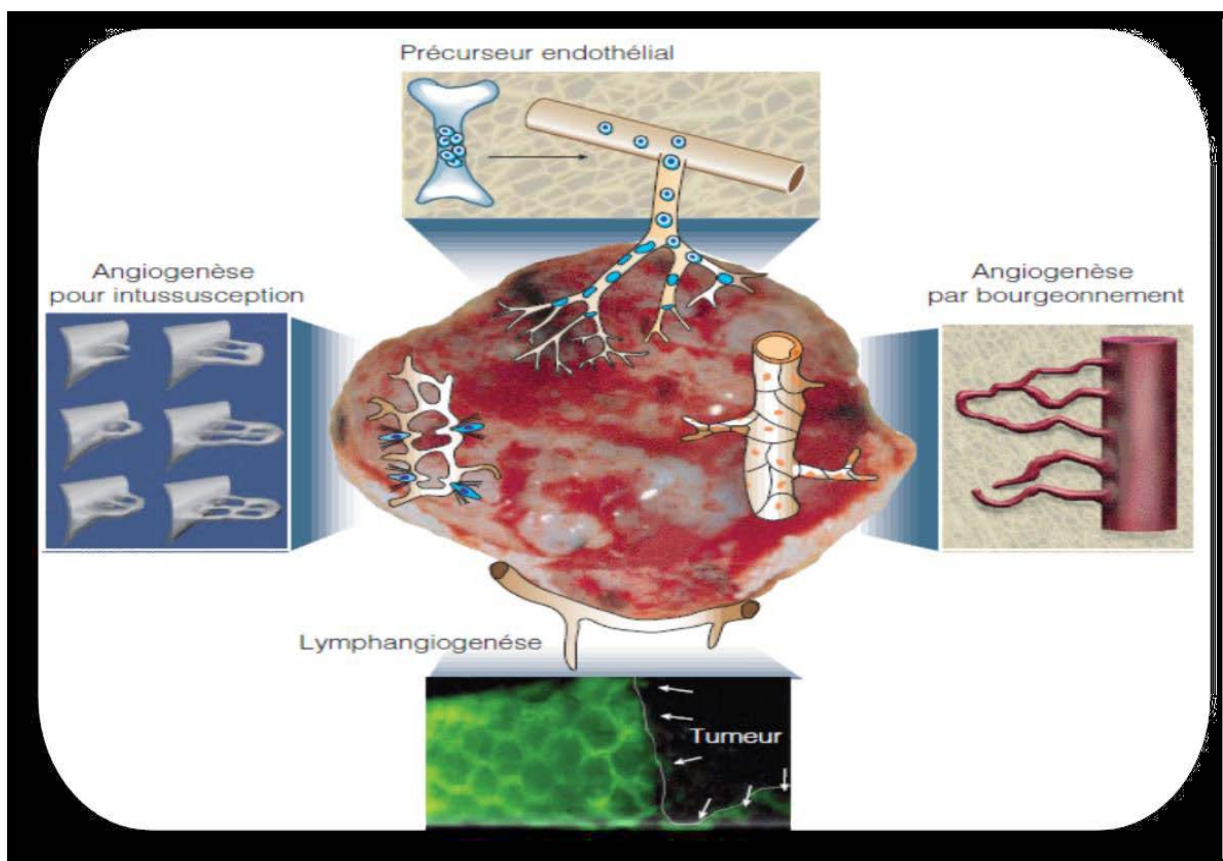
- Vuillet-A-Ciles, H., Lagarde, A., & Buxeraud, J. (2014). L'hormonothérapie anticancéreuse. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(540), 25-29.

Annexes

Annexes 1 : Angiogenèse et métastase (Leclers et al, 2005).



Annexe 02 : Mécanisme de l'angiogenèse tumorale (Méjean et Lebret, 2008).

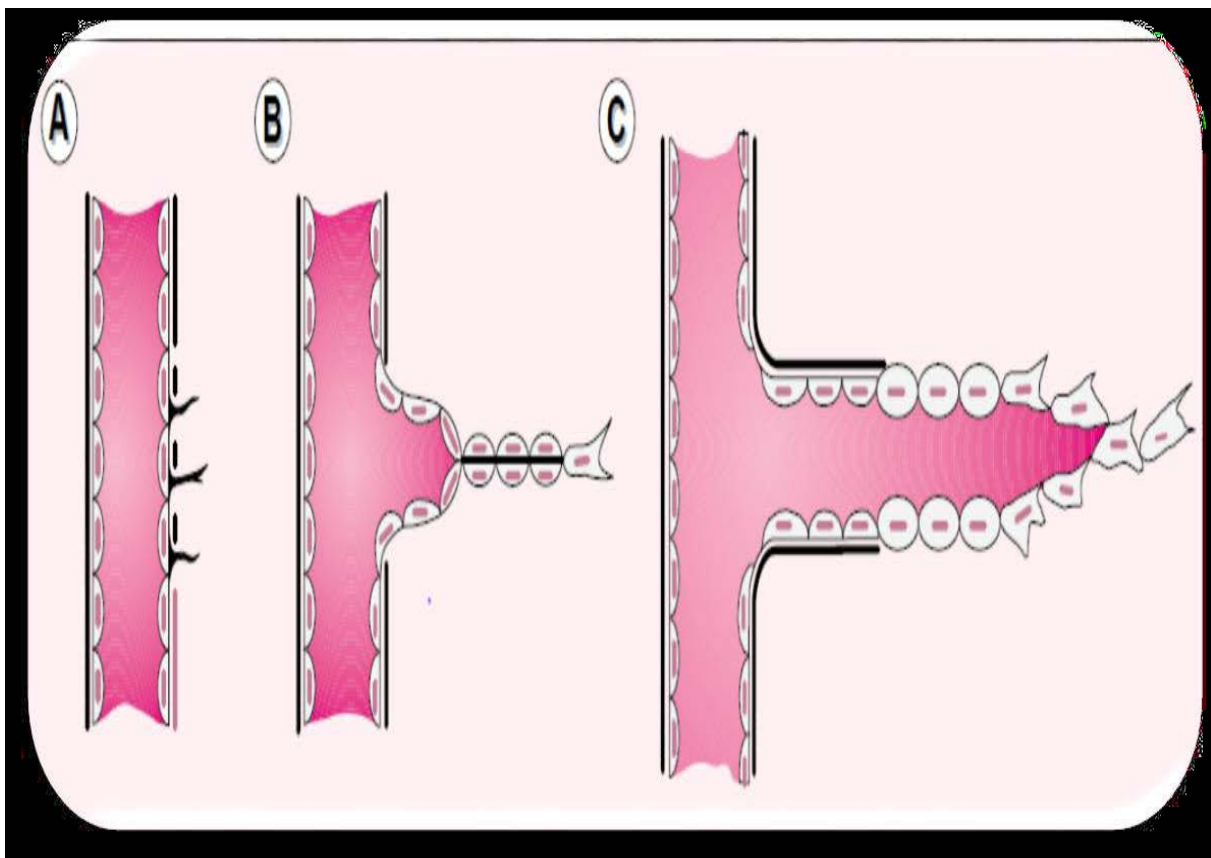


Annexe 03 : Représentation schématique de l'angiogenèse.

A. Activation des cellules endothéliales suite à l'induction d'un régulateur positif (ou à la perte d'un régulateur négatif, ou aux deux). L'activation est suivie par la dégradation de la lame basale et par l'extension de fins processus cytoplasmiques en direction de la source du stimulus.

B. Migration des cellules endothéliales dans la matrice et formation d'un bourgeon capillaire. Prolifération des cellules situées en arrière du front migratoire. Formation d'une lumière dans la région proximale du bourgeon capillaire.

C. Maturation du bourgeon capillaire, impliquant la reconstitution de la lame basale. L'anastomose avec un bourgeon contigu va engendrer un réseau capillaire fonctionnel (Michael S, 2000).



Annexe 04 : Le prélèvement de l'albumine.



Annexe 5 : Préparation et incubation des œufs



Annexe 06 : Œuf après trois jours d'incubation

