



N ° Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

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 irritant des substances chimiques sur les vaisseaux
Sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM)**

Présenté par :

- ACHOURI Ikram.
- ACHOURI Malak.
- BEN ABDE NNOUR Madjida.

Devant le jury composé de :

Présidente	AMIMOUR Mouna	M.C.A	Centre.Univ.A.Boussouf – Mila.
Promoteur	MOUSSAOUI Bilal	M.A.A	Centre.Univ.A.Boussouf – Mila.
Examinatrice	GHOUT Agena	M.C.B	Centre.Univ.A.Boussouf – Mila.

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciement

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

*Avant de remercier la créature, nous remercions tout d'abord le créateur,
ALHAMDOULILLAH pour le courage, la patience, la santé et la volonté qu'il
nous a donnés pour mener à bien ce travail. ainsi que l'audace pour dépasser
toutes les difficultés.*

*Je voudrais tout d'abord adresser toute ma reconnaissance au maître de ce
mémoire, Monsieur **Moussaoui Bilal** .*

*pour son accueil, le temps passé ensemble et le partage de ses connaissances.
Grâce aussi à sa confiance j'ai pu m'accomplir totalement dans mes missions,
et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion. Il
fut d'une aide très précieuse dans les moments les plus délicats.*

*Nos remerciements vont à Les membres du jury : et . D'avoir accepté de juger
notre modeste travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs qui par leurs
conseils et leurs efforts durant tous les années passées nous sommes là.*

*Je désire aussi remercier le cadre administratif de Centre Universitaire
Abdelhafid Boussouf-Mila , qui m'ont fourni les outils nécessaires à la réussite
de mes études universitaires.*

En fin, juste un petit mot pour vous dire*Merci*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chères parents : ma mère **Saida** et mon père **Noureddine**.*

pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leurs encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études. Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, et mon amour.

Mes chers grands-parents Vous nous avez donné tout l'amour qu'un jeune enfant peut attendre de ses grands-parents.

*Ma sœur **Issraa** , à l'unique sœur que j'ai au monde et mes chères frères : **Lotfi**, **Aymen**, **Wassim** et le plus cher à mon coeur **Abderrahmene** pour l'aide que vous m'avez apportée. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Que nos liens fraternels se renforcent et perdurent.*

*Mon neveu **Gaith errahmen** . Tes petites mains, tes sourires, tes yeux brillants sont incomparables. Tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille.*

*Ma tante d'amour **Wassila** et ses enfants **Taki**, **Takoua** et **Ihsene**. Tout d'abord je veut te dire que je t'aime très fort qu'une tante comme toi il n'y en a pas deux que tu es dans mon petit cœur. Je t'aime mon cœur.*

*Sans oublier ma binôme et ma cousine **Ikram** était la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance.*

*A mes amies **Rayen**, **Assma** et **Ahlem** Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.*

MALAK

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 ma source de bonheur « mes chers parents **djamel** et **houria** » 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 Leurs
prières et leurs conseils m'ont toujours accompagné , leur souhaite une longue et
heureuse vie pleine de joie, santé . que Dieu leur prête tout le bonheur*

*A ma deuxième mère, à la bénédiction de la vie et au titre de donner ,la pure trace
qui reste avec le temps. «**Massouda**» Que Dieu vous protège et vous donne santé
et bien-être*

*Mon deuxième père et partisan. mon cher frère « **Alaa elddin** », Dieu vous donne
santé, bonheur et réussite*

*A mes sœurs, « **Alaa** » et «**Sajda** », les lampes de mon chemin, je leur souhaite
bonheur et réussite, je vous aime tellement.*

*A mon ami et compagnon de mes années, et un puits de mes secrets « **Ahlam** » que
Dieu te protège et donne , bonheur et réussite. je t'aime*

*A mon amie et ma soeur, une compagne sur mon chemin et un puits de mes
secrets. «**Malak**» . Les jours nous ont réunis avec leurs bons et leurs mauvais.
Voici une phase de notre vie qui s'est écoulée. Que Dieu bénisse notre amitié . Tu
étais et tu resteras paix à mon âme et mon cœur.*

*Et sans oublier mon petit « **Bobo** »*

Ikram

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*A mes chers parents ma mère **Naima** et mon père **Hacen** qui ont
Été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces
longues années d'études. En signe de reconnaissance, qu'ils trouvent ici,
l'expression de ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont consenti
d'efforts et de moyens pour me voir réussir dans mes études.*

*Il n'y pas de mots qui peuvent décrire les sentiments de gratitude et
d'appréciation que j'ai pour eux. Accorde-leur, au Dieu, santé et
bien-être.*

*A mes chères sœurs : **Samah** et **Soudjoud***

*A mon cher frère : **Hicham***

*Pour tout leur amour, leur soutien, leur encouragement, leur assistance
et leur présence dans ma vie.*

Et je n'oublier pas toutes mes ami (e)s merci pour vous.

Madjida Ben Abde Nnour.

Résumé

Abstract

Background : The burden of cancer is a significant public health issue, and its treatment relies on surgery, radiotherapy, chemotherapy, hormone therapy and targeted therapies. Recently, new therapeutic strategies have emerged that target tumor vascularization using two different approaches. Anti-angiogenic therapy aims to inhibit the formation of new blood vessels from pre-existing ones. On the other hand, vascular disrupting agents (VDAs) work to collapse the established vascular network within tumors.

Aim : This study investigates the anti-vascular effects of crude garlic juice (*Allium sativum* L.) on the blood vessels of the chorioallantoic membrane (CAM) in chicken embryos, both *in ovo* and *ex ovo*.

Methods : On the third and fourth days of incubation (ED3 and ED4), *in ovo* and *ex ovo* cultures were prepared and then reincubated. On the eighth day (ED8), fresh garlic juice and its serial dilutions were prepared and applied to the CAM. Images were captured and the time it took for irritation to occur was recorded.

Findings: The results show hemorrhagic events, coagulations (thromboses), appearance of hyperemia and dose- and time-dependent vasodilation. In addition, we recorded an interruption of blood flow and the appearance of ghost vessels. It seems that the crude garlic juice is not lethal to embryos.

Conclusion: The crude extract of garlic (*Allium sativum*) produces a pronounced irritating effect on CAM blood vessels. This observation suggests that crude garlic juice may be recommended for further testing as a potential anti-cancer therapy targeting tumor vascularization through a VDT approach.

Keywords: vascular disrupting agents (VDAs), Chorioallantoic membrane Assay (CAM Assay), *Allium sativum* L., coagulation (thrombosis), hemorrhage.

Résumé

Contexte : 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, cibler la vascularisation tumorale selon deux approches différentes : La thérapie anti-angiogénique cible la formation (bourgeonnement) de nouveaux vaisseaux sanguins à partir des vaisseaux préexistants. Cependant, les agents de perturbation vasculaire (VDA) visent à faire effondrer l'arbre vasculaire établi dans les tumeurs

Objectif : Cette étude examine les effets anti-vasculaires du jus d'ail brut (*Allium sativum* L.) sur les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïque (CAM) chez les embryons de poulet, à la fois in ovo et ex ovo.

Méthodes : Aux troisième et quatrième jours d'incubation (ED3 et ED4), des cultures in ovo et ex ovo ont été préparées puis réincubées. Le huitième jour (ED8), du jus d'ail frais et ses dilutions en série ont été préparés et appliqués au CAM. Les images ont été capturées et le temps qu'il a fallu pour que l'irritation se produise a été enregistré.

Constatations : Les résultats montrent des événements hémorragiques, des coagulations (thromboses), l'apparition d'une hyperémie et une vasodilatation dose- et temps-dépendante. De plus, nous avons enregistré une interruption du flux sanguin et l'apparition de vaisseaux fantômes. Il semble que le jus d'ail brut ne soit pas mortel pour les embryons.

Conclusion : L'extrait brut d'ail (*Allium sativum*) produit un effet irritant prononcé sur les vaisseaux sanguins CAM. Cette observation suggère que le jus d'ail brut peut être recommandé pour d'autres tests en tant que thérapie anticancéreuse potentielle ciblant la vascularisation tumorale grâce à une approche VDT.

Mots clés : agents de perturbation vasculaire (VDA), test de la membrane chorioallantoïdienne (CAM), *Allium sativum* L., coagulation (thrombose), hémorragie.

الملخص

الخلفية النظرية: يمثل السرطان مشكلة صحية عمومية عويصة, وعلاجه يعتمد على الجراحة والعلاج الإشعاعي والعلاج الكيميائي والعلاج الهرموني والعلاجات المستهدفة. مؤخرًا ، تم تطوير استراتيجيات علاجية جديدة لاستهداف تروية الورم باستخدام نهجين متميزين. يعمل العلاج المضاد لتخليق الأوعية الدموية على تثبيط نمو أوعية جديدة من تلك الموجودة مسبقًا، بينما تهدف النهج آخر إلى تدمير شبكة الأوعية الدموية المنشأة مسبقًا داخل الأورام.

الهدف: يدرس هذا البحث التأثيرات المهيجة المضادة للأوعية الدموية لعصير الثوم الخام (*Allium sativum* L) على أوعية دموية في الغشاء المشيمي السقائي (CAM) عند أجنة الدجاج باستخدام نموذجين تجريبيين: داخل البيضة *in ovo* و خارجها *ex ovo*.

الطرق: تم إعداد مزارع للأجنة *in ovo* و *ex ovo* في اليومين الثالث والرابع من الحضانة (ED3 و ED4) ثم إعدادتها إلى الحاضنة. في اليوم الثامن (ED8) ، تم إعداد عصير الثوم الطازج بالإضافة إلى تحضير تخفيفات متسلسلة ثم تطبيقها مباشرة على سطح الغشاء المشيمي السقائي (CAM). كما تم التقاط الصور وتسجيل الوقت الذي استغرقه حدوث التهيج.

النتائج: أظهرت النتائج وقوع إصابات نزفية وتخرنات وظهور احتقان دموي وتوسع للأوعية الدموية وكل ذلك وفقا للجرعة المطبقة ومدة المراقبة. بالإضافة إلى ذلك ، تم ملاحظة انقطاع التدفق الدموي وظهور شبح أوعية. كما تبين أن عصير الثوم الخام غير قاتل للأجنة.

الخلاصة: ينتج المستخلص الخام للثوم (*Allium sativum*) تأثيرًا مهيجًا ملحوظًا على أوعية دم الغشاء المشيمي السقائي (CAM). تشير هذه النتائج الأولية إلى أن عصير الثوم الخام قد يستحق اختبارات إضافية من أجل ترشيحه كعلاج محتمل للسرطان يستهدف تروية الورم من خلال نهج VDT.

الكلمات المفتاحية: الثوم، اختبار الغشاء المشيمي السقائي (CAM)، استهداف الأوعية الدموية، السرطان.

Sommaire

Résumé

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des Abréviations

Introduction

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I: Biologie du cancer

1. La biologie du cancer.....	5
1.1. Définition du cancer	5
1.2. Caractéristiques des cellules cancéreuses	5
1.3. Causes du cancer	6
1.4. Gènes du cancer et Les gènes suppresseurs de tumeur	7
1.4.1. Génétique du cancer :	7
1.4.1.1. Oncogènes :.....	8
1.4.1.2. Gènes suppresseurs de tumeurs :	8
1.4.1.3. Gènes de réparation de l'ADN :	9
1.4.1.4. Gènes associés à différents types de cancer.....	9
1.4.2. Durée du processus cancérologène :	9
1.5. Processus de cancérologène	11
1.5.1. Initiation	11
1.5.2. Promotion	12
1.5.3. Progression	12
1.6. Traitement du cancer.....	13
1.6.1. Les traitements conventionnels:	13
1.6.1.1. La chirurgie	13
1.6.1.2. La radiothérapie	13
1.6.1.3. La chimiothérapie	13
1.6.1.4. L'hormonothérapie	13
1.6.2. Traitements ciblées :	14
1.6.2.1. L'immunothérapie	14

1.6.2.2. L'antiangiogénique	16
-----------------------------------	----

CHAPITRE II: Angiogenèse

1. La genèse vasculaire : Vasculogenèse, Angiogenèse et Lymphangiogenèse	17
1.1. Vasculogenèse	17
1.2. Lymphangiogenèse	17
1.3. Angiogenèse	18
1.3.1. Cellules endothéliales	19
2. Mécanisme cellulaire et moléculaire de l'angiogenèse physiologique	19
2.1. La sélection	20
2.2. la migration	21
2.3. La fusion et la formation de la lumière	21
2.4. la maturation et le flux sanguin	22
3. Médiateurs de l'angiogenèse	23
3.1. Les activateurs de l'angiogenèse	23
3.2. Les inhibiteurs de l'angiogenèse	25
4. L'angiogenèse pathologique	25
5. Angiogenèse tumorale	25
5.1. Structure et caractéristiques des vaisseaux tumoraux	27
5.2. Evénements moléculaires à l'origine de l'angiogenèse tumorale	28
5.2.1. Rôle de l'hypoxie	28
5.2.2. Le microenvironnement tumoral	29
5.3. Rôle de l'angiogenèse dans la progression tumorale et la métastase	30
5.4. La thérapie antiangiogénique	31
5.4.1. Inhibiteurs des VEGF et récepteurs des VEGF	32
5.4.1.1. Le bevacizumab (Avastin®) :	32
5.4.2. Inhibiteurs des récepteurs tyrosine kinase (VEGFRs)	32
5.4.2.1. Le sunitinib (SutentR_) :	32
5.4.2.2. Le sorafenib (Nexavar®) :	33
5.4.2.3. Le pazopanib :	33
5.4.3. Inhibiteurs de proteases	33
5.5. Les avantages de la thérapie antiangiogénique	33
5.6. Toxicité des antiangiogéniques	34
5.6.1. Atteintes cardio-vasculaires :	34

5.6.2. Atteintes rénales	35
5.6.3. Toxicité cutanéomuqueuse :	35
5.6.4. Autres effets secondaires :	36

CHAPITRE III: Action des produits naturels sur l'arbre vasculaire : effet antiangiogénique et activité perturbatrice des vaisseaux sanguins du modèle expérimental CAM

.1 Action des produits naturels sur l'arbre vasculaire : effet antiangiogénique et activité perturbatrice des vaisseaux sanguins	37
1.1. Effet antiangiogénique	37
1.2. L'activité de perturbation des vaisseaux (VDA)	38
1.2.1. Types d'agents VDA	39
1.2.2. Les bases scientifiques justifiant la thérapie VDA	39
1.2.3. Défis et limites de la thérapie VDA	39
2. Exploitation de l'effet irritable en tant que VDT (vascular disrupting therapy) des substances naturelles sur la membrane chorioallantoïdienne (CAM)	40
2.1. Définition de l'effet irritable	40
2.2. L'induction de l'effet irritable par les produits naturels	40
2.3. Le test CAM pour caractériser les substances naturelles vis-à-vis l'effet irritable des vaisseaux sanguins	41
3. La nature et l'origine de la CAM et ses fonctions physiologiques	42
3.1. Les applications du test CAM : ses avantages et ses limites	43
4. <i>Allium sativum</i> (Ail) comme candidat au VDT	44
4.1. historique de <i>Allium sativum</i>	44
4.1.1. Description de la plante	44
4.1.2. Les activités pharmacologiques de <i>Allium sativum</i> (Ail)	45
4.1.3. La classification systématique de l'Ail	46

Etudes Expérimentales

CHAPITRE IV: Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes	47
1.1. Test <i>in ovo</i>	47
1.1.1. Collecte des œufs et incubation	47
1.1.2. Préparation des membranes chorioallantoïdienne	48
1.2. Test <i>ex ovo</i>	49
1.3. Préparation des substances testées :	50

1.3.1. Origine du Matériel biologique (Végétal) et préparation jus de l'ail (<i>Allium sativum</i>).	50
1.4. Déroulement du test CAM (<i>in ovo</i>).....	51
1.5. Déroulement du test CAM (<i>ex ovo</i>)	51
1.6. Analyse statistique.....	52

CHAPITRE V: Résultats et Discussions

1. Résultats et discussions.....	53
1.1. Evaluation qualitative.....	53

Conclusion

Références Bibliographiques

Liste des figures

Figure 1: Les six altérations du cancer	6
Figure 2: Différentes étapes du cancer	12
Figure 3 : Les mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front	21
Figure 4 : Les étapes de l'angiogenèse normale	22
Figure 5 : L'organisation générale d'un réseau vasculaire normal et tumoraux	27
Figure 6 : Régulation de l'activité de la protéine HIF-1 α par la concentration intracellulaire en oxygène	29
Figure 7 : Angiogenèse et métastase	31
Figure 8: Structure générale de la membrane chorioallantoïque (CAM) de l'embryon de poulet.	43
Figure 9: illustration botanique <i>Allium sativum</i>	45
Figure 10: Désinfection des oeufs avec l'éthanol à 70%.	47
Figure 11: Incubation des oeufs à l'incubateur(WQ01).	47
Figure 12: Vérification de la fécondité des œufs.....	48
Figure 13: localisation de l'embryon et La chambre à air.	48
Figure 14: Prélèvement de l'Albumen.	48
Figure 15: Aspect d'un œuf leghorn à j 3.....	49
Figure 16: Révélation de la membrane chorioallantoïdienne à j 8.....	49
Figure 17: préparation d'un système de culture d'embryons de poulet <i>ex-ovo</i>	50
Figure 18: préparation du jus de l'ail (<i>Allium sativum</i>).....	50
Figure 19: Application 5ul de solutions préparées sur la CAM.	51
Figure 20: application de l'extrait brut de l'ail (<i>Allium sativum</i>).....	52
Figure 21: Vaisseaux du sac vitellin.....	53

Figure 22: Vaisseaux de la CAM.	53
Figure 23: CAM à J8.	53
Figure 24: CAM à J14.	53
Figure 25: Observation des vaisseaux primaire, secondaire et tertiaire sous stéréomicroscope.	54
Figure 26: Vascularisation normal de la CAM.	54
Figure 27: Résorption des vaisseaux sanguins dexa à J12.	54
Figure 28: Aspect d'un embryon et ses CAM, amnios et sac vitellin ex ovo à J8.	55
Figure 29: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, ex ovo, à J8.	55
Figure 30: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, in ovo, à J8.	55
Figure 31: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, in ovo, à J8, observation sous stéréomicroscope.	56
Figure 32: Embryon mort ex ovo	56
Figure 33: Embryon mort in ovo	57
Figure 34: Embryon (CAM) infecté.	57

Liste des tableaux

Tableau 1: Agents favorisant le développement d'un cancer	7
Tableau 2: Plantes et leurs dérivés ayant des effets spécifiquement inhibiteurs du VEGF ...	37
Tableau 3: Les plantes et leurs principaux composés dérivés avec anti-COX effets	38
Tableau 4: classification systématique de l'Ail	46

Liste des Abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

aFGF : Acid fibroblast growth factor.

Ang-1 : Angiopoétine-1.

Ang-2 : Angiopoétine-2.

bFGF : Basic fibroblast growth factor.

CA4P : Combretastatin A4 phosphate.

CAM : Chorioallantoic membrane.

CAR: Chimeric antigen receptor

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

c-KIT : Stem cell growth factor receptor.

CML : Cellules musculaires lisses.

COX : Cyclo-oxygénase.

COX-2 : Cyclooxygénase-2.

DADS : Disulfure de diallyle.

DMXAA : Acide 5,6-diméthylxanthénone-4-acétique.

EGF : Epidermal growth factor.

eNOS : Endothelial NO synthase.

EPC : Endothelial progenitor cells.

ET-1 : Endothéline-1.

FAA :Acide flavone-8-acétique.

FAC : Fibroblastes associés aux carcinomes.

FDA : Food and Drug Administration.

FGF : Fibroblast growth factor.

FLT-3 : Fms-related tyrosine kinase-3.

HGF : Hepatocyte growth factor.

HIF : Hypoxia-inducible factor.

HIF-1 : Hypoxia inducible factor-1.

HIF- α : Hypoxia inducible factor- α .

HIF- β : Hypoxia inducible factor- β .

Hpv: human papillomavirus,

HTA : L'hypertension artérielle.

HUVECs : Endothelial cells from human umbilical veins.

IGF-1 : Insulin-like growth factor-1.

IgG1 : Immunoglobuline G1.

KGF : Keratinocyte growth factor.

KIT : Stem cell growth factor receptor.

LIF : Leukemia inducible factor.

LNH: Lymphocyte-specific nuclear

MAT : Microangiopathie thrombotique.

MEC : Matrice extracellulaire.

MMP : Matrix metalloproteinase.

NK : Cellules natural killer.

NO : Nitric oxide.

PD-ECGF : Platelet-derived endothelial cell growth factor.

PDGF : Platelet-derived growth factor.

PDGF-BB : Platelet-derived growth factor.

PDGFR- α : Platelet-derived growth factor receptor- α .

PDGFR- β : Platelet-derived growth factor receptor- β .

PH : Potentiel hydrogène.

PHD1 : Prolyl-hydroxylase domain 1.

PHD2 : Prolyl-hydroxylase domain 2.

PIGF : Placental growth factor.

PLGF : Placental growth factor.

pVHL : Von Hippel-Lindau.

RAF : Rapidly Accelerated Fibrosarcoma.

RCMP : Réaction cutanée main-pied.

ROS : Espèces réactives de l'oxygène.

SAC : S-allyl cystéine.

SAMC : S-allyl mercaptocystéine.

TEM : Transition épithélio-mésenchymateuse.

TGF : Transforming growth factor.

TGF- β : Transforming growth factor- β .

TIMPs : Tissue inhibitors of metalloproteinases.

TNF : Tumor necrosis factor.

TNF- α : Tumor necrosis factor- α .

UV : Ultra-violet.

VDA : Vessel disruption activity.

VDT : Vascularisation et la thérapie de perturbation vasculaire.

VEGF : Vascular endothelial growth factor.

VEGF-A : Vascular endothelial growth factor-A.

VEGF-C : Vascular endothelial growth factor-C.

VEGF-D : Vascular endothelial growth factor-D.

VEGF-E : Vascular endothelial growth factor-E.

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

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

Le cancer est une maladie grave qui affecte des millions de personnes dans le monde et représente un défi majeur pour l'espérance de vie au 21ème siècle (**Bray et al., 2018**). Cette maladie est causée par la transformation de cellules normales en cellules anormales qui se multiplient et envahissent les tissus voisins ou d'autres organes (**World Health Organization, 2020**). De nombreux facteurs de risque du cancer sont liés au mode de vie, tels que le tabagisme, la consommation d'alcool, une alimentation déséquilibrée et la sédentarité (**World Cancer Research Fund International, 2018**). D'autres facteurs de risque sont d'origine infectieuse, comme certains virus ou bactéries (**World Health Organization, 2020**). Le cancer peut être évité en adoptant un mode de vie sain et en se protégeant des agents cancérogènes (**World Cancer Research Fund International, 2018**). Il peut également être détecté précocement grâce à des tests simples qui augmentent les chances de guérison (**World Health Organization, 2020**). Le cancer peut être traité par différents moyens, tels que la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie ou l'immunothérapie (**National Cancer Institute, 2019**). Ces traitements peuvent avoir des effets secondaires qui nécessitent une prise en charge adaptée (**National Cancer Institute, 2019**). Les soins palliatifs visent à améliorer la qualité de vie des patients en phase terminale et de leurs proches (**World Health Organization, 2020**).

En 2018, selon le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC), il a été estimé qu'un homme sur cinq et une femme sur six dans le monde développeraient un cancer au cours de leur vie, et qu'un homme sur huit et une femme sur onze mourraient de cette maladie (**Organisation Mondiale de la Santé, 2018**). De nouvelles données mondiales sur le cancer indiquent que le nombre de personnes diagnostiquées atteignait 18,1 millions (**Lambrigts, 2021**) et que 9,6 millions de personnes sont décédées des suites d'un cancer (**Organisation Mondiale de la Santé, 2018**). En Algérie, le nombre estimé de nouveaux cas de cancer est passé de 40 000 en 2012 à 55 000 en 2018 (**JP, 2020**).

La néovascularisation est la formation naturelle de nouveaux vaisseaux sanguins, généralement sous la forme de réseaux microvasculaires fonctionnels, capables de perfusion par les globules rouges, qui se forment pour servir de circulation collatérale en réponse à une mauvaise perfusion ou une ischémie locale. Ce processus 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. De même, la croissance tumorale à la phase invasive et de diffusion métastatique, comme l'a évoqué Folkman dans ses premiers travaux en 1971.

Selon les données actuelles, il existe un lien fondamental entre l'agressivité des tumeurs, leur capacité à former des métastases et la présence d'une néo-angiogenèse tumorale **(Coulon et al., 2022)**. À quelques exceptions près, les tumeurs bénignes ont tendance à croître très lentement et sont peu vascularisées, sans se propager dans l'organisme. Il a été établi une corrélation directe entre l'ampleur du réseau vasculaire présent dans les différentes tumeurs malignes et leur potentiel métastatique **(Weidner et al., 2022)**.

Le développement d'agents anti-angiogéniques spécifiques semble être une approche thérapeutique intéressante pour traiter le cancer et d'autres maladies dépendantes de l'angiogenèse **(Quesada, 2006)**. Les thérapies ciblant l'anti-angiogenèse sont un type de traitement contre le cancer qui vise à arrêter la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins qui alimentent les cellules tumorales en oxygène et en nutriments. Il existe deux principaux types de thérapies ciblant l'anti-angiogenèse : la thérapie anti-angiogénique contre la vascularisation et la thérapie de perturbation vasculaire (VDT) **(Lopes-Coelho et al., 2021)**. La thérapie anti-angiogénique contre la vascularisation cible des molécules spécifiques qui stimulent l'angiogenèse, telles que le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) et ses récepteurs. Ces thérapies peuvent bloquer la liaison du VEGF à ses récepteurs, inhiber les voies de signalisation en aval du VEGF ou empêcher la production de VEGF par les cellules tumorales ou d'autres cellules dans le microenvironnement tumoral **(Institut National du Cancer, s.d.)**. La VDT, en revanche, cible la vascularisation tumorale existante et provoque son effondrement ou sa perturbation, entraînant une nécrose et une hémorragie tumorale. La VDT peut être classée en deux sous-types : la VDT à petites molécules et la VDT biologique. Les VDT à petites molécules sont des médicaments qui interfèrent avec le cytosquelette ou les mitochondries des cellules endothéliales, les amenant à se détacher de la membrane basale ou à subir une apoptose. Les VDT biologiques sont des agents qui se lient sélectivement aux marqueurs endothéliaux tumoraux et induisent des dommages vasculaires par divers mécanismes, tels que la cytotoxicité médiée par le système immunitaire ou l'administration de toxines **(Lopes-Coelho et al., 2021)**.

Alors que l'utilisation à grand échelle de cette catégorie thérapeutique commence à révéler les risques qu'ils entraînent **(Abdel-Rahman & Fouad, 2016)**. Sans oublier le fardeau

économique qu'exerce le recours à des médicaments de référence, principes **(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**). De plus, certains composés peuvent jouer le rôle d'agents de rupture vasculaire. Ces agents, appelés VDAs (vascular disrupting agents), induisent une régression rapide des tumeurs établies dans les études précliniques en ciblant sélectivement le réseau vasculaire tumoral **(Hooper et al., 2012)** Parmi les VDAs d'origine naturelle, on trouve les flavonoïdes, les colchicines et les vincas, qui sont des inhibiteurs puissants de la polymérisation de la tubuline et qui ont des effets à la fois anti-angiogéniques (stase vasculaire/prévention) et vasculaires perturbateurs (régression vasculaire) **(Hooper et al., 2012)**. Un exemple de VDA naturel est l'acide flavone-8-acétique (FAA), qui a montré un potentiel antitumoral en induisant la production de cytokines et la nécrose hémorragique rapide de la vascularisation tumorale chez la souris **(Gobbi et al., 2021)**. Cependant, le développement clinique des VDAs a souvent été limité par leur faible indice thérapeutique, ce qui limite l'utilisation de ces composés en raison d'effets secondaires dans le système vasculaire normal et/ou d'autres tissus normaux **(Hooper et al., 2012)**. Par conséquent, il est nécessaire d'identifier et de développer de nouveaux VDAs à partir de produits naturels qui présentent une meilleure efficacité et une meilleure sécurité.

L'ail (*Allium sativum*) est une plante utilisée depuis l'Antiquité à des fins culinaires et médicinales. Il contient divers composés organosulfurés (COS) responsables de son odeur caractéristique et de ses activités biologiques. L'un des principaux COS est l'allicine, qui est formée à partir de la réaction enzymatique de l'alliine et de l'alliinase lorsque les gousses d'ail sont écrasées ou hachées. L'allicine et ses dérivés ont montré des effets antimicrobiens, antioxydants, anti-inflammatoires, immunomodulateurs et anticancéreux et une activité antiangiogénique.

L'ail et ses COS ont été signalés pour inhiber l'angiogenèse par divers mécanismes. Par exemple, l'allicine peut supprimer l'expression du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), un facteur proangiogénique clé, dans les cellules endothéliales de veines ombilicales humaines (HUVECs) et dans les cellules tumorales **(Arreola et al., 2015)**. L'allicine peut également inhiber la migration et la formation de tubes des HUVECs en réduisant l'activité des métalloprotéinases matricielles (MMP), qui sont des enzymes qui dégradent la matrice extracellulaire et facilitent l'angiogenèse **(Kim et al., 2016)**. De plus,

l'allicine peut induire l'apoptose des cellules endothéliales en activant les caspases et en augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) **(Kim et al., 2016)**.

D'autres COS d'ail, tels que le disulfure de diallyle (DADS), le trisulfure de diallyle (DATS), la S-allyl cystéine (SAC) et la S-allyl mercaptocystéine (SAMC), ont également démontré des effets antiangiogéniques *in vitro* et *in vivo*. Le DADS peut inhiber l'angiogenèse induite par le VEGF en régulant à la baisse la phosphorylation du récepteur 2 du VEGF (VEGFR2) et ses molécules de signalisation en aval, telles que Akt et la kinase régulée par les signaux extracellulaires (ERK) **(Chen et al., 2012)**. Le DATS peut inhiber l'angiogenèse en modulant l'expression du facteur-1 α inductible par l'hypoxie (HIF-1 α), un facteur de transcription qui régule l'expression du VEGF et d'autres gènes proangiogéniques dans des conditions hypoxiques **(Zhang et al., 2014)**. La SAC peut inhiber l'angiogenèse en réduisant l'expression de la cyclooxygénase-2 (COX-2), une enzyme qui catalyse la synthèse des prostaglandines, qui sont des médiateurs inflammatoires qui stimulent l'angiogenèse **(Melguizo-Rodríguez et al., 2022)**. La SAMC peut inhiber l'angiogenèse en induisant un arrêt du cycle cellulaire en G2/M et une apoptose des cellules endothéliales par l'activation de p53 et p21 **(Wang et al., 2012)**.

Bien que de nombreuses études montrent clairement que l'ail et ses COS possèdent une activité antiangiogénique puissante, il n'existe actuellement aucune étude publiée explorant l'effet irritant de l'ail ou de l'une de ses différentes molécules bioactives. De même, il n'y a pas d'études sur l'exploitation de cet effet dans le traitement antitumoral sous forme de perturbateur vasculaire (VDA).

Dans cette recherche, nous avons étudié, *in ovo* et *ex ovo*, l'effet irritant de l'ail, *Allium sativum*, sur le modèle expérimental : le test CAM.

Ainsi, cette étude se divise en :

- Une synthèse bibliographique des connaissances actuelles dans le domaine de la biologie du cancer, de l'angiogenèse, des thérapies antiangiogéniques, notamment la vascular disrupting therapy (VDT).
- Une exploration, *in ovo* et *ex ovo* du potentiel perturbateur de la vascularisation du CAM par le jus de l'ail, *Allium sativum*.

Synthèse

Bibliographique

*CHAPITRE I: Biologie du
cancer*

1. La biologie du cancer

1.1. Définition du cancer

Le cancer est un groupe de maladies dont les cellules se caractérisent par une infiltration et une prolifération, ce qui signifie que la croissance et la division sont illimitées. Ces cellules ont la capacité d'envahir les tissus proches et même distants (**anisimov et al., 2009**), où l'on peut dire que le cancer est une maladie génétique, due à la survenue de mutations au niveau du génome, qui donne aux cellules un phénotype malin (**Thomson et al., 2006**). Ces mutations peuvent être d'origine naturelle lors de la division ou de facteurs environnementaux où le cancer se développe à partir d'une seule cellule saine en plusieurs cellules cancéreuses (**Marell & Laury 2003**). Les tumeurs ne sont pas nécessairement toutes malignes, car il existe des tumeurs bénignes qui n'affectent pas les tissus environnants (**belk & borden 2004**).

1.2. Caractéristiques des cellules cancéreuses

La cellule cancéreuse considérée comme responsable à elle seule de la maladie cancéreuse (**Teillaud, 2015**). Il existe plus de 100 types distincts de cancer, et des sous-types de tumeurs peuvent être trouvés dans des organes spécifiques. Le vaste catalogue de génotypes de cellules cancéreuses est une manifestation de six altérations essentielles de la physiologie cellulaire qui dictent collectivement la croissance maligne : l'autosuffisance en signaux de croissance, l'insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance (anti-croissance), l'évasion de la mort cellulaire programmée (apoptose), l'illimitation potentiel réplcatif, angiogenèse soutenue, invasion tissulaire et métastases (**Hanahan & Weinberg 2000**). Ces propriétés, chacune plus ou moins développées selon les cancers, résultent de l'altération de l'expression ou de la séquence d'oncogènes et de gènes suppresseurs de tumeurs (**Doumit, 2011**). (**Figure 1**).

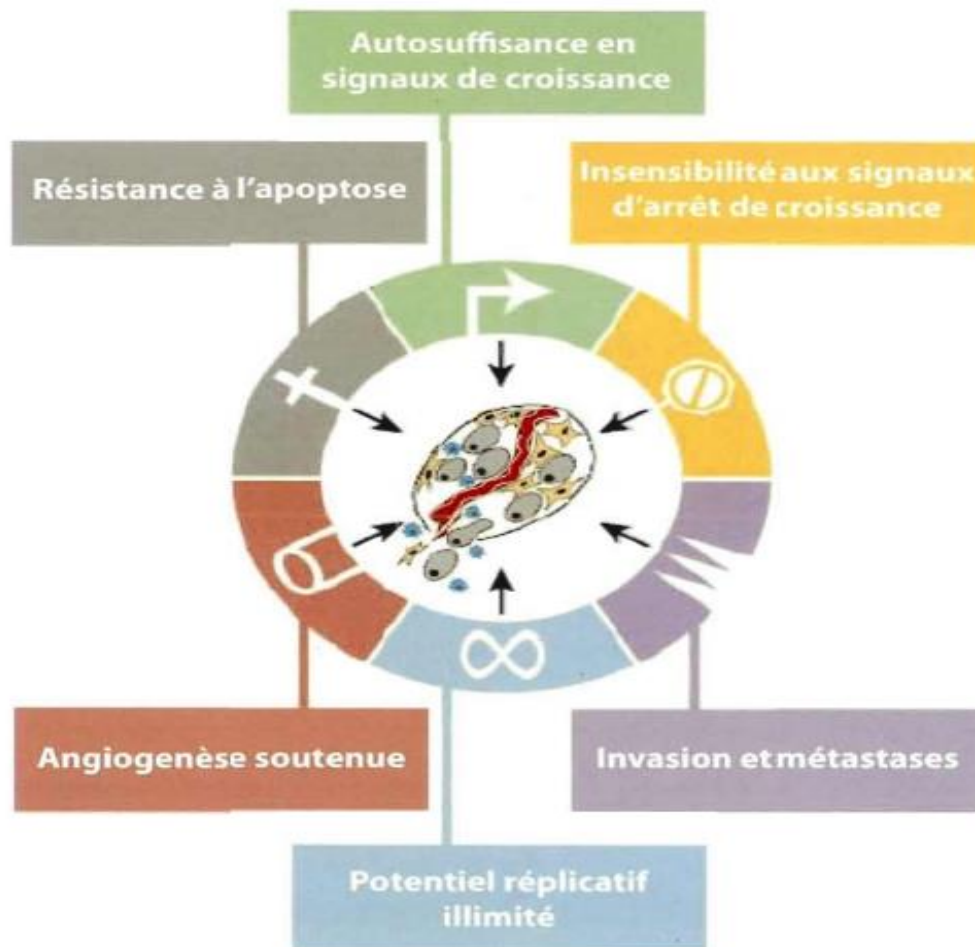


Figure 1: Les six altérations du cancer (Doumit, 2011).

1.3. Causes du cancer

Les mécanismes biologiques actuels du cancer suggèrent que tous les cancers proviennent à la fois de l'environnement et de la génétique, ce qui signifie qu'il existe de multiples facteurs externes appelés cancérogènes (**Tableau 1**), combinés à des modifications génétiques internes qui conduiront à des cancers humains (**Parsa, 2012**). Ces facteurs comprennent des agents physiques tels que les rayons UV(et les radionucléides, qui agissent directement sur la transformation maligne en modifiant l'ADN (l'acide désoxyribonucléique) des cellules cibles par cassure, des agents biologiques tels que les virus, les bactéries et les parasites (**Fridman & Sautès-Fridman, 2014**), ainsi que des produits chimiques d'origine endogène ou exogène, tels que le goudron des cigarettes, les nitrites et de nombreux autres produits chimiques (**Stéhelin, 1985**). Ces agents sont considérés comme mutagènes, c'est-à-dire qu'ils provoquent des changements appelés mutations au niveau d'ADN, ce qui peut conduire à la production de différentes protéines codantes et mener à un mauvais fonctionnement des cellules (**GLORY, 2016**).

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

Type de cancérigène	Exemples	Cancers associés
Agents physiques	Rayons X UV Radionucléides	Leucémies, lymphomes Mélanomes Cancer de la thyroïde
Agents chimiques	Tabac Amiante Goudron Sciure de bois	Cancer du poumon Cancer ORL Cancer de la vessie Mésothéliome Cancer du poumon Cancer des testicules Cancer des fosses nasales
Agents biologiques	Virus Virus de papillome humain Virus des hépatites B et C Virus d' Epstein-Barr Virus Herpès humain de type 8 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>	Cancer du col de l' utérus Cancer ORL Cancer du rectum, cancer du vagin Cancer du foie Lymphomes Sarcome de Kaposi Lymphomes T Cancer de l' estomac Cancer de la vésicule biliaire Cancer du poumon Cancer de la vessie Cholangiocarcinome hépatique

1.4. Gènes du cancer et Les gènes suppresseurs de tumeur

1.4.1. Génétique du cancer :

Le cancer est une maladie génétique causée par des changements dans les gènes qui contrôlent la croissance et la multiplication des cellules. Ces changements peuvent être hérités ou survenir au cours de la vie (ACS, 2021). L'étude de la génétique et du cancer vise à

identifier les gènes impliqués dans le développement du cancer et à développer de nouvelles façons de prévenir, diagnostiquer et traiter le cancer **(NCI, 2021)**. Des tests génétiques peuvent aider les personnes ayant des antécédents familiaux de cancer à évaluer leur risque et à prendre des décisions éclairées **(MNT, 2021)**. Des exemples de gènes impliqués dans le cancer sont BRCA1 et BRCA2, ainsi que TP53 **(CRUK, 2021)**. La génétique du cancer est un domaine complexe et dynamique qui nécessite une recherche multidisciplinaire et une collaboration.

Il existe trois principaux types de gènes qui jouent un rôle dans le cancer: les oncogènes, les gènes suppresseurs de tumeurs et les gènes de réparation de l'ADN. Ces gènes peuvent être altérés par des mutations, des changements épigénétiques ou des réarrangements chromosomiques, ce qui peut entraîner un comportement cellulaire anormal et le développement du cancer **(Hassanpour & Dehghani, 2017)**.

1.4.1.1. Oncogènes :

Les oncogènes sont des gènes qui aident normalement les cellules à croître et à se diviser pour fabriquer de nouvelles cellules ou pour aider les cellules à rester en vie. Ils codent pour des protéines qui stimulent la croissance et la division cellulaire, telles que des facteurs de croissance, des récepteurs ou des enzymes. Ils agissent comme des pédales d'accélérateur qui accélèrent la croissance et la division cellulaire. Lorsqu'un oncogène est muté ou surexprimé, il peut être activé lorsqu'il ne devrait pas l'être, ce qui provoque une division cellulaire incontrôlée. Quelques exemples d'oncogènes sont RAS **(De Luca, 2013)**, MYC **(Coleman, 2015)**, HER2 **(Cardoso, 2020)** et BRAF **(Tateishi, 2019)**.

1.4.1.2. Gènes suppresseurs de tumeurs :

Les gènes suppresseurs de tumeurs sont des gènes qui limitent normalement la croissance et la division cellulaire ou provoquent la mort des cellules lorsqu'elles sont endommagées ou vieilles. Ils codent pour des protéines qui inhibent la croissance et la division cellulaire, telles que des régulateurs du cycle cellulaire, de l'apoptose ou de la sénescence. Ils agissent comme des freins qui ralentissent ou arrêtent la croissance et la division cellulaire. Lorsqu'un gène suppresseur de tumeur est muté ou supprimé, il peut perdre sa fonction et permettre aux cellules de croître et de se diviser sans contrôle. Quelques exemples de gènes suppresseurs de tumeurs sont TP53, RB1, BRCA1 et BRCA2 **(El-Deiry, 2003 ; Yee, 2019 ; Ford, 2020 ; Pang, 2020)**.

1.4.1.3. Gènes de réparation de l'ADN :

Les gènes de réparation de l'ADN sont des gènes qui aident normalement les cellules à corriger les erreurs dans leur ADN qui surviennent lors de la division cellulaire ou en raison de facteurs environnementaux. Ils codent pour des protéines qui reconnaissent et corrigent les dommages à l'ADN, tels que la réparation des mésappariements, la réparation par excision de base, la réparation par excision de nucléotide ou la recombinaison homologue. Ils agissent comme des mécaniciens qui réparent les dommages dans l'ADN. Lorsqu'un gène de réparation de l'ADN est muté ou silencieux, il peut altérer la capacité de la cellule à corriger ses erreurs d'ADN, ce qui peut s'accumuler au fil du temps et conduire au cancer. Quelques exemples de gènes de réparation de l'ADN sont MLH1 (**Kolodner, 2012**), MSH2 (**Jaspers, 2016**), ATM (**Bartek, 2013**) et NBN (**Smeets, 2017**).

1.4.1.4. Gènes associés à différents types de cancer

Il existe de nombreux gènes associés à différents types de cancer, tels que APC, CDH1, STK11, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, BRCA1, BRCA2 (**American Cancer Society, 2021; National Cancer Institute, 2021**). Comprendre le rôle de ces gènes dans le cancer peut aider au diagnostic, au pronostic, au traitement et à la prévention de la maladie.

1.4.2. Durée du processus cancérologène :

La carcinogénèse est le processus de transformation maligne des cellules normales en cellules cancéreuses. Elle peut être divisée conceptuellement en au moins trois étapes: l'initiation, la promotion et la progression (**Berenblum & Shubik, 1947; Scott et al., 1984**). Certains cancers peuvent également avoir des étapes intermédiaires, telles que la conversion maligne ou la conversion (**Siddiqui et al., 2015**).

L'initiation implique des altérations génétiques irréversibles ou des mutations dans l'ADN, qui peuvent être spontanées ou induites par des carcinogènes. Les carcinogènes sont des agents qui peuvent causer le cancer en endommageant l'ADN des cellules. Les altérations génétiques peuvent entraîner une dysrégulation des voies de signalisation biochimique associées à la prolifération cellulaire, à la survie et à la différenciation, qui peuvent être influencées par un certain nombre de facteurs, y compris le taux et le type de métabolisme carcinogène et la réponse de la fonction de réparation de l'ADN (**Siddiqui et al., 2015; Birkett et al., 2019**). Les voies de signalisation biochimique sont des interactions moléculaires qui régulent l'activité et le comportement des cellules. La prolifération cellulaire

est le processus de division et de croissance cellulaire. La survie cellulaire est la capacité des cellules à éviter la mort par apoptose ou nécrose. La différenciation cellulaire est le processus par lequel les cellules deviennent spécialisées pour des fonctions spécifiques. La fonction de réparation de l'ADN est le mécanisme des cellules pour corriger les erreurs ou les dommages dans leur ADN.

La promotion est une étape réversible et longue dans laquelle les cellules pré-néoplasiques prolifèrent et s'accumulent, et peut être influencée par des agents chimio-préventifs. La promotion est considérée comme un processus relativement long et réversible dans lequel les cellules pré-néoplasiques en prolifération active s'accumulent. Au cours de cette période, le processus peut être modifié par des agents chimio-préventifs et affecter les taux de croissance **(Siddiqui et al., 2015; Birkett et al., 2019)**. Les cellules pré-néoplasiques sont des cellules qui ont subi certains changements qui les rendent plus susceptibles de devenir cancéreuses, mais ne sont pas encore malignes. Les agents chimio-préventifs sont des substances qui peuvent prévenir ou retarder le développement du cancer.

La progression est l'étape finale irréversible dans laquelle les cellules malignes acquièrent une instabilité karyotypique, une croissance invasive et un potentiel métastatique, et est associée à d'autres changements génétiques et épigénétiques. La progression est la phase entre une lésion pré-maligne et le développement d'un cancer invasif. Cela implique une augmentation rapide de la taille de la tumeur, où les cellules peuvent subir d'autres mutations avec un potentiel invasif et métastatique. Les agents chimio-préventifs devraient pouvoir agir préférentiellement dans les processus d'initiation et de promotion de la carcinogenèse **(Siddiqui et al., 2015; Birkett et al., 2019)**. Les cellules malignes sont des cellules cancéreuses qui peuvent envahir les tissus environnants et se propager à d'autres parties du corps. L'instabilité karyotypique est une condition où le nombre ou la structure des chromosomes dans une cellule est anormal. La croissance invasive est la capacité des cellules malignes à pénétrer à travers les limites normales des tissus. Le potentiel métastatique est la capacité des cellules malignes à se détacher de la tumeur primaire et à former des tumeurs secondaires dans des organes éloignés. Les changements épigénétiques sont des modifications dans l'expression ou l'activité des gènes qui n'impliquent pas de changements dans la séquence de l'ADN **(Siddiqui et al., 2015; Birkett et al., 2019)**.

La métastase implique la propagation des cellules cancéreuses du site primaire à d'autres parties du corps par le sang ou le système lymphatique. Les agents chimio-préventifs

sont connus pour inhiber l'angiogenèse et l'invasion des tumeurs primaires, et pourraient donc être utilisés pour inhiber la métastase du cancer **(Siddiqui et al., 2015; Birkett et al., 2019)**. L'angiogenèse est la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui fournissent des nutriments et de l'oxygène aux tumeurs.

Le processus de carcinogenèse peut varier considérablement en durée et peut prendre des semaines, des mois ou des années pour se développer. La carcinogenèse peut être divisée conceptuellement en au moins trois étapes: l'initiation, la promotion et la progression **(Berenblum et Shubik, 1947; Scott et al., 1984)**. L'initiation implique des altérations génétiques irréversibles ou des mutations dans l'ADN, qui peuvent être spontanées ou induites par des carcinogènes. La cellule initiée semble normale et la capacité de croissance autonome peut rester latente pendant des semaines, des mois ou des années (Science Direct Topics). La promotion est une étape réversible et longue dans laquelle les cellules pré-néoplasiques prolifèrent et s'accumulent. La progression est l'étape finale irréversible dans laquelle les cellules malignes acquièrent une instabilité karyotypique, une croissance invasive et un potentiel métastatique **(Siddiqui et al., 2015)**.

1.5. Processus de cancérogenèse

La carcinogenèse est un processus plus complexe qu'il n'y paraît .par lequel des cellules saines se transforment en cellules cancéreuses, ces dernières se divisant en plusieurs étapes **(Tubiana, 2008)**.

1.5.1. Initiation

L'initiation est une étape ponctuelle correspondant à l'altération du génome d'une cellule lui conférant la propriété d'échapper aux régulations cellulaires. Dans les cellules somatiques, des altérations de l'ADN d'origine endogène (erreurs au cours de la réplication de l'ADN ou de la mitose, effet des radicaux libres produits par le métabolisme cellulaire sur l'ADN, hypo-ou hyper-méthylation de l'ADN) ou induites par des facteurs environnementaux cancérogènes apparaissent fréquemment au cours de la vie. Une altération de l'ADN n'est transmise aux cellules dérivant de la cellule « initiée » que si elle n'est pas létale et n'est pas réparée **(Pierre-Henri et al., 2011)**.

1.5.2. Promotion

La promotion correspond à une exposition continue à une substance qui entretient et stabilise la carcinogenèse. Cette étape consiste en la prolifération de cellules tumorales par l'intervention de capsules tumorales, se traduisant par une série d'interactions entre les cytokines et leurs récepteurs, et finissant par la perte de l'équilibre tissulaire et la reproduction des cellules transformées **(King, 1996)**. L'action du promoteur se fait uniquement sur les cellules impliquées dans la formation tumorale **(Segala Gregory, 2012)**. Les stimuli tumoraux sont divers, comme les habitudes alimentaires et l'alcool, ainsi que des substances produites par l'organisme telles que les hormones sexuelles qui stimulent la prolifération cellulaire dans les organes reproducteurs **(Segala Gregory, 2012)**.

1.5.3. Progression

La progression tumorale est une phase complexe qui consiste en l'accumulation de nouvelles anomalies du génome, la vascularisation de la tumeur (angiogenèse) et en l'acquisition de la capacité d'invasion conférant ainsi à la tumeur une plus grande malignité **(Pierre-Henri et al., 2011)**. La prolifération continue et les gènes suppresseurs de tumeurs perdent leur activité normale. Il y a une sur-activation de métalloprotéases permettant le remodelage de la matrice extracellulaire. De nouveaux vaisseaux se forment afin d'alimenter la tumeur. L'invasion vers des sites secondaires est initiée pour en arriver à la formation de métastases **(Vezina, 2012)**.

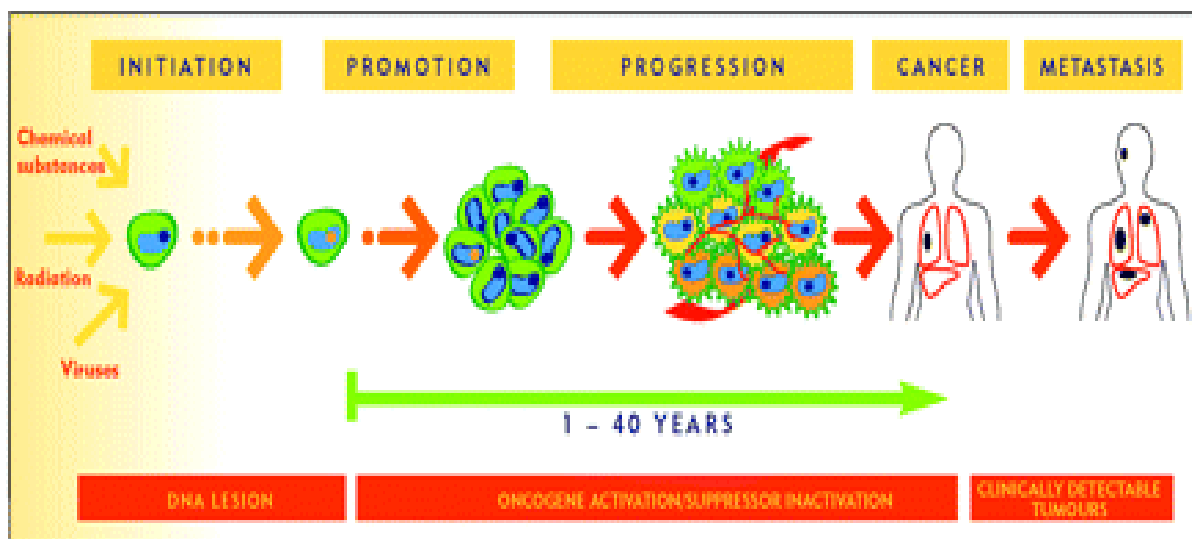


Figure 2: Différentes étapes du cancer **(Béliveau & Gingras, 2007)**.

1.6. Traitement du cancer

La décision des modalités du traitement est une décision collégiale qui implique plusieurs spécialistes. Il s'agit d'un traitement pluridisciplinaire, accordant plusieurs traitements tels que la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et l'hormonothérapie. Le traitement est lié à plusieurs facteurs dont les plus importants sont: le stade de la maladie, l'âge, le type de tumeur et l'état général de la santé **(Isautier, 2012)**.

1.6.1. Les traitements conventionnels:

1.6.1.1. La chirurgie

La chirurgie est le principal traitement du cancer et doit être effectuée par un chirurgien expérimenté **(Schlumberger, 2007)**. Son but est d'éliminer la tumeur solide localisée et les éventuelles cellules cancéreuses présentes dans son voisinage. Lorsque la tumeur est petite, les chances de succès sont élevées **(Dahan et al., 2003)**. Ce traitement est le seul moyen de traiter les zones peu vascularisées où la chimiothérapie n'accède pas **(Pasquet, 2011)**.

1.6.1.2. La radiothérapie

L'alternative à la chirurgie, lorsque l'organe atteint doit être préservé, est la radiothérapie **(Pasquet, 2011)**. La radiothérapie utilise une source radioactive basée sur l'ionisation sur une tumeur bien localisée. Elle peut être utilisée seule ou combinée à d'autres traitements curatifs ou palliatifs. Le but de ce traitement est de détruire la tumeur tout en irradiant un minimum de tissu sain autour. Les complications peuvent inclure la nécrose du cerveau avoisinant, l'atteinte des structures extracrâniennes comme les yeux ou encore des brûlures de la peau **(Rajaut, 2001)**.

1.6.1.3. La chimiothérapie

La chimiothérapie est l'un des traitements anticancéreux les plus fréquemment utilisés de nos jours. Ce mode de traitement utilise des substances chimiques qualifiées de cytotoxiques pour tuer les cellules cancéreuses ou bloquer leur multiplication **(Descôteaux, 2013)**. La chimiothérapie peut servir à réduire la taille d'une tumeur avant une opération chirurgicale **(Chabner & Roberts, 2005)**.

1.6.1.4. L'hormonothérapie

L'hormonothérapie consiste en l'utilisation d'hormones dans le traitement des cancers. Ces hormones contrôlent le fonctionnement et le développement de certains organes grâce à

des récepteurs cellulaires spécifiques. Si la sensibilité d'un organe à ces hormones est modifiée, une tumeur peut apparaître par prolifération anormale de cellules néoplasiques. Les principaux cancers hormono-dépendants sont ceux du sein, de l'endomètre et de la prostate. Le but de l'hormonothérapie sera alors de supprimer l'activité hormonale (**Poirot, 2014**).

1.6.2. Traitements ciblés :

1.6.2.1. L'immunothérapie

L'immunothérapie du cancer est un type de traitement du cancer qui utilise le système immunitaire pour combattre les cellules cancéreuses. Le système immunitaire est composé de différents types de cellules et de molécules qui peuvent reconnaître et éliminer les envahisseurs étrangers, tels que les bactéries et les virus, ainsi que les cellules anormales, telles que les cellules cancéreuses. Cependant, les cellules cancéreuses peuvent échapper au système immunitaire par divers mécanismes, tels que la dissimulation de leurs antigènes, l'expression de molécules de point de contrôle immunitaire ou la création d'un microenvironnement immunosuppresseur. Par conséquent, l'immunothérapie du cancer vise à améliorer la capacité du système immunitaire à détecter et détruire les cellules cancéreuses.

Il existe différents types d'immunothérapie du cancer, chacun ayant des mécanismes d'action et des cibles différents. Certains des types les plus courants sont:

- Les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire: Ce sont des médicaments qui bloquent les molécules qui agissent normalement comme des freins sur le système immunitaire, tels que CTLA-4, PD-1 et PD-L1. En bloquant ces molécules, les médicaments libèrent tout le potentiel des cellules immunitaires, en particulier des lymphocytes T, pour attaquer les cellules cancéreuses. Les inhibiteurs de point de contrôle immunitaire ont montré une efficacité remarquable dans divers types de cancers, tels que le mélanome, le cancer du poumon, le cancer du rein, le cancer de la vessie et le cancer de la tête et du cou (**Zhang & Zhang, 2020; NCI, n.d.; Waldman et al., 2020**).
- La thérapie par transfert de lymphocytes T: Il s'agit d'un traitement qui implique la collecte de lymphocytes T à partir de la tumeur ou du sang du patient, leur modification en laboratoire pour améliorer leur spécificité et leur activité contre les cellules cancéreuses, puis leur réinfusion dans le patient. Un exemple de cette thérapie est la thérapie par lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique CAR (chimeric

antigen receptor), qui utilise des lymphocytes T génétiquement modifiés qui expriment un récepteur synthétique pouvant se lier à un antigène spécifique sur les cellules cancéreuses. La thérapie par lymphocytes T CAR a obtenu des résultats remarquables dans certains types de cancers du sang, tels que la leucémie aiguë lymphoblastique LAL (lysosomal acid lipase), la leucémie lymphoïde chronique (LLC) et le lymphome non hodgkinien LNH (lymphocyte-specific nuclear) (**Zhang & Zhang, 2020; NCI, n.d.; Waldman et al., 2020**).

- Les anticorps monoclonaux: Ce sont des protéines fabriquées en laboratoire qui peuvent se lier à des cibles spécifiques sur les cellules cancéreuses ou d'autres molécules impliquées dans la croissance et la survie des tumeurs. Certains anticorps monoclonaux fonctionnent en marquant les cellules cancéreuses pour leur destruction par le système immunitaire, tandis que d'autres fonctionnent en bloquant les signaux qui favorisent la croissance tumorale ou l'angiogenèse. Quelques exemples d'anticorps monoclonaux sont le rituximab (Rituxan), qui cible CD20 sur les lymphomes B; le trastuzumab (Herceptin), qui cible HER2 sur les cancers du sein et gastriques; et le bévacizumab (Avastin), qui cible le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) sur diverses tumeurs solides (**Zhang & Zhang, 2020; NCI, n.d.; Waldman et al., 2020**).
- Les vaccins contre le cancer: Ce sont des substances qui stimulent le système immunitaire pour monter une réponse spécifique contre les cellules cancéreuses. Il existe deux principaux types de vaccins contre le cancer: les vaccins préventifs et les vaccins thérapeutiques. Les vaccins préventifs sont conçus pour prévenir les cancers causés par certains virus, tels que le papillomavirus humain HPV(human papillomavirus) et le virus de l'hépatite B (VHB). Les vaccins thérapeutiques sont conçus pour traiter les cancers existants en induisant une réponse immunitaire contre les antigènes tumoraux. Un exemple de vaccin thérapeutique est le sipuleucel-T (Provenge), qui est approuvé pour le cancer de la prostate (**Zhang & Zhang, 2020; NCI, n.d.; Waldman et al., 2020**).
- Les cytokines: Ce sont des molécules qui régulent l'activité et la communication des cellules immunitaires. Certaines cytokines peuvent améliorer la réponse immunitaire contre les cellules cancéreuses en stimulant la croissance et la différenciation des cellules immunitaires ou en activant leurs fonctions. Deux exemples de cytokines

utilisées en immunothérapie du cancer sont IL-2 (l'interleukine-2) et l'interféron-alpha (IFN-alpha), qui ont été utilisés pour le cancer du rein et le mélanome (**Zhang & Zhang, 2020; NCI, n.d.; Waldman et al., 2020**).

L'immunothérapie du cancer est apparue comme une modalité prometteuse de traitement du cancer qui peut offrir des réponses durables et une survie améliorée pour certains patients (**Waldman et al., 2020**). Cependant, tous les patients ne répondent pas à l'immunothérapie et certains peuvent subir des effets secondaires graves en raison d'une activation immunitaire excessive ou inappropriée (**Esfahani et al., 2020**). Par conséquent, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier les biomarqueurs qui peuvent prédire la réponse et la toxicité, pour développer de nouvelles stratégies qui peuvent surmonter la résistance et améliorer l'efficacité, et pour optimiser les thérapies combinées qui peuvent synergiser avec l'immunothérapie (**Esfahani et al., 2020**).

1.6.2.2. L'antiangiogénique

Un traitement anti-angiogénique n'a pas pour but la destruction des cellules tumorales, il vise essentiellement les cellules endothéliales en empêchant leur division dont le résultat est un état de quiescence vasculaire avec une involution des vaisseaux néoformés. Les composés anti-angiogéniques peuvent agir à plusieurs niveaux : inhibition de la synthèse de facteurs angiogéniques par les cellules tumorales (mode d'action des interférons), inhibition de la liaison des facteurs angiogéniques aux récepteurs présents à la surface des cellules endothéliales, inhibition du signal angiogénique intracellulaire, altération des interactions entre cellules endothéliales et MEC (matrice extracellulaire) comme l'inhibition de la dégradation de la MEC (**Chabannes et al., 2001**).

CHAPITRE II:

Angiogenèse

1. La genèse vasculaire : Vasculogenèse, Angiogenèse et Lymphangiogenèse

Au tout début, l'oxygène et les nutriments nécessaires à la croissance diffusent librement dans les tissus sains ou bien dans les tissus néoplasiques (**Pezzella et al., 2015**). Puis, au cours des premiers stades du développement embryonnaire, et à mesure que les besoins de l'embryon augmentent, la prolifération n'est plus suffisante (**Swift et al., 2009**). Le plexus capillaire primitif est alors construit à partir de cellules endothéliales progénitrices (EPC) ou cellules angiogéniques générées par la différenciation des hémangioblastes dérivés du mésoderme (**Yassin, 2014**). Ce processus est appelé vasculogenèse (**Yassin, 2014**).

1.1. Vasculogenèse

Le système cardiovasculaire est le premier système organique fonctionnel qui se développe dans l'embryon de vertébré (**Risau & Flamme 1995**). La vasculogenèse est un processus essentiellement développemental au cours duquel un vaisseau s'établit de novo à partir de précurseurs cellulaires (**Azzi & Gavard, 2014**), par la différenciation des cellules endothéliales vasculaires dérivées du mésoderme. Ces cellules recouvrent ensuite toute la surface interne de tous les vaisseaux sanguins (**Risau & Flamme 1995**). Chronologiquement, la vasculogenèse est suivie par l'angiogenèse, c'est-à-dire la croissance, le remodelage et l'extension de ce réseau primitif pour former un réseau vasculaire mature (**Detrait & Etchevers 2005**). Ce phénomène est reproduit chez les adultes (**Monge et al., 2011**), tels que la formation de capillaires à la suite d'une lésion ischémique (**Patel-Hett & D'Amore, 2011**).

Le développement de la vascularisation à partir d'îlots cellulaires précurseurs peut être observé durant l'embryogenèse, mais il ne l'est jamais dans les tissus différenciés adultes. Ce phénomène est sous la totale dépendance du VEGF (vascular endothelial growth factor) (**Martin & Ouafi, 2012**), qui est un facteur de croissance angiogénique des mécanismes moléculaires de l'angiogenèse (**Stephan et al., 2000**).

1.2. Lymphangiogenèse

Le système lymphatique est formé de vaisseaux qui drainent les liquides interstitiels de l'organisme vers des organes lymphoïdes comme les ganglions lymphatiques, la rate et les amygdales ainsi que vers des organes plus évolués tels que le thymus et la moelle osseuse. Au cours de l'embryogenèse, la formation du système lymphatique s'effectue après celle du système cardiovasculaire, mais lui est étroitement associé. Le système lymphatique se constitue en partie par la différenciation de cellules lymphangioblastiques du mésenchyme

primaire et par la formation de six sacs lymphatiques fœtaux induits par bourgeonnement à partir de la vascularisation initiale (**Rigaud et al., 2005**).

La lymphangiogenèse, processus dirigeant la croissance de nouveaux vaisseaux lymphatiques, apparaît au cours du développement embryonnaire (**Garmy-Susini et al., 2017**). La prolifération de nouveaux vaisseaux lymphatiques (lymphangiogenèse) est contrôlée, en partie, par des membres de la famille du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) - à savoir, VEGFC et VEGFD (vascular endothelial growth factor-C/-D) - et leur récepteur apparenté sur l'endothélium lymphatique, VEGFR3 (vascular endothelial growth factor receptor-3). Ces facteurs de croissance sécrétés sont synthétisés sous forme de propeptides qui sont activés par protéolyse pour former des ligands de haute affinité qui activent le VEGFR3 et stimulent la lymphangiogenèse (**Stacker et al., 2002**).

Chez l'adulte, la lymphangiogenèse est réactivée dans l'inflammation, la cicatrisation, la tumorigenèse, la dissémination métastatique et dans les ovaires au cours du cycle menstruel. Bien que la lymphangiogenèse chez l'adulte fonctionne selon les mêmes principes que chez l'embryon, elle est moins bien coordonnée par les signaux appropriés dans les processus pathologiques, et donc les vaisseaux lymphatiques deviennent souvent malformés (**Vaahhtomeri et al., 2017**).

1.3. Angiogenèse

Physiologiquement, l'angiogenèse correspond au développement de nouveaux vaisseaux à partir de la vascularisation préexistante (**Edelberg & Reed, 2003**). L'angiogenèse existe chez l'homme pour répondre à des besoins physiologiques tels que lors des phases de croissance, création du corps jaune, réparation tissulaire, vascularisation de l'utérus gravide et cicatrisation (**Méjean & Lebret 2010**), mais il existe également des vascularisations anarchiques non souhaitées comme dans les cancers et dans la rétinopathie proliférative (**Lacroix & Desormais 2015**).

Ce processus implique le mouvement et la différenciation des cellules endothéliales et non endothéliales (péricytes, cellules musculaires lisses), dont le résultat final est la morphogenèse d'un arbre vasculaire complexe et multifonctionnel (**Pepper, 2000**). L'angiogenèse est indispensable à la croissance tumorale et à la diffusion métastatique. Étape clé et fondamentale, on la retrouve au début du processus de tumorigenèse et à celui de l'implantation métastatique (**Méjean & Lebret 2010**).

La régulation de l'angiogenèse en condition physiologique s'établit par un équilibre entre les facteurs stimulant l'angiogenèse appelés pro-angiogéniques (VEGF, PDGF, FGF...) et ceux qui l'inhibent appelés anti-angiogéniques (angiostatine, thrombospondine...) (Lataillade et al., 2010).

1.3.1. Cellules endothéliales

Les cellules endothéliales jouent un rôle déterminant dans l'angiogenèse (Coultas et al., 2005). Ces cellules, qui forment la paroi cellulaire interne des vaisseaux sanguins et lymphatiques, présentent une remarquable hétérogénéité de structure et de fonction (Aird, 2007). Elles sont étroitement reliées entre elles par des jonctions cellulaires spécialisées (Azzi & Gavard 2014). En effet, le corps humain contient approximativement 10^{13} cellules endothéliales représentant un poids estimé à 1 kg et couvrant une surface de 4000 à 7000 m² (Huet & Duranteau 2008). Chez l'adulte, la majorité des cellules endothéliales demeurent dans un état de quiescence (Treppe & Gavard 2015). Le temps de renouvellement de ces cellules est de 1 000 jours.

Les cellules endothéliales sont les cellules dont la demi-vie est la plus longue après les cellules nerveuses, et peuvent proliférer aussi rapidement que les cellules de la moelle osseuse, qui ont un temps de renouvellement de 5 jours. Sous l'effet de stimulations par des facteurs angiogéniques, les cellules endothéliales peuvent entrer dans le cycle cellulaire et dégrader la membrane basale. Elles peuvent s'organiser en capillaires dans le stroma périvasculaire, induire la différenciation de cellules mésenchymateuses en péricytes pour former de nouveaux vaisseaux fonctionnels adaptés à leur microenvironnement tissulaire (André et al., 1998). La cellule endothéliale est une cellule à part entière de la réaction inflammatoire, ayant une fonction de cellule présentatrice d'antigène, participant à la diapédèse des cellules inflammatoires et produisant des médiateurs pro-inflammatoires (Weber & De Bandt 2000).

2. Mécanisme cellulaire et moléculaire de l'angiogenèse physiologique

L'angiogenèse ou néovascularisation est un terme qui résume les étapes par lesquelles des nouveaux vaisseaux sanguins vont se développer à partir d'une structure endothéliale préexistant. Le fonctionnement normal d'un tissu dépend de ses capacités à se fournir en oxygène à partir des vaisseaux sanguins. Comprendre la formation des vaisseaux sanguins est un objectif important dans cette dernière décade. Une bonne connaissance de ces mécanismes

offrirait des options thérapeutiques permettant d'améliorer, voire de guérir certaines maladies qui sont les causes majeures de mortalité (**Couffinhal et al., 2001**).

Trois mécanismes sont à l'origine de la formation de nouveaux vaisseaux sanguins : le bourgeonnement des vaisseaux préexistants vers des stimuli angiogéniques (sprouting), la division en vaisseaux secondaires par invagination des parois ou l'intussusception (splitting), et la division des vaisseaux préexistants par insertion de colonnes interstitielles dans leur lumière (bridging). L'angiogenèse par bourgeonnement est le mécanisme le mieux défini (**Thai , 2013**), il consiste en 4 étapes successives (**Treps & Gavard, 2015**).

2.1. La sélection

Le processus est initié par une étape de sélection et d'activation de cellules endothéliales (**Yassine, 2014**), déclenchée par la stimulation exogène de facteurs pro angiogéniques, tels que le VEGF ou le FGF (fibroblast growth factor), sécrétés par exemple par des cellules tumorales et/ou des cellules immunitaires infiltrant une tumeur (**Garrido-Urbani, Jaquet et al. 2014**), se lient à leurs récepteurs et induisent une dilatation et une augmentation de la perméabilité vasculaire (**Yassine, 2014**). Une cellule endothéliale du front (tip cell) est sélectionnée pour guider la formation du nouveau vaisseau. Et des cellules de soutien (stalk cells) qui prolifèrent en arrière. En conséquence, la matrice extracellulaire et la membrane basale entourant les cellules endothéliales sont dégradées par L'Ang-2 (Angiopoïétine-2) et des protéases activées localement, comme les MMP (matrix metalloproteinase) et permettre la migration des cellules endothéliales sous-jacentes (**Azzi & Gavard 2014**).

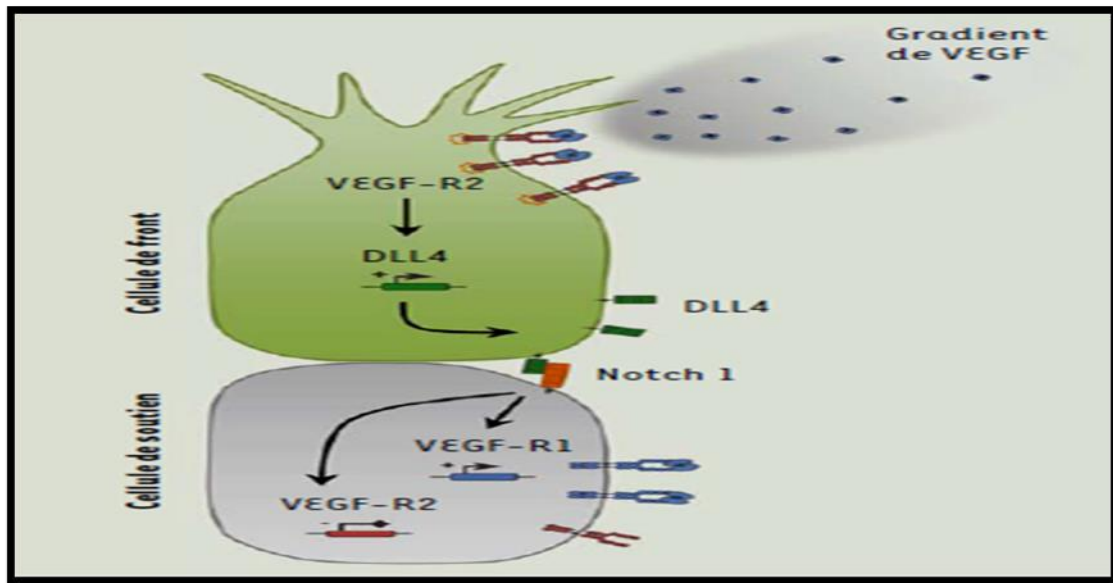


Figure 3 :Les mécanismes moléculaires de sélection de la cellule de front (Treps & Gavard, 2015).

2.2. 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. L'acquisition de cette capacité de migration repose sur un affaiblissement des interactions entre cellules endothéliales et une dégradation de la matrice extracellulaire, tout en maintenant une certaine intégrité du vaisseau (Treps & Gavard, 2015). Cela va permettre aux cellules endothéliales, aux péricytes et aux cellules musculaires lisses vasculaires de se détacher et de migrer vers les stimuli angiogéniques (Figure 4) (Carmeliet & Jain 2000).

2.3. La fusion et la formation de la lumière

La formation de lumière dans ces bourgeons mène à la formation de « boucles capillaires » suivie de la synthèse d'une nouvelle membrane basale (Szekanecz et al., 2010), et recrutent des cellules périvasculaires, telles que les cellules musculaires lisses (CML) et péricytes, résultant ainsi en de nouveaux Vaisseaux (Mandriota & Pepper 1998). Ces événements sont la conséquence d'une diminution locale de l'expression/activité de VEGF et d'Ang2, probablement due à une augmentation de l'activité de TGF- β (Transforming growth factor- β). Ou à la réduction de l'hypoxie, ce qui rétablit le signal d'Ang1 (Angiopoïétine-1) (Pepper, 2000). 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 (Wacker & Gerhardt, 2011).

2.4. la maturation et le flux sanguin

Cette phase a pour but de reconstituer une membrane basale autour des nouveaux capillaires et de leur assurer une couverture péricytaire qui permettra aux cellules endothéliales de survivre plusieurs mois dans un état de quiescence. Le PDGFB, le TGF β , l'Ang- 1 sont considérés comme acteurs majeurs de cette phase de maturation (Yassine,2014), permettent de stabiliser le nouveau vaisseau par inhibition de la prolifération (Garrido-Urbani et al., 2014), et induit le renforcement des jonctions entre les cellules endothéliales ainsi que leur quiescence (Treps & Gavard, 2015). Un gradient de PDGF-BB (platelet-derived growth factor) et de TGF- β 1 (transforming growth factor β 1) 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 4).

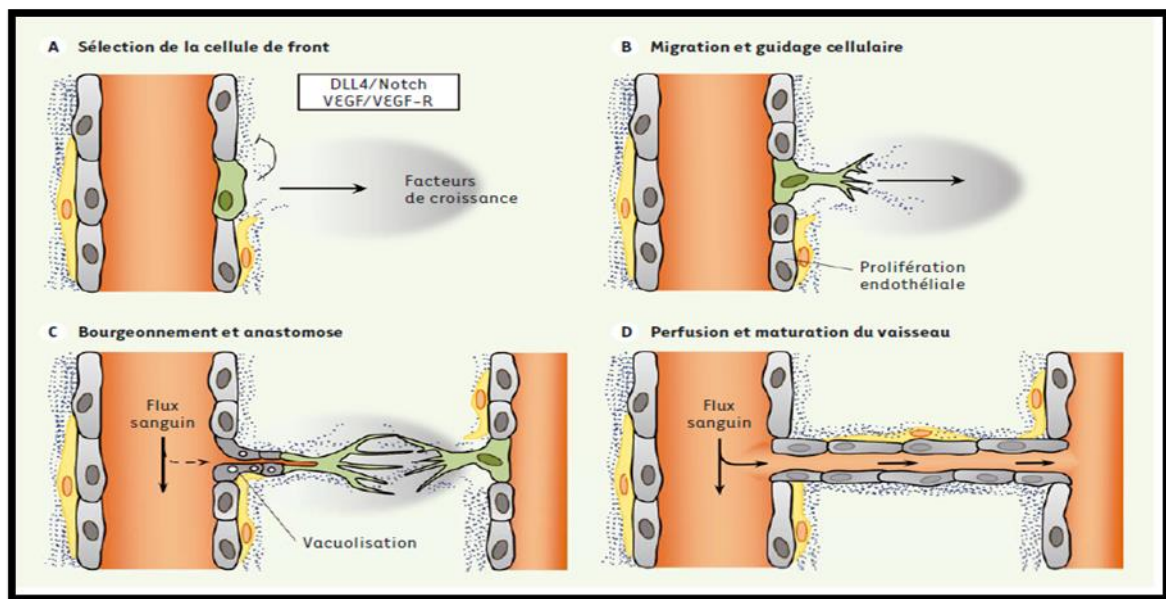


Figure 4 : Les étapes de l'angiogenèse normale (Treps et Gavard, 2015).

3. Médiateurs de l'angiogenèse

3.1. Les activateurs de l'angiogenèse

➤ Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF)

La superfamille des VEGF, qui signifie facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire, comprend cinq molécules (VEGF-A à VEGF-E) qui sont homologues et apparentées sur le plan structurel au facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) et au facteur de croissance placentaire (PlGF). Ces facteurs sont impliqués dans la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, un processus appelé angiogenèse. Les VEGF stimulent la prolifération et la migration des cellules endothéliales, qui tapissent l'intérieur des vaisseaux sanguins, ainsi que la formation de tubes capillaires *in vitro*. Ils jouent un rôle essentiel dans le développement vasculaire durant l'embryogenèse, c'est-à-dire la formation de l'embryon à partir de l'œuf fécondé (**Couffinhal et al., 2001**) et dans la néoangiogenèse associée aux tumeurs, c'est-à-dire la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui alimentent les cellules cancéreuses (**Halimi et al., 2008**).

➤ bFGF (Facteur de croissance basique des fibroblastes)

Selon **Pepper et al. (2001)**, le bFGF est un facteur angiogénique puissant. L'action du bFGF sur les cellules endothéliales implique l'activation des voies Src et Ras, qui régulent la différenciation et la survie cellulaires. Le bFGF augmente également l'expression du VEGF dans les cellules musculaires lisses vasculaires. Le VEGF renforce les effets du bFGF sur les cellules endothéliales en augmentant leur prolifération, leur migration et leur perméabilité. Dans les situations physiologiques, le bFGF est produit par plusieurs types de cellules, notamment:

- Les fibroblastes, qui sont des cellules du tissu conjonctif qui sécrètent la matrice extracellulaire et le collagène (**Ornitz & Itoh, 2015**). Le bFGF est impliqué dans la cicatrisation des plaies cutanées et la formation de cicatrices en activant les fibroblastes (**Werner & Grose, 2003**).
- Les cellules endothéliales, qui sont les cellules qui tapissent la surface interne des vaisseaux sanguins et lymphatiques (**Ornitz & Itoh, 2015**). Le bFGF favorise l'angiogenèse

et la vasculogénèse en stimulant la migration et la prolifération des cellules endothéliales (**Presta et al., 2005**).

- Les cellules souches neurales, qui sont les cellules capables de générer des neurones et des cellules gliales dans le système nerveux central (**Reuss et al., 2003**). Le bFGF régule la neurogénèse et la neuroprotection en modulant la survie et la différenciation des cellules souches neurales (**Lim et al., 2000**).

- Les chondrocytes, qui sont les cellules qui produisent et maintiennent le cartilage (**Kawaguchi et al., 2005**). Le bFGF améliore la réparation et la régénération du cartilage en induisant la prolifération des chondrocytes et la synthèse de la matrice (**Kawaguchi et al., 2005**).

- Dans les situations pathologiques, le bFGF est produit par des cellules anormales telles que:

- Les cellules tumorales, où le bFGF contribue à la croissance et à l'invasion tumorale en stimulant l'angiogénèse tumorale et la motilité cellulaire (**Ornitz & Itoh, 2015**).

- Les cellules de cicatrisation des plaies, qui sont les cellules qui migrent et prolifèrent pour réparer les tissus endommagés (**Ornitz & Itoh, 2015**). Par exemple, le bFGF accélère la cicatrisation des plaies chez les patients diabétiques en améliorant la formation de tissu de granulation et la ré-épithélialisation (**Ueno et al., 1998**).

- Les cellules inflammatoires, qui sont les cellules qui répondent à l'infection ou à une blessure en libérant des cytokines et des chimiokines (**Ornitz & Itoh, 2015**). Par exemple, le bFGF médie l'inflammation et la fibrose dans les maladies chroniques du foie en activant les cellules étoilées hépatiques et les macrophages (**Pinzani et al., 1996**).

➤ PD-ECGF

Le facteur de croissance des cellules endothéliales dérivé des plaquettes (PDECGF), également connu sous le nom de thymidine phosphorylase, est un facteur angiogénique tumoral impliqué dans plusieurs types de cancer, tels que le cancer du sein, de l'estomac, du côlon et de la tête et du cou (**Takeda et al., 2002**).

➤ HGF

Le facteur de croissance des hépatocytes (HGF) est le mitogène le plus puissant pour les hépatocytes matures (**Okano et al., 1999**), mais il agit aussi sur d'autres types de cellules,

notamment les cellules endothéliales (**Hilberg et al., 2008**). C'est une cytokine multifonctionnelle qui stimule puissamment l'angiogenèse, y compris la néovascularisation tumorale (**Iwasaki et al., 2002**).

➤ Autres facteurs de croissance

D'autres facteurs de croissance sont impliqués dans l'angiogenèse, parmi lesquels le facteur de croissance acide des fibroblastes (aFGF), ainsi que le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) non lié à l'héparine, le facteur de croissance épidermique (EGF), le facteur de croissance de type insuline-1 (IGF-1), le facteur de croissance des kératinocytes (KGF) et le facteur transformant- β (TGF- β) (**Szekanecz et al., 2010**).

3.2. Les inhibiteurs de l'angiogenèse

Les inhibiteurs endogènes de l'angiogenèse sont définis comme des protéines ou des fragments de protéines formés dans le corps et qui limitent la formation de vaisseaux sanguins. Ils peuvent être détectés dans la circulation sanguine, suggérant qu'ils fonctionnent dans la balance angiogénique en tant que régulateurs angiostatiques endogènes même dans des conditions physiologiques (**Ribatti, 2009**). Les cytokines angiostatiques inhibent la sécrétion de médiateurs angiogéniques et bloquent ainsi indirectement la néovascularisation (**Szekanecz et al., 2010**). En plus de cela, elles suppriment la prolifération et la migration des cellules endothéliales. Parmi ces molécules, on retrouve l'angiostatine, l'endostatine, l'antithrombine III, l'interféron- β , le leukemia inhibitory factor (LIF) et le facteur plaquettaire 4 (PF-4) (**Couffinhal et al., 2001**).

4. L'angiogenèse pathologique

Dans des conditions pathologiques, l'équilibre entre facteurs stimulateurs et inhibiteurs de l'angiogenèse peut être rompu, entraînant une croissance anormale des vaisseaux, ou au contraire une insuffisance vasculaire (**Lataillade et al., 2010**). Ceci correspond à des situations pathologiques variées telles que la rétinopathie diabétique (**Adamis et al., 1994**), le psoriasis (**Folkman, 1972**), les hémangiomes infantiles (**Weber & De Bandt, 2000**), la dégénérescence maculaire liée à l'âge, l'arthrite rhumatoïde (**Lataillade & Uzan, 2010**), et particulièrement les pathologies néoplasiques (**Folkman, 1985**).

5. Angiogenèse tumorale

L'angiogenèse tumorale est le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui fournissent de l'oxygène et des nutriments aux cellules tumorales, permettant leur

croissance et leur survie (**Folkman, 1971**). L'angiogenèse tumorale est essentielle pour la progression, l'invasion et la métastase des tumeurs. L'angiogenèse tumorale est régulée par une interaction complexe de facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques sécrétés par les cellules tumorales et les cellules du microenvironnement tumoral, telles que les cellules endothéliales, les fibroblastes, les cellules immunitaires et les cellules souches cancéreuses (**Folkman & Klagsbrun, 1987**). Parmi ces facteurs, le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) est le facteur angiogénique le plus puissant et le plus étudié qui se lie à des récepteurs spécifiques sur les cellules endothéliales et active des voies de signalisation qui favorisent leur prolifération, leur migration et leur survie (**Lugano et al., 2020**).

L'angiogenèse tumorale peut se produire par différents mécanismes, en fonction du type de tumeur, de son emplacement et de son stade. Ces mécanismes comprennent l'angiogenèse par bourgeonnement, l'angiogenèse intussusceptive, la mimique vasculogénique, la cooptation des vaisseaux et la transdifférenciation (**Lugano et al., 2020**). L'angiogenèse par bourgeonnement est le mécanisme le plus courant, dans lequel de nouveaux capillaires bourgeonnent à partir de vaisseaux existants en réponse à un gradient de facteurs pro-angiogéniques. L'angiogenèse intussusceptive est la formation de nouveaux vaisseaux en divisant les vaisseaux existants par l'insertion de colonnes de tissu interstitiel. La mimique vasculogénique est la capacité de certaines cellules tumorales à former des structures ressemblant à des vaisseaux qui imitent les cellules endothéliales et fournissent une voie alternative pour l'écoulement sanguin. La cooptation des vaisseaux est l'incorporation de vaisseaux préexistants du tissu environnant dans la masse tumorale. La transdifférenciation est la conversion de cellules non endothéliales, telles que des progéniteurs ou des cellules souches cancéreuses, en cellules ressemblant à des endothéliales qui contribuent à l'angiogenèse tumorale. REFRNC

L'angiogenèse tumorale est une cible prometteuse pour la thérapie contre le cancer, car elle peut potentiellement inhiber la croissance tumorale et sensibiliser les tumeurs à d'autres traitements (**Hurwitz et al., 2004**). Plusieurs agents anti-angiogéniques ont été développés et approuvés pour un usage clinique, ciblant principalement la voie VEGF. Ces agents comprennent des anticorps monoclonaux qui bloquent le VEGF ou ses récepteurs, des inhibiteurs de petites molécules qui interfèrent avec l'activité kinase des récepteurs VEGF et des protéines de fusion qui piègent le VEGF ou d'autres facteurs pro-angiogéniques. Cependant, l'efficacité clinique de la thérapie anti-angiogénique a été limitée par plusieurs défis, tels que l'hétérogénéité tumorale, la résistance adaptative, la toxicité et le manque de

biomarqueurs. Par conséquent, davantage de recherches sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et la dynamique de l'angiogenèse tumorale et pour identifier de nouvelles cibles et stratégies pour un ciblage vasculaire efficace (Lugano et al., 2020).

5.1. Structure et caractéristiques des vaisseaux tumoraux

Les vaisseaux tumoraux diffèrent des vaisseaux normaux à plusieurs niveaux. Morphologiquement, les vaisseaux tumoraux sont hétérogènes, dilatés et irréguliers, perméables et désorganisés (Azzi & Gavard, 2014). Le VEGF est un effecteur central de la perméabilité vasculaire (Gavard & Gutkind, 2007). L'exposition des lymphocytes B à ce dernier déclenche un signal qui se traduit par l'internalisation de la VE-cadhérine, le désassemblage des jonctions cellulaires, entraînant une augmentation de la perméabilité (Gavard & Gutkind, 2006).

A. Les cellules endothéliales tapissent la paroi des vaisseaux et sont étroitement reliées entre elles par des jonctions cellule-cellule. Elles forment, en interaction avec les péricytes et la matrice basale, une barrière qui régule finement le passage des fluides et des macromolécules. B. Dans un contexte tumoral, la perte de l'intégrité des jonctions cellulaires contribue au dysfonctionnement de la barrière endothéliale et à une perméabilité accrue. Les vaisseaux sanguins sont dépourvus de péricytes, dilatés, irréguliers et désorganisés (Siemann, 2011). C. La morphologie globale de l'arbre vasculaire, qui suit une organisation stéréotypée dans les vaisseaux normaux, se caractérise par un profil aberrant des vaisseaux tumoraux.

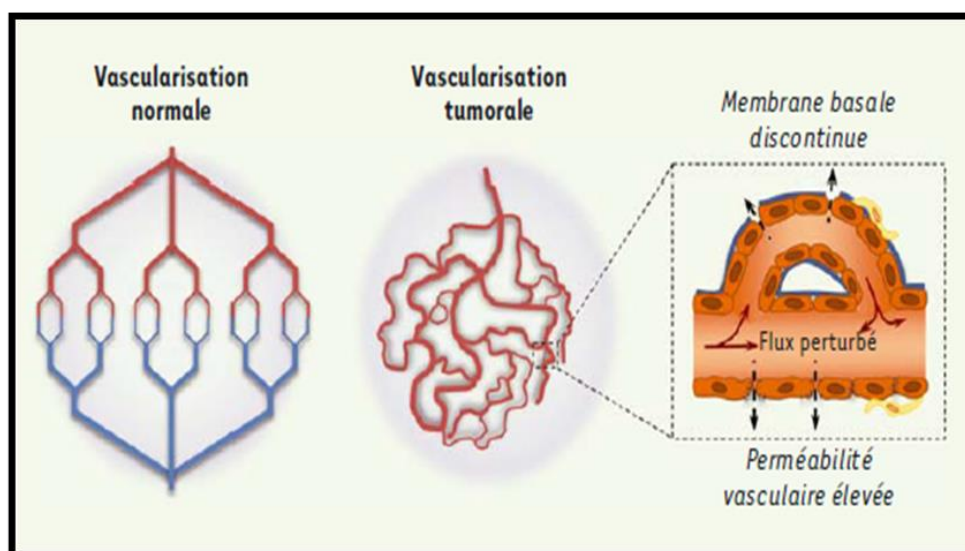


Figure 5 : L'organisation générale d'un réseau vasculaire normal et tumoraux (Treps & Gavard, 2015).

5.2. Événements moléculaires à l'origine de l'angiogenèse tumorale

5.2.1. Rôle de l'hypoxie

L'hypoxie est un manque d'apport d'oxygène aux tissus du corps, cela peut arriver en raison des maladies respiratoires chroniques, insuffisances cardiaque, anémie sévère hémorragie, un séjour en altitude **(Nicard, 2017)**. L'hypoxie tumorale est considérée comme une caractéristique majeure du microenvironnement des tumeurs solides **(Hasmim et al., 2014)**. Elle se traduit par une baisse de la pression en oxygène au-dessous de 5 à 10 mm Hg. L'hypoxie est un facteur adaptogène des cellules tumorales, permettant la stabilisation des facteurs de transcription induits par l'hypoxie, essentiellement HIF-1 (hypoxia-inducible factor)-1 et HIF-2. Les HIF sont des protéines hétérodimériques, composées d'une sous-unité constitutivement exprimée, HIF- β , et d'une sous-unité régulée par l'oxygène, HIF- α **(Hasmim et al., 2014)**.

En présence d'oxygène, HIF- α est hydroxylée sur ses résidus proline 402 et/ou 564 par la prolyl-hydroxylase domain 2 (PHD2), ce qui entraîne son interaction avec la protéine suppressive de tumeur von Hippel-Lindau (pVHL). pVHL recrute l'enzyme E3 ubiquitine ligase responsable de la poly-ubiquitination de HIF- α et de sa dégradation via le protéasome **(Hasmim et al., 2014)**. Le Von Hippel-Lindau (pVHL) joue le rôle de la transmission et du traitement des protéines qui couple à HIF-1 α est donc ubiquitinylé en normoxie puis dégradé par le protéasome **(Gothié & Pouyssegur, 2002)**.

En conditions hypoxiques, l'hydroxylation par les PHD est inhibée, HIF- α s'accumule et forme un dimère avec la sous-unité HIF- β . HIF-1 et HIF-2 activent plusieurs gènes impliqués dans l'angiogenèse tumorale, l'inhibition de l'apoptose, les métastases, la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) et la résistance aux traitements conventionnels, ce qui fait de l'hypoxie tumorale un facteur de mauvais pronostic **(Hasmim et al., 2014)**.

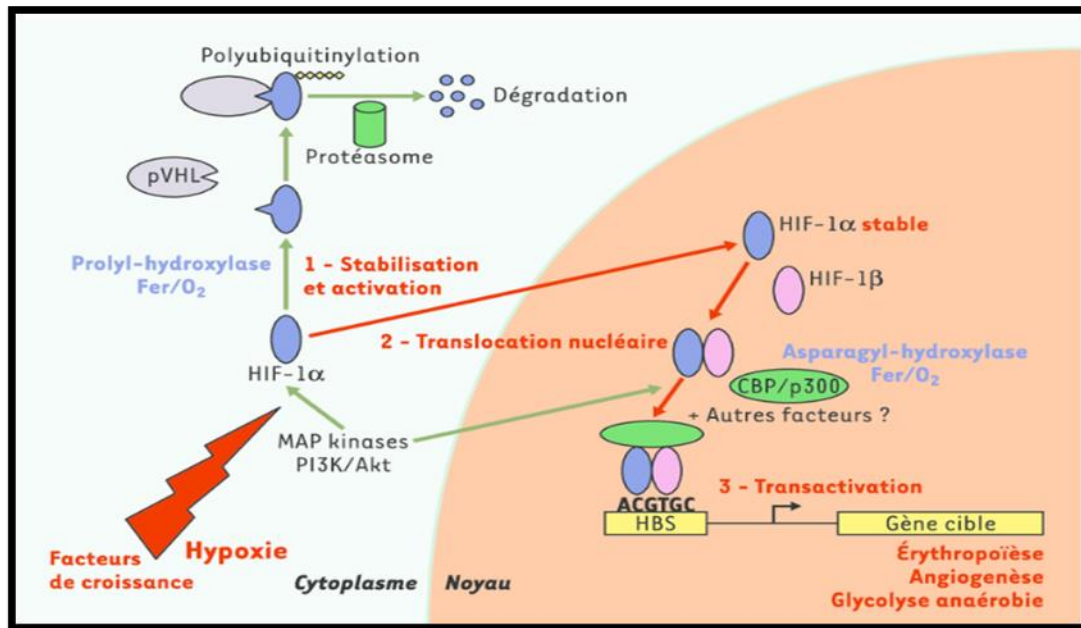


Figure 6 : Régulation de l'activité de la protéine HIF-1 α par la concentration intracellulaire en oxygène (Pillet & Le Guyader 2005).

5.2.2. Le microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral est l'ensemble des facteurs moléculaires, cellulaires et tissulaires capables d'influencer ou d'être influencés par les cellules tumorales (**Provot, 2014**). On le trouve dans tous les types de cancers solides, en particulier dans leurs métastases, et c'est le véritable tissu nourricier qui soutient les cellules cancéreuses pour être dans un cadre conjonctif vasculaire. Il comprend divers types cellulaires; Ces différents types cellulaires secrètent différents facteurs comme VEGF, FGF, facteur de nécrose tumoral (TNF α), facteur de croissance placentaire (PLGF),... qui jouent un rôle primordial dans le processus angiogénique (**Fridman & Sautès-Fridman, 2014**).

Le stroma est schématiquement composé: de fibroblastes, d'adipocytes, de sang, de vaisseaux lymphatiques, d'une matrice extracellulaire (MEC), de néovaisseaux formés lors de l'angiogenèse tumorale, des cellules inflammatoires et immunocompétentes: lymphocytes, cellules NK, plasmocytes, histiocytes, polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles et macrophages (**Méjean & Lebreton, 2010**).

Grâce aux interactions qui se produisent entre les cellules cancéreuses et le tissu environnant au cours de la progression tumorale, les cellules cancéreuses peuvent modifier leur microenvironnement pour bénéficier et faciliter la croissance, la migration de ces cellules

et l'invasion tumorale (**Albregues et al., 2014**). Les cellules immunitaires infiltrées (notamment les cellules myéloïdes et lymphoïdes inflammatoires) influencent aussi fortement la prolifération en sécrétant une panoplie de facteurs EGF(epidermal growth factor), TGF (transforming growth factor), TNF- α (tumor necrosis factor), FGF (fibroblast growth factors), interleukines, etc...(Provot, 2014).

Les fibroblastes constituent la population cellulaire la plus abondante du stroma. Dans le contexte des tumeurs épithéliales, nombre d'entre eux sont dans un état activé avec une caractéristique de « fibroblastes associés aux carcinomes » (FAC). Ils dérivent majoritairement de fibroblastes résidents adjacents à la tumeur ou encore de cellules mésenchymateuses. En effet, il est maintenant établi qu'après leur activation par les cellules tumorales, les FAC émettent des signaux oncogéniques qu'il s'agisse de la sécrétion de cytokines, de chimiokines et de facteurs de croissance ou de la constitution d'une MEC pro tumorale. Ces signaux provoquent le développement de tumeurs en ciblant les cellules cancéreuses (**Albregues et al., 2014**).

Les adipocytes sécrètent des molécules pro-inflammatoires qui favorisent le remodelage de la matrice extracellulaire et sécrètent des acides gras qui facilitent la croissance tumorale. Ces interactions contribuent de manière significative à l'augmentation de l'activité cancéreuse en particulier chez les personnes obèses (**Fridman & Sautès-Fridman, 2014**).

La MEC est la composante non cellulaire du stroma. Elle est constituée principalement d'un grand nombre de protéines de grandes tailles telles que les collagènes les laminines les fibronectines et les protéoglycanes qui forment un réseau dense. C'est aussi un substrat qui facilite les mouvements cellulaires et forme des canaux de communication entre les cellules. Ces fibres apportent élasticité et résistance au tissu (**Kalluri, 2003**). Il contrôle la plupart des comportements cellulaires et est donc impliqué dans la plupart des processus physiologiques et des états pathologiques (**Mongiat et al., 2016**).

5.3. Rôle de l'angiogenèse dans la progression tumorale et la métastase

Les métastases sont une caractéristique majeure des cancers et la principale cause de leur mortalité. Les tumeurs bénignes ne mettent pas en danger la vie du patient, même si elles atteignent un volume parfois impressionnant, alors que les métastases entraînent souvent la mort du patient (**Robert, 2014**). La survie et la prolifération des cellules tumorales métastatiques sont associées à une augmentation des réseaux vasculaires et à des échanges

biologiques de nutriments et d'oxygène assurés par le sang et la lymphe (Leclers et al., 2005). La production par les cellules cancéreuses de facteurs de croissance stimulant la formation de nouveaux vaisseaux lymphatiques constitue une des adaptations responsables de la dissémination métastatique (Rigaud & Sturtz, 2005). Au cours du développement tumoral, le système lymphatique est considéré dans de nombreux cas de cancers comme la voie principale de propagation des métastases (Vitte & Feige, 2007). Les tumeurs bénignes sont localisées et incapables de se propager car la couche épithéliale n'est pas vascularisée. Elles reçoivent leur oxygène et leurs nutriments par diffusion à partir de capillaires situés sous la membrane basale de la couche épithéliale. In vivo, les tumeurs ne peuvent pas se développer au-delà de la limite de diffusion des nutriments du capillaire le plus proche, sauf si de nouveaux vaisseaux sanguins se forment vers la tumeur (Bielenberg & Zetter, 2015).

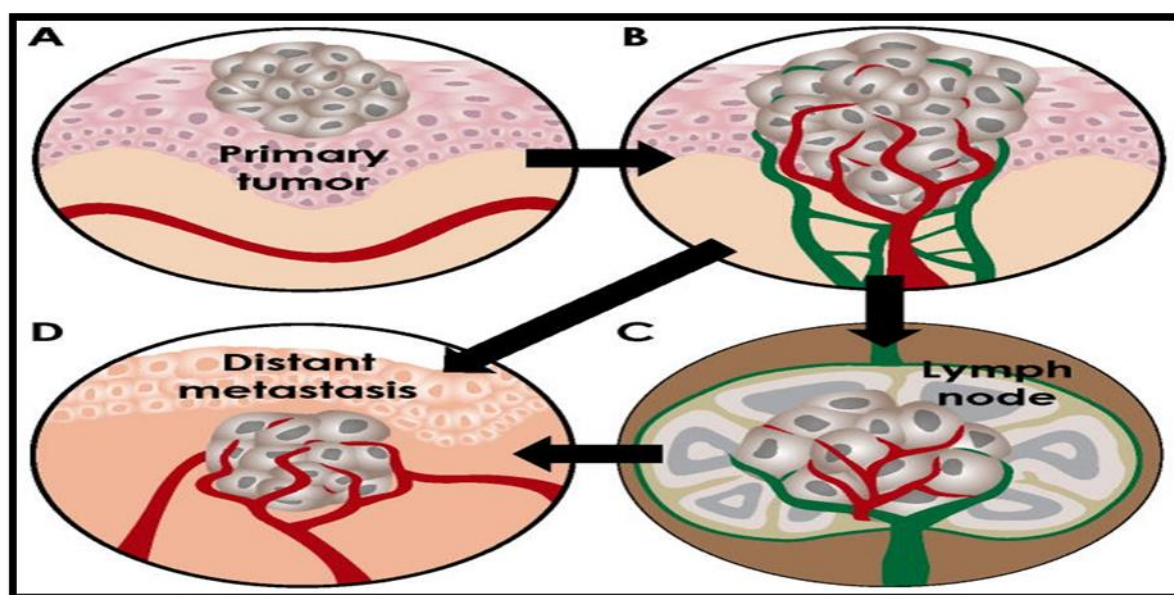


Figure 7 : Angiogenèse et métastase (Bielenberg & Zetter, 2015).

5.4. La thérapie antiangiogénique

La Food and Drug Administration (FDA) a approuvé la mise sur le marché d'un médicament nommé Avastin, qui est le premier médicament anti-angiogénique (Drugs.com, 2023). Ce médicament est basé sur l'hypothèse formulée par Judah Folkman en 1971, qui proposait d'utiliser des anti-angiogéniques pour bloquer la croissance des vaisseaux sanguins qui alimentent les tumeurs cancéreuses (Folkman, 1971). Avastin est un anticorps monoclonal qui se lie à un facteur de croissance appelé VEGF (vascular endothelial growth factor) et qui empêche la formation de nouveaux vaisseaux sanguins autour des tumeurs

(Cancer Research UK, n.d.; Clinical Trials Arena, 2014). Actuellement, grâce à une meilleure identification des facteurs impliqués, un grand nombre d'inhibiteurs de l'angiogenèse ont été identifiés.

5.4.1. Inhibiteurs des VEGF et récepteurs des VEGF

5.4.1.1. Le bevacizumab (Avastin®) :

Le bevacizumab est un anticorps monoclonal recombinant de type IgG1 (Immunoglobuline G1) qui se lie au facteur de croissance endothélial vasculaire A (VEGF-A), une protéine qui stimule l'angiogenèse dans diverses maladies, notamment le cancer (Wikipedia, n.d.). En bloquant le VEGF-A, le bevacizumab inhibe la formation de nouveaux vaisseaux sanguins autour des tumeurs et ralentit leur croissance et leur dissémination (StatPearls, 2022; Nature, 2022). Ce médicament est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement de plusieurs types de cancers (colorectal, rein, sein, poumon, cerveau, col de l'utérus, ovaire, tube de Fallope, péritoine et foie) en association avec d'autres agents chimiothérapeutiques (Drugs.com, 2023). Il s'inspire de l'hypothèse formulée par Judah Folkman en 1971, qui suggérait d'utiliser des anti-angiogéniques pour empêcher le développement d'un réseau vasculaire nécessaire à la survie et à l'expansion des tumeurs (Folkman, 1971). Actuellement, grâce à une meilleure identification des facteurs impliqués, un grand nombre d'inhibiteurs de l'angiogenèse ont été identifiés.

5.4.2. Inhibiteurs des récepteurs tyrosine kinase (VEGFRs)

Pour bloquer l'angiogenèse tumorale et cibler directement le domaine kinase des récepteurs impliqués dans la régulation de l'angiogenèse, plusieurs méthodes et inhibiteurs peuvent être envisagés, notamment :

5.4.2.1. Le sunitinib (SutentR_) :

Le sunitinib est un inhibiteur des kinases à tyrosine qui cible spécifiquement les récepteurs du VEGF-A, du PDGFR-alpha (Platelet-derived growth factor receptor- α), du PDGFR-beta (Platelet-derived growth factor receptor- β) et du KIT (Stem cell growth factor receptor) (Papaetis & Syrigos, 2009). Il agit en bloquant la phosphorylation de ces récepteurs et en inhibant ainsi les processus intracellulaires impliqués dans la croissance cellulaire, la progression tumorale et l'angiogenèse (El Mesbahia et al., 2011; Belmondo et al., 2012). Le sunitinib est une thérapie anti-angiogénique qui empêche le développement d'un réseau vasculaire nécessaire à la survie et à l'expansion des tumeurs (Faivre et al., 2007).

5.4.2.2. Le sorafenib (Nexavar®) :

Le sorafenib est un inhibiteur des kinases à tyrosine qui cible plusieurs récepteurs impliqués dans l'angiogenèse et la tumorigenèse, tels que le VEGFR-2, le VEGFR-3, le c-KIT, le FLT-3 et le PDGFR-bêta (El Mesbahia et al., 2011; Papaetis & Syrigos, 2009). Il agit en bloquant l'activation de ces récepteurs et en inhibant ainsi les voies de signalisation intracellulaires qui régulent la croissance cellulaire, la progression tumorale et l'angiogenèse (Nature, 2022; Hasskarl, 2007). Le sorafenib est également un inhibiteur des enzymes Raf (Rapidly Accelerated Fibrosarcoma), qui sont impliquées dans la prolifération cellulaire de certaines tumeurs (Bennis et al., 2010).

5.4.2.3. Le pazopanib :

Le pazopanib est un inhibiteur des kinases à tyrosine qui cible le VEGFR-1, le VEGFR-2, le VEGFR-3, le PDGFR-alpha, le PDGFR-bêta et d'autres récepteurs impliqués dans l'angiogenèse et la tumorigenèse (Lattafi et al., 2016; Nature, 2019). Il agit en bloquant l'activation de ces récepteurs et en inhibant ainsi la formation de nouveaux vaisseaux sanguins autour des tumeurs et leur croissance (Nature, 2019; Hasskarl, 2007). Il est utilisé comme traitement de première ligne dans le cancer du rein avancé (Bretagne et al., 2016).

5.4.3. Inhibiteurs de protéases

La matrice extracellulaire (MEC) fournit une structure de soutien aux parois des vaisseaux sanguins et à leurs fonctions. Les parois des vaisseaux sanguins sont exposées à diverses protéases qui peuvent dégrader la MEC (Jacob et al., 2001). Pour prévenir la détérioration de la MEC et la migration des cellules endothéliales, qui favorisent l'angiogenèse, il faut l'intervention d'inhibiteurs de protéases. Parmi ces inhibiteurs, les plus importants sont les inhibiteurs tissulaires des métalloprotéinases matricielles (TIMP), qui empêchent l'activité des métalloprotéinases matricielles (MMP) (André et al., 1998). Plusieurs de ces inhibiteurs sont en cours de développement pour le traitement de l'angiogenèse pathologique.

5.5. Les avantages de la thérapie antiangiogénique

Au cours des dernières années, des progrès remarquables ont été réalisés dans le traitement des maladies néoplasiques. Parmi les stratégies thérapeutiques modernes les plus importantes, la prévention de l'angiogenèse a fait l'objet de nombreux essais (Bidart et al., 2013), où des agents anti-angiogéniques ont été utilisés pour normaliser les vaisseaux sanguins tumoraux et faciliter ainsi l'accès des agents thérapeutiques aux tumeurs (Bidart et

al., 2013). Ces agents anti-angiogéniques visent à réduire l'apport en oxygène et en nutriments aux cellules tumorales en inhibant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (NCI, n.d.). Ils peuvent agir en se liant à des facteurs de croissance comme le VEGF ou en bloquant les récepteurs tyrosine kinases impliqués dans l'angiogenèse (Cancer Research UK, n.d.). Ces agents anti-angiogéniques peuvent améliorer l'efficacité de la chimiothérapie en augmentant la pénétration des médicaments cytotoxiques dans les tissus (Bennis et al., 2010).

5.6. Toxicité des antiangiogéniques

La thérapie anti-angiogénique est l'un des développements les plus importants qui a révolutionné le domaine de l'oncologie au cours des dernières années (ElMasbahi et al., 2011). Cette stratégie thérapeutique vise à priver les cellules tumorales de l'apport en oxygène et en nutriments dont elles ont besoin pour se développer et se disséminer, en inhibant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins autour des tumeurs (Bidart et al., 2013). Ces thérapies anti-angiogéniques ont amélioré le pronostic des patients atteints de différents types de cancers, notamment le cancer du sein, du côlon, du rein et du poumon (NCI, n.d.). Cependant, ces thérapies présentent également des défis et des limites, tels que la toxicité, la résistance tumorale et les effets sur le système immunitaire (Bennis et al., 2010; Nature, 2021). De plus, ces thérapies ne sont pas efficaces pour tous les patients ni pour tous les types de cancers. Par conséquent, il est nécessaire de développer de nouveaux agents anti-angiogéniques plus spécifiques et plus sûrs, ainsi que de définir des biomarqueurs prédictifs de la réponse au traitement (Frontiers, 2020).

5.6.1. Atteintes cardio-vasculaires :

L'HTA (L'hypertension artérielle) est une toxicité commune à tous les antiangiogéniques quelle que soit leur classe (Brosseau et al., 2015), il a été l'effet indésirable le plus fréquemment observé chez les patients traités par antiangiogéniques (Bennis et al., 2010). L'hypertension artérielle est un facteur de risque de lésion rénale (Jesus-Gonzalez et al., 2012). Ça pourrait être causée par un déséquilibre entre les agents vasodilatateurs et vasoconstricteurs, tels que l'oxyde nitrique (NO) et l'endothéline-1 (ET-1), respectivement (Des Guetz et al., 2011). Les médicaments anti-angiogéniques peuvent réduire l'expression et l'activité de la NO synthase endothéliale (eNOS), ce qui entraîne une diminution de la production de NO et contribue aux toxicités vasculaires (Jesus-Gonzalez et al., 2011). De plus, les médicaments anti-angiogéniques peuvent augmenter l'expression et la

sécrétion de l'ET-1, qui est un puissant vasoconstricteur et un médiateur pro-inflammatoire **(Des Guetz et al., 2011)**.

Ces médicaments peuvent aussi avoir une microangiopathie thrombotique (MAT), qui est une condition rare mais grave caractérisée par une thrombose microvasculaire, une anémie hémolytique et une thrombocytopénie **(Neves et al., 2020)**. La MAT peut causer des dommages aux organes terminaux, tels que l'insuffisance rénale et l'accident vasculaire cérébral **(Neves et al., 2020)**.

5.6.2. Atteintes rénales

La thérapie anti-angiogénique peut provoquer une néphrotoxicité, c'est-à-dire une atteinte aux reins. La néphrotoxicité peut se manifester par une hypertension artérielle, une protéinurie, une dysfonction rénale ou une microangiopathie thrombotique (MAT) **(Eremina et al., 2007)**. Les mécanismes de la néphrotoxicité ne sont pas entièrement élucidés, mais ils pourraient impliquer la perturbation de l'équilibre entre les facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques dans le microenvironnement rénal **(Kamba & McDonald, 2007)**. Certains facteurs de risque de développer une néphrotoxicité sont l'altération rénale préexistante, le diabète sucré, l'hypertension artérielle et l'utilisation concomitante d'autres agents néphrotoxiques **(Rini et al., 2009)**. La néphrotoxicité peut être prévenue ou prise en charge par une surveillance attentive de la pression artérielle, de la protéinurie et de la fonction rénale, ainsi que par un ajustement ou un arrêt de la thérapie anti-angiogénique si nécessaire **(Escudier et al., 2007)**.

5.6.3. Toxicité cutanéomuqueuse :

- La thérapie anti-angiogénique peut entraîner des effets secondaires cutanés et muqueux, qui peuvent affecter la qualité de vie des patients et limiter l'adhésion au traitement **(Ishak et al., 2014; Bodnar, 2014)**.
- Parmi les manifestations cutanées les plus fréquentes, on trouve la réaction cutanée main-pied (RCMP), qui se caractérise par des érythèmes, des vésicules, des fissures et des douleurs au niveau des paumes et des plantes **(Ishak et al., 2014; Healthline, 2021)**.
- D'autres manifestations cutanées possibles sont l'acnéiforme éruption, le prurit, le xérosis, les onychopathies et les ulcérations **(Ishak et al., 2014; Healthline, 2021)**.
- Les manifestations muqueuses comprennent la stomatite, la glossite, la dysphagie et la diarrhée **(Ishak et al., 2014; Healthline, 2021)**.

- Les mécanismes impliqués dans la toxicité cutanéomuqueuse de la thérapie anti-angiogénique ne sont pas entièrement élucidés, mais ils pourraient être liés à l'inhibition du VEGF et de ses récepteurs dans les cellules endothéliales cutanées et muqueuses, ce qui entraînerait une altération de la fonction barrière, une diminution de la perfusion tissulaire et une augmentation de l'inflammation (**Ishak et al., 2014; Bodnar, 2014**).
- La prise en charge de ces effets secondaires repose sur une évaluation régulière de la peau et des muqueuses des patients, ainsi que sur l'utilisation de mesures préventives et thérapeutiques adaptées à chaque cas (**Ishak et al., 2014; NCI, 2021**).

5.6.4. Autres effets secondaire :

Des risques d'hémorragies, des toxicités digestives (stomatite, nausées et vomissements, diarrhées), et de fatigue sont associés à la thérapie anti-angiogénique (**Neves et al., 2020**). Ces effets secondaires peuvent être dus à l'inhibition du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) ou de ses récepteurs, qui sont impliqués dans l'angiogenèse tumorale et la régulation de la perméabilité vasculaire (**Ishak et al., 2014; Armstrong et al., 2012**). Les hémorragies peuvent survenir chez les patients atteints de tumeurs cérébrales, mais le risque est faible en l'absence d'hémorragie intratumorale préexistante (**Armstrong et al., 2012**). Les toxicités digestives peuvent être gérées par une hydratation adéquate, des antidiarrhéiques, des antiémétiques et des ajustements de dose si nécessaire (**Armstrong et al., 2012; Ishak et al., 2014**). La fatigue peut être due à une anémie, une déshydratation ou une perte de poids, et peut être traitée par des transfusions sanguines, des suppléments nutritionnels ou des stimulants (**Ishak et al., 2014; Autier-Jolyon & Lacouture, 2019**).

*CHAPITRE III: Action des
produits naturels sur l'arbre
vasculaire : effet antiangiogénique
et activité perturbatrice des
vaisseaux sanguins du modèle
expérimental CAM*

1. Action des produits naturels sur l'arbre vasculaire : effet antiangiogénique et activité perturbatrice des vaisseaux sanguins

1.1. Effet antiangiogénique

Cette stratégie a pour but de bloquer la formation de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de ceux préexistants (**Folkman, 1971**). Selon Folkman, en empêchant l'angiogenèse, il est possible de priver les tumeurs de l'apport en nutriments et en oxygène dont elles ont besoin pour se développer.

Les plantes renferment de nombreux composés chimiques biologiquement actifs tels que l'ail, le curcuma, le gingembre et le thé vert, qui exercent différentes activités thérapeutiques: antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse et analgésique (**Koffi et al., 2022**). Ces molécules bioactives exercent leurs effets en agissant sur plusieurs voies de signalisation moléculaires qui inhibent la prolifération cellulaire, inhibent également la production des métalloprotéases induisant l'apoptose, exercent un effet cytotoxique ou agissent directement ou indirectement sur la régulation de certains gènes oncogènes. En entravant l'angiogenèse et donc les métastases (**Choukran & Debchi, 2022**). Ces plantes et leurs principaux dérivés inhibent soit le VEGF (tableau 03), soit la fonction de l'enzyme cyclo-oxygénase (COX) (l'une des enzymes actives les plus importantes dans la voie du processus d'angiogenèse) (tableau 04) (**Hoseinkhani et al., 2020**).

Tableau 2: 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
Taxus brevifolia (if du Pacifique)	Contient du taxol
Polygonum cuspidatum (renouée du Japon)	Contient 20% de resvératrol
Vsicum album (gui européen)	Contient de la lectine de gui III (ML3A)
Artemisia annua (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%
Vitis vinifera (extrait de pépins de raisin)	épigallocatechine

Scutellaria baicalensis (scutellaire chinoise)	Contient 95% de proanthocyanidines
Silybum marianum (chardon-Marie)	Contient 95% de baicaline et de flavonoïdes
Angelica sinensis (dong quai)	Contient 80% de silymarine (silybine)
	Contient de la 4-hydroxyderricine

Tableau 3: Les plantes et leurs principaux composés dérivés avec anti-COX effets
(Hoseinkhani et al., 2020).

Plants
Gingembre
Aloé vera
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

1.2. L'activité de perturbation des vaisseaux (VDA)

L'activité de perturbation des vaisseaux (VDA) est une approche thérapeutique qui cible la vascularisation tumorale et provoque la nécrose tumorale en altérant le flux sanguin

(Spear et al., 2011). Les agents VDA diffèrent des inhibiteurs de l'angiogenèse, qui empêchent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, en ce qu'ils attaquent les vaisseaux tumoraux existants qui sont souvent malformés et fragiles (Spear et al., 2011).

1.2.1. Types d'agents VDA

Les agents VDA peuvent être divisés en deux groupes: les petites molécules et les nanomédicaments. Les VDA à petites molécules, tels que le phosphate de combretastatine A4 (CA4P) et l'acide 5,6-diméthylxanthénone-4-acétique (DMXAA), interfèrent avec le cytosquelette des cellules endothéliales et induisent un effondrement vasculaire et une hémorragie (Siemann et al., 2011). Les VDA nanomédicaux, tels que les liposomes, les micelles, les nanoparticules et les nanobulles, délivrent des médicaments ou des stimuli physiques aux vaisseaux tumoraux et les endommagent par divers mécanismes, tels que le stress oxydatif, l'inflammation, la thrombose ou la cavitation (Wang et al., 2021).

1.2.2. Les bases scientifiques justifiant la thérapie VDA

Le raisonnement pour la thérapie VDA est basé sur les caractéristiques distinctives de la vascularisation tumorale qui la rendent différente de la vascularisation normale. Les vaisseaux tumoraux sont souvent tordus, irréguliers, fuyants et mal perfusés en raison du déséquilibre entre les facteurs pro- et anti-angiogéniques dans le microenvironnement tumoral. Ces caractéristiques rendent les vaisseaux tumoraux plus vulnérables à la perturbation induite par les VDA que les vaisseaux normaux, qui sont plus stables et matures. De plus, les vaisseaux tumoraux sont inégalement répartis dans la masse tumorale, créant des régions d'hypoxie et de privation de nutriments qui renforcent encore la sensibilité des cellules tumorales à la thérapie VDA. De plus, les vaisseaux tumoraux sont cruciaux pour la croissance, l'invasion et la métastase tumorales, car ils fournissent de l'oxygène, des nutriments et des voies de dissémination. Par conséquent, cibler la vascularisation tumorale avec des VDA peut potentiellement affecter plusieurs aspects de la progression tumorale (Magnussen & Mills, 2021).

1.2.3. Défis et limites de la thérapie VDA

Plusieurs agents VDA ont été évalués dans des modèles précliniques et certains ont entamé des essais cliniques. Cependant, la thérapie VDA fait face à certains défis et limites. Les VDA peuvent avoir des effets cardiotoxiques et peuvent induire des événements coronariens aigus et d'autres événements thrombotiques (Cooney et al., 2006). Les VDA

peuvent également provoquer des altérations de la pression artérielle, du rythme cardiaque, de la conduction ventriculaire, des bouffées de chaleur transitoires, des bouffées de chaleur, de la neuropathie et de la douleur tumorale (Cooney et al., 2006). De plus, les VDA peuvent laisser des cellules résiduelles viables à la périphérie de la tumeur qui peuvent repousser et provoquer une résistance (Tozer et al., 2005). Il est donc important d'optimiser la dose et le calendrier des VDA et de les combiner avec d'autres agents anti-cancer, tels que la chimiothérapie cytotoxique, la radiothérapie ou les agents antiangiogéniques (Tozer et al., 2005; Siemann et al., 2011).

2. Exploitation de l'effet irritable en tant que VDT (vascular disrupting therapy) des substances naturelles sur la membrane chorioallantoïdienne (CAM)

2.1. Définition de l'effet irritable

L'action irritante des substances sur les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) est un phénomène qui se produit lorsque certains produits chimiques ou médicaments provoquent une inflammation, une dilatation, une constriction ou des changements de perméabilité dans les capillaires et les veines de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) des embryons aviaires (Hohenstein). La CAM est une membrane extra-embryonnaire vascularisée qui sert de modèle pour étudier l'angiogenèse et les réponses vasculaires (Nowak-Sliwinska et al., 2014). L'action irritante des substances sur les vaisseaux sanguins de la CAM peut être mesurée par diverses méthodes, telles que la microscopie, l'analyse d'image, la spectrophotométrie ou l'histologie (Hohenstein). Différentes substances peuvent avoir des effets différents sur les vaisseaux sanguins de la CAM, en fonction de leur concentration, de la durée d'exposition et du mécanisme d'action (Nowak-Sliwinska et al., 2014).

2.2. L'induction de l'effet irritable par les produits naturels

Les produits naturels sont largement utilisés à diverses fins, telles que les cosmétiques, les additifs alimentaires et les produits pharmaceutiques. Cependant, certains produits naturels peuvent avoir des effets irritants sur les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon de poulet, qui est un modèle couramment utilisé pour étudier l'angiogenèse et les réponses vasculaires. L'action irritante des produits naturels sur les vaisseaux sanguins de la CAM peut être évaluée en mesurant l'apparition et la gravité de trois manifestations: hémorragie, lyse et coagulation (Wilson & Steck, 2000). Ces

manifestations reflètent les dommages causés aux cellules endothéliales et à la matrice extracellulaire des vaisseaux sanguins par les produits naturels. L'action irritante des produits naturels sur les vaisseaux sanguins de la CAM peut être influencée par plusieurs facteurs, tels que la concentration, le pH, la solubilité et la composition chimique des produits naturels, ainsi que l'âge et l'espèce des embryons de poulet (**Chen et al., 2021**).

Certains produits naturels peuvent avoir des propriétés anti-irritantes qui peuvent protéger ou réduire les dommages aux vaisseaux sanguins de la CAM induits par des irritants. Par exemple, certains extraits de plantes ont été montrés pour retarder ou prévenir l'apparition d'hémorragie, de lyse et de coagulation dans les vaisseaux sanguins de la CAM exposés à 15% d'acide lactique, un irritant couramment utilisé dans les tests cutanés humains (**Wilson & Steck, 2000**). Ces extraits de plantes peuvent avoir des effets anti-inflammatoires, antioxydants ou anticoagulants qui peuvent contrer l'action irritante de l'acide lactique. Cependant, tous les extraits de plantes n'ont pas de propriétés anti-irritantes et certains peuvent même avoir des effets irritants eux-mêmes. Par conséquent, il est important de cribler et d'évaluer les effets anti-irritants ou irritants potentiels des produits naturels sur les vaisseaux sanguins de la CAM avant de les appliquer sur la peau humaine ou d'autres tissus.

2.3. Le test CAM pour caractériser les substances naturelles vis-à-vis l'effet irritable des vaisseaux sanguins

Le test CAM est une méthode utile et pratique pour cribler et évaluer l'action irritante des produits naturels sur les vaisseaux sanguins de la CAM. Il est relativement peu coûteux, facile à réaliser et ne soulève pas de problèmes éthiques liés au bien-être animal. Le test CAM peut également fournir des informations physiologiques et morphologiques sur les réponses vasculaires aux produits naturels, qui peuvent être observées et quantifiées par diverses techniques d'imagerie (**Zhang et al., 2021**). Le test CAM peut être modifié et adapté à différents types de produits naturels et d'irritants, ainsi qu'à différentes questions et objectifs de recherche. Cependant, le test CAM présente également certaines limites et défis, tels que la variabilité entre les embryons de poulet, le manque de standardisation et de validation des protocoles d'essai et la difficulté d'extrapoler les résultats à la peau humaine ou à d'autres tissus. Par conséquent, il est nécessaire d'optimiser et de standardiser les conditions et les paramètres du test CAM, ainsi que de comparer et corrélérer les résultats du test CAM avec d'autres modèles *in vitro* ou *in vivo* d'irritation vasculaire.

3. La nature et l'origine de la CAM et ses fonctions physiologiques

La membrane chorioallantoïque (CAM) est une membrane extra-embryonnaire hautement vascularisée qui est formée par la fusion de deux autres membranes: le chorion et l'allantoïde. La CAM se trouve dans les œufs de certains amniotes, tels que les oiseaux et les reptiles, et c'est l'équivalent aviaire du placenta des mammifères. La CAM a plusieurs fonctions importantes pour l'embryon en développement, telles que les échanges gazeux, le transport du calcium, l'équilibre acido-basique et le stockage des déchets **(DeFouw et al., 1989)**. Elle est également impliquée dans la production d'anticorps et d'autres facteurs immunitaires **(Sheng, 2010)**.

L'origine de la CAM peut être retracée aux premiers stades du développement embryonnaire. Le chorion est l'une des quatre membranes extra-embryonnaires qui entourent l'embryon. Il se compose d'une couche externe d'ectoderme et d'une couche interne de mésoderme. L'allantoïde est une autre membrane extra-embryonnaire qui provient de l'intestin postérieur de l'embryon. Elle se compose également d'une couche ectodermique et d'une couche mésodermique. L'allantoïde se développe sous la forme d'une structure en forme de sac qui s'étend dans le cœlome extra-embryonnaire. Autour du 3ème jour d'incubation, l'allantoïde entre en contact avec le chorion et commence à fusionner avec lui. Vers le 5ème ou 6ème jour, une fusion partielle du chorion et de l'allantoïde se produit, formant la CAM. Au 10ème jour, la CAM recouvre la plupart de la surface interne de la coquille d'œuf et développe un vaste réseau de vaisseaux sanguins. La différenciation complète de la CAM est atteinte au 13ème jour **(DeFouw et al., 1989)**.

La nature de la CAM est celle d'un tissu complexe et dynamique qui soutient la vie de l'embryon. La CAM est composée de trois couches: l'épithélium chorial, le mésoderme intermédiaire et l'épithélium allantoïque. L'épithélium chorial est la couche la plus externe qui se trouve immédiatement sous la membrane coquillière. Il contient des cellules spécialisées responsables du transport des ions calcium de la coquille d'œuf à l'embryon pour la formation des os. Le mésoderme intermédiaire est la couche intermédiaire qui contient de nombreux capillaires sanguins et sinus qui permettent les échanges gazeux entre l'embryon et l'environnement. Les vaisseaux sanguins dans cette couche sont également impliqués dans le maintien de l'homéostasie acido-basique chez l'embryon. L'épithélium allantoïque est la couche la plus interne qui forme une partie de la paroi du sac allantoïque. Il agit comme une barrière pour empêcher les toxines et les déchets d'entrer dans l'embryon. Il régule également l'absorption de l'eau et des électrolytes à partir du liquide allantoïque **(Sheng, 2010)**.

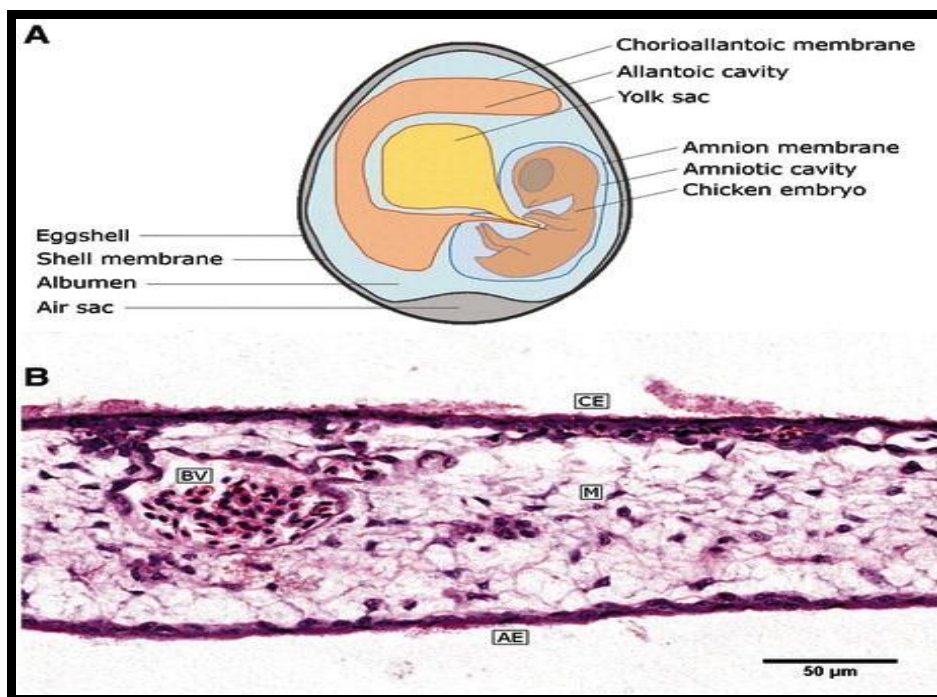


Figure 8: Structure générale de la membrane chorioallantoïque (CAM) de l'embryon de poulet. (A) Vue d'ensemble schématique de l'anatomie générale de l'œuf de poulet fécondé avec l'embryon et ses structures extra-embryonnaires. (B) Coloration histologique à l'hématoxyline-éosine d'un CAM de 14 jours, montrant la structure tri-couche composée de l'ectoderme chorial (CE), de la couche mésenchymateuse centrale (M) riche en vaisseaux sanguins (BV) et de l'endoderme allantoïque (AE) (Merckx,G et al. 2020).

3.1. Les applications du test CAM : ses avantages et ses limites

Les caractéristiques de la CAM sont diverses et adaptables à différents paramètres expérimentaux. La CAM a été largement utilisée comme système modèle pour étudier divers aspects de la biologie, tels que l'angiogenèse, la croissance tumorale, la cicatrisation des plaies, l'infection, l'inflammation et l'administration de médicaments. Les avantages de l'utilisation de la CAM comme système modèle incluent sa facilité d'accès, son faible coût, sa haute vascularisation, son immunodéficiences et son acceptabilité éthique. La CAM peut être manipulée à l'intérieur (*in-ovo*) ou à l'extérieur (*ex-ovo*) de la coquille d'œuf, en fonction de la question de recherche et du plan expérimental. La CAM peut également recevoir des greffes ou des transplantations provenant de différentes sources, telles que des cellules ou des tissus tumoraux, des biomatériaux, des nanoparticules ou des micro-organismes. La CAM peut alors être observée pour divers objectifs, tels que la taille ou la métastase tumorale, la densité ou la morphologie vasculaire, la fermeture ou la formation de cicatrices des plaies, les marqueurs d'infection ou d'inflammation ou la distribution ou l'efficacité des médicaments.

(Zhou et al., 2019; Zhang et al., 2018). En plus de ses applications en recherche, la CAM a également été utilisée dans divers contextes cliniques. Par exemple, elle est utilisée pour faire pousser des cellules et des tissus pour la transplantation. Elle est également utilisée pour faire pousser des greffes de peau pour les patients atteints de brûlures ou d'autres lésions cutanées (Zhang et al., 2018).

En résumé, la CAM est une membrane extra-embryonnaire remarquable qui joue des rôles vitaux pour l'embryon en développement et sert de système modèle polyvalent pour la recherche biomédicale. La CAM provient de la fusion de deux autres membranes: le chorion et l'allantoïde. La CAM a une structure tri-couches qui remplit diverses fonctions telles que les échanges gazeux, le transport du calcium, l'équilibre acido-basique et le stockage des déchets. La CAM a également diverses caractéristiques qui la rendent adaptée à différentes manipulations et applications expérimentales (Zhou et al., 2019; Zhang et al., 2018).

4. l'*Allium sativum* (Ail) comme candidat au VDT

4.1. historique de l'*Allium sativum*

L'ail est une plante millénaire connue depuis l'Antiquité comme condiment. Il est originaire des steppes d'Asie centrale et fut probablement importé dans le bassin méditerranéen par des marchands et des tribus nomades. Tous les peuples, chinois, grecs, égyptiens et romains, ont vanté les propriétés de l'ail. Dans sa médecine des tempéraments, Hippocrate le considérait comme diurétique et le préconisait pour réchauffer les humeurs froides. Dioscoride faisait de l'ail un vermifuge puissant alors que la médecine arabe le recommandait pour traiter les abcès et les morsures de vipères. Paracelse et Ambroise Paré le recommandaient comme traitement de la peste noire (Chiapolino, 2018).

4.1.1. Description de la plante

L'ail est une plante glabre, vivace et herbacée qui peut atteindre jusqu'à une cinquantaine de centimètres. Il possède une tige cylindrique feuillée jusqu'à son milieu. Les feuilles sont linéaires, engainantes et lisses. Les fleurs blanches, pouvant virer au rougeâtre, sont regroupées en ombelle entourée par une spathe caduque qui se termine en pointe dépassant l'ombelle. Le bulbe est formé de plusieurs caïeux, que l'on appelle communément les gousses, enveloppés dans une tunique blanchâtre (Chiapolino, 2018).



Figure 9: illustration botanique *Allium sativum* (Chiapolino, T. 2018).

4.1.2. Les activités pharmacologiques de l'*Allium sativum* (Ail)

Allium sativum (As), communément appelé ail, a été largement étudié pour ses propriétés médicinales. En effet, plus d'un millier d'articles scientifiques au cours de la dernière décennie ont progressivement confirmé les bienfaits traditionnellement reconnus de la consommation d'ail pour la santé. Il a été largement reconnu pour ses propriétés préventives et curatives des troubles cardiovasculaires en abaissant le cholestérol sérique et les triglycérides, en inhibant la coagulation sanguine et l'agrégation plaquettaire et en abaissant la tension artérielle (Warshafsky et al., 1993 ; Silagy et Neil, 1994 ; Sendl, 1995).

De nombreuses autres études ont suggéré d'éventuels effets préventifs du cancer des préparations à base d'ail (Caragay, 1992). En effet, il a été rapporté expérimentalement que l'ail et ses composants associés suppriment le risque de cancer et modifient le comportement biologique des tumeurs dans les cancers du sein, du côlon, de la peau, de l'utérus, de l'œsophage et du poumon (Sumiyoshi et Wargovich, 1990). L'ail a été décrit pour plusieurs autres propriétés médicinales, notamment des effets antimicrobiens, antiarthritiques, hypoglycémiques et antitumoraux (Rivlin, 2006 ; Matsuura et al., 2006).

L'ail se caractérise par sa grande variété de composants, y compris les sulfures comme l'allicine et les composés non soufrés comme les saponines et les flavonoïdes. Tous ces composés ont été décrits pour fournir divers avantages pour la santé (Amagase, 2001).

4.1.3. La classification systématique de l'Ail

Tableau 4: classification systématique de l'Ail (Classification de Cronquist 1981)

Règne	Plantae
Sous- règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Liliidae
Ordre	Liliales
Famille	Liliaceae
Genre	Allium
Espèce	<i>Allium sativum</i>

Etudes Expérimentales

CHAPITRE IV :
Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes

Pour explorer l'effet irritant du jus de l'ail (*Allium sativum*) sur les vaisseaux sanguins, en vue de future utilisation comme VDA, nous avons opté pour un test, *in ovo* et *ex ovo*, qui consistent à évaluer le dommage causé sur les 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

1.1. Test *in ovo*

1.1.1. Collecte des œufs et incubation

Fraîchement fertilisés, un grand nombre d'œufs (plus de 200) de taille hétérogènes et appartenant à deux lignées différentes (*Leghorn blanche et sauvage*) ont été collectés dans le poulailler domestique de notre encadrant à Ahmed Rachedi, 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 10: Désinfection des œufs avec l'éthanol à 70%.



Figure 11: Incubation des œufs à l'incubateur(WQ01).

1.1.2. 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 (figure 12).



Figure 12: Vérification de la fécondité des œufs

En modifiant le protocole (**Ribatti et al, 2013**), 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 pointus 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 13, 14).



Figure 13: localisation de l'embryon et La chambre à air.



Figure 14: 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 recouvre 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 (Figure 15).



Figure 15: Aspect d'un œuf leghorn à j 3.



Figure 16: Révélation de la membrane chorioallantoïdienne à j 8.

1.2. Test ex ovo

- A. Au début réalisée les mêmes étapes de collection des œufs et d'incubation suivant ce qui a été déjà décrit dans la partie de teste *in ovo*.
- B. Retirer les œufs de l'incubateur après 4 jours d'incubation, 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 bœcher 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 7eme 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.

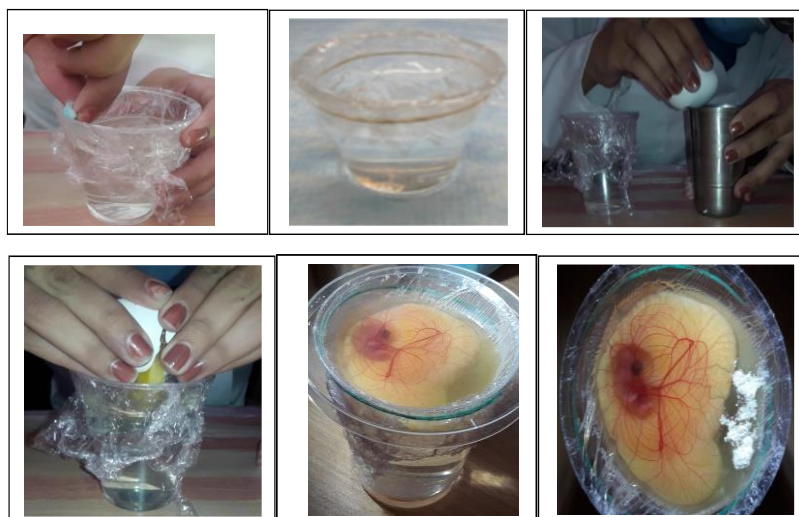


Figure 17: préparation d'un système de culture d'embryons de poulet *ex-ovo*.

1.3. Préparation des substances testées :

1.3.1. Origine du Matériel biologique (Végétal) et préparation jus de l'ail (*Allium sativum*).

Le jus de l'ail, *Allium sativum*, a été obtenue par broyage, juste avant l'application sur la CAM, d'une quantité suffisante d'ail, Puis la filtration par le papier filtre pour obtenir un suc homogène. Une série de dilution a été préparée selon les facteurs suivant : (préparation mère), $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{6}$; $\frac{1}{8}$; $\frac{1}{10}$



Figure 18: préparation du jus de l'ail (*Allium sativum*)

1.4. Déroulement du test CAM (*in ovo*)

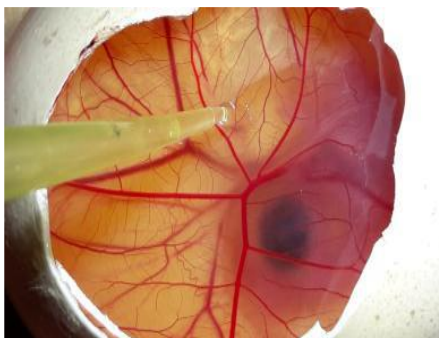


Figure 19: Application 5 μ l de solutions préparées sur la CAM.

Au 8ème jour de l'incubation, les fenêtres ont été rouvertes, les œufs préalablement préparés ont été répartis en 3 groupes de nombres d'œufs différents : un groupe témoin sur lequel on n'applique rien, un autre groupe témoin négatif qui reçoit 5 μ l de l'eau physiologique, un dernier lot expérimental où sont appliquées par micropipette 5 μ l des solutions de l'ail (solution mère et ses dilutions). On note que nous avons incubé un lot supplémentaire à J0, mais nous l'avons gardé intact (incubation normale sans ouvrir la coquille). Ce dernier nous permet de vérifier l'état de l'incubateur, l'éclosion des œufs supplémentaires témoigne du bon fonctionnement de l'appareil. Dans toutes les expérimentations, on dépose le produit à tester directement sur la CAM. Ensuite, on observe immédiatement les réactions possibles. On prend note de l'apparition de toute hémorragie, coagulation, déformation des vaisseaux sanguins, mort de l'embryon, ..., de même il est important d'enregistrer le temps écoulé avant d'obtenir une réaction quelconque.

1.5. Déroulement du test CAM (*ex ovo*)

Au 8ème jour de l'incubation, on retire les gobelets. On reconduit la même démarche adopté lors du test CAM *in ovo*. Sauf que dans ce cas, puisque une large surface du CAM soit exposée, on a appliquée par une micropipette 5 μ l du suc d'*Allium sativum* et toutes les dilutions préparées sur le même CAM. Ensuite, on observe immédiatement les réactions possibles. On prend note de l'apparition de toute hémorragie, coagulation, déformation des vaisseaux sanguins, mort de l'embryon, ..., de même il est important d'enregistrer le temps écoulé avant d'obtenir une réaction quelconque.

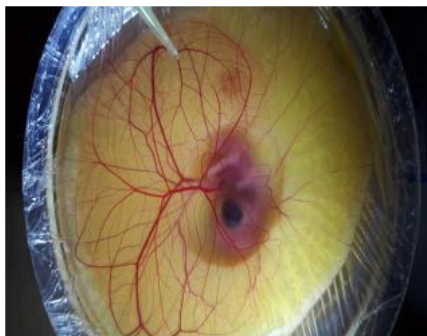


Figure 20: application de l'extrait brut de l'ail (*Allium sativum*).

1.6. 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 GraphPad prism 9.2.0(332) version essai gratuit. On note que pour P valeurs inférieures à 0.05, ont été considérées comme significatives.

CHAPITRE IV: Résultats et Discussions

1. Résultats et discussions

1.1. Evaluation qualitative

Nous avons observé le développement des embryons de poulet, *in ovo* et *ex ovo*, à l'échelle macroscopique et au stéréomicroscope. Nos observations nous ont conduits aux résultats suivants :

1- Le système circulatoire de l'embryon et de ses annexes devient fonctionnel dès le troisième jour d'incubation. Les vaisseaux du sac vitellin apparaissent en premier, suivis par ceux de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) qui commencent à être visibles à partir du quatrième jour d'incubation (Figure 22).



Figure 21: Vaisseaux du sac vitellin.

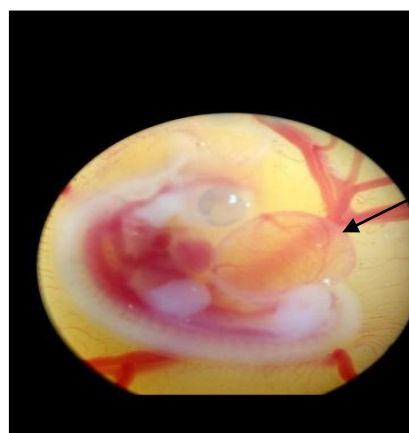


Figure 22: Vaisseaux de la CAM.

2- La CAM présente une croissance très rapide, à tel point que, au huitième jour, elle recouvre toute la surface visible sous la fenêtre ouverte sur la coquille. Durant cette période, la croissance des vaisseaux sanguins de la CAM prend une allure exponentielle (Figure 23). Au 14ème jour, la CAM enveloppe entièrement l'embryon et ses annexes (amnios, vésicule vitelline).

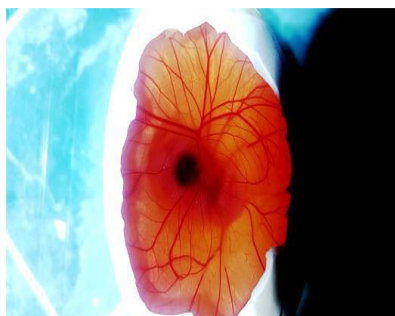


Figure 23: CAM à J8.

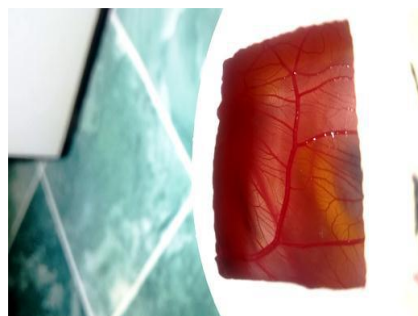


Figure 24: CAM à J14.

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 la quelle diverge des branches secondaires et tertiaires (Figure 25).

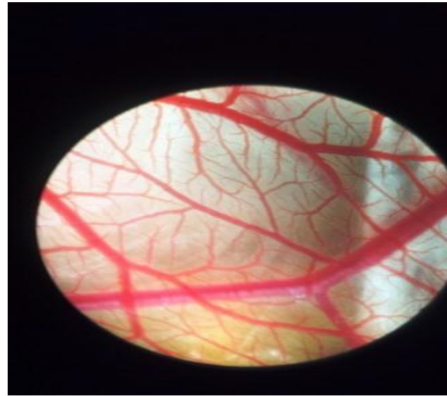


Figure 25: Observation des vaisseaux primaire, secondaire et tertiaire sous stéréomicroscope.

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 :



Figure 26: Vascularisation normal de la CAM.



Figure 27: Résorption des vaisseaux sanguins dexa à J12.

- Le traitement des CAM par l'extrait brut de l'ail *Allium sativum* ovo et ex

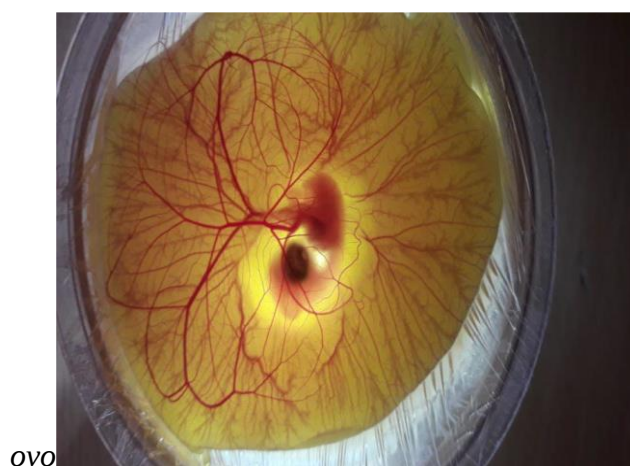


Figure 28: Aspect d'un embryon et ses CAM, amnios et sac vitellin ex ovo à J8.

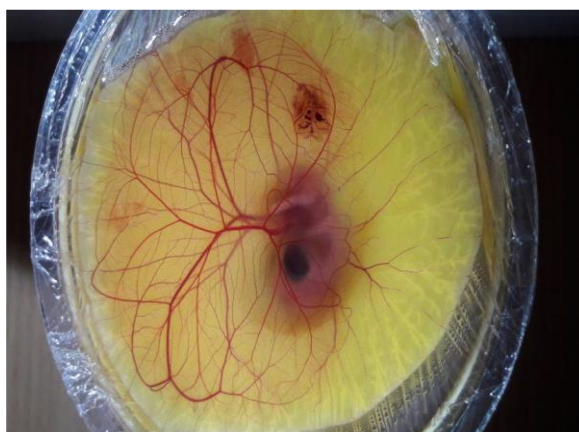


Figure 29: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, ex ovo, à J8.



Figure 30: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, in ovo, à J8.

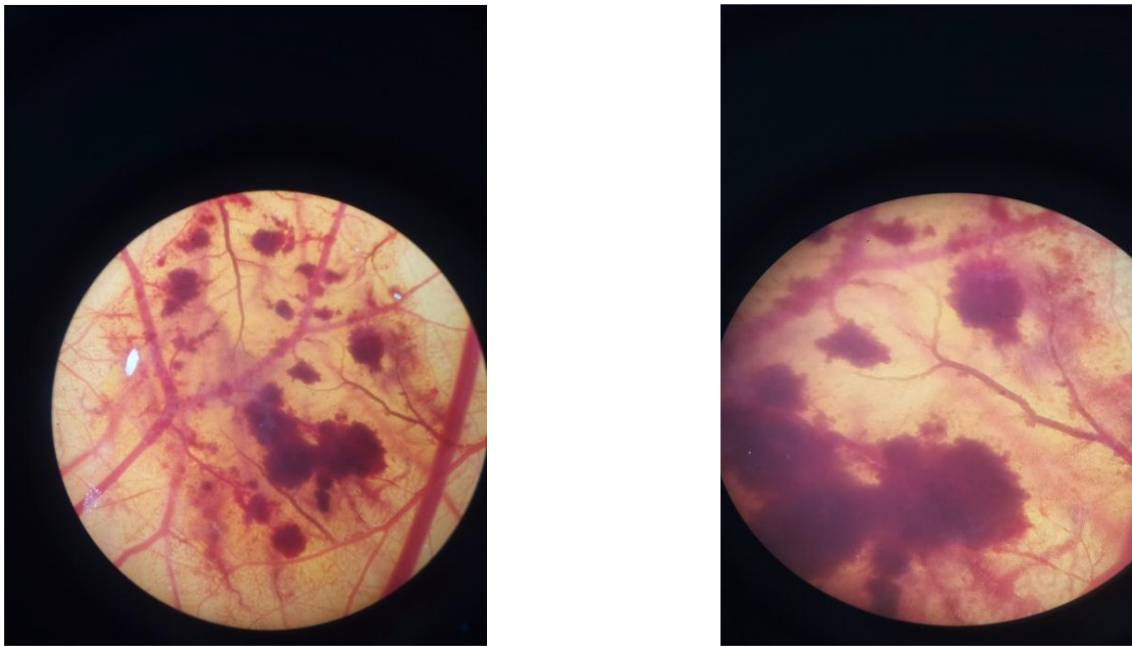


Figure 31: Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, in ovo, à J8, observation sous stéréomicroscope.

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.

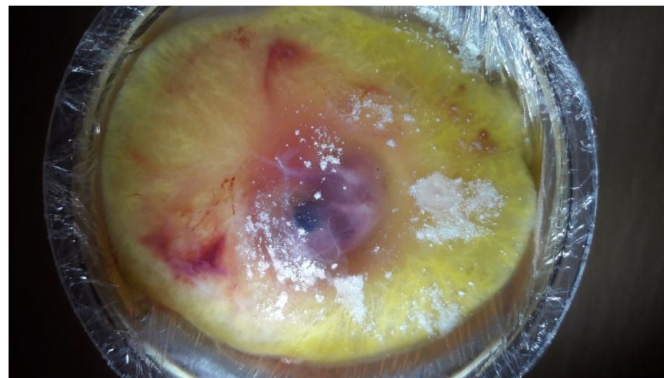


Figure 32: Embryon mort ex ovo



Figure 33: Embryon mort in ovo

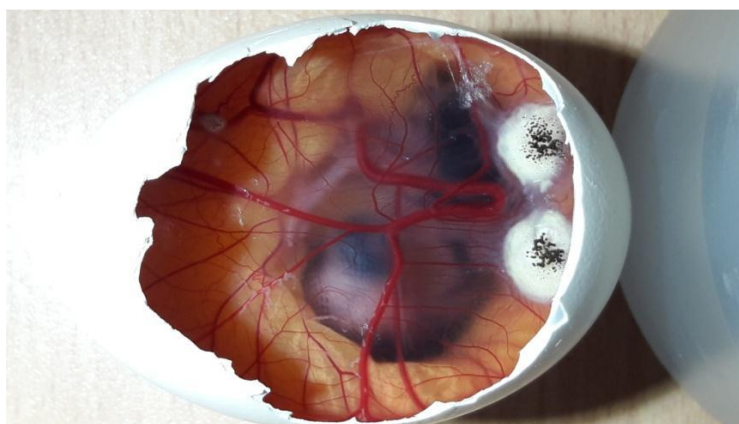


Figure 34: Embryon (CAM) infecté.

6- l'observation nous mènent à croire que les traitements appliqués (l'extrait brut de l'ail)ne présentent aucune toxicité sur l'embryon, en fait, tous les embryons survivent suite au traitement.

Cette étude préliminaire vise, principalement, l'évaluation du potentiel irritant de l'extrait brut de l'ail (*Allium sativum*) . Elle s'inscrit dans une logique de recherche de nouvelles biomolécules d'origine biologique qui peuvent être douées de propriétés antivasculaires.

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 cout modeste et la reproductibilité des résultats (Ribatti et al., 2001) .

L'ail montre une action puissante et assez particulière, à l'opposé de beaucoup de produits qui bloquent la formation de nouveaux vaisseaux à partir de ceux pré-existant, le suc brut d'*Allium sativum* 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 (VDAs). (**Lippert III, J.W., 2007.**) Donc, l'application de l'extrait brute de l'ail se traduit par une irritation des CAM, des saignements, des thromboses. Cet effet évident, 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 l'extrait de l'ail possède un effet perturbateur des vaisseaux sanguins. (**Hadriche-Jarraya, et al.,2021**)

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**).

En plus le recours à des œufs d'origines hétérogènes influence sur pertinence des observations et crée une variabilité entre les observations du même groupe.

Conclusion

Conclusion

Afin d'explorer l'effet irritant de l'extrait brut de l'ail (*Allium sativum*) en vue de l'exploiter comme agent perturbateur de l'arbre vasculaire tumoral (VDA), nous avons opté pour un test, *in ovo et ex ovo*, qui recourses aux vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon de poulet. Bien que préliminaire, les résultats obtenus suggèrent différents effets :

L'extrait brut de l'ail (*Allium sativum*) produit un effet irritant prononcé des vaisseaux sanguins. Ceci se manifeste par une hémorragie intense, coagulation (thrombose) généralisée, l'observation d'hyperémie et de vasodilatation, une interruption du flux sanguin et l'apparition de vaisseaux fantômes. De plus ces événements semblent obéir à une cinétique dépendant de la dose et du temps. D'autre part, le jus de la plante en question ne cause aucune mortalité pour les embryons dans ces conditions expérimentales. Toutes ces constatations suggèrent que le suc brut de l'ail peut être recommandé pour des tests plus approfondis dans une perspective thérapeutique en tant que thérapie anticancéreuse ciblant la vascularisation tumorale par une approche VDT.

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

- Revérifier les données recueillies sur des échantillons plus larges ;
- Compléter l'investigation par la réalisation d'analyses histologiques ;
- Recourir à des modèles expérimentaux plus performants, cultures cellulaires, Matrigel, modèle murin, ... ;
- Fractionner le suc brut de l'ail afin d'identifier la nature chimique de/des molécules responsables des observations recueillies.
- Tester des molécules et des mélanges contrôlés dans le but de mettre en évidence l'existence d'une synergie entre les différents composants.

Références

Bibliographiques

Références bibliographique

A

1. **ACS. (2021).** Cancer Genetics Overview. American Cancer Society.
2. **Adamis, A. P., Miller, J. W., Bernal, M. T., D'Amico, D. J., Folkman, J., Yeo, T. K., & Yeo, K. T. (1994).** Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*, 118(4), 445-450.
3. **Aird, W. C. (2007).** Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation research*, 100(2), 158-173.
4. **Albregues J., Gaggioli C., White R., et al. (2014).** L'invasion tumorale : un dialogue entre les cellules cancéreuses et leur microenvironnement. *médecine/sciences*. 30(3):313–319.
5. **Amagase, H., Petesch, B. L., Matsuura, H., Kasuga, S., & Itakura, Y. (2001).** Intake of garlic and its bioactive components. *The Journal of nutrition*, 131(3), 955S-962S
6. **American Cancer Society. (2021).** Genes and Cancer. <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer.html>
7. **André, T., Chastre, E., Kotelevets, L., Vaillant, J. C., Louvet, C., Balosso, J., ... & Gespach, C. (1998).** Angiogenèse tumorale: physiopathologie, valeur pronostique et perspectives thérapeutiques. *La Revue de médecine interne*, 19(12), 904-913.
8. **André, T., Kotelevets, L., Vaillant, J. C., Cugnenc, P. H., & Gespach, C. (1998).** Matrix metalloproteinase inhibitors as anticancer agents. *Annales de Chirurgie*, 52(6), 501-511.
9. **Anisimov VN, Sikora E, Pawelec G (Aout 2009).** "Relationships between cancer and aging: a multilevel approach". *Biogerontology*
10. **Armstrong, T. S., Wen, P. Y., Gilbert, M. R., Schiff, D. (2012).** Management of treatment-associated toxicities of anti-angiogenic therapy in patients with brain tumors. *Neuro-Oncology*, 14(10), 1203-1214.

11. **Arreola R., Quintero-Fabián S., López-Roa R.I., Flores-Gutiérrez E.O., Reyes-Grajeda J.P., Carrera-Quintanar L., &Ortuño-Sahagún D. (2015).** Effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires des composés de l'ail. *Journal of ImmunologyResearch*, 2015:401630.
12. **Autier-Jolyon, J., & Lacouture, M. E. (2019).** Cutaneous adverse events of antiangiogenic therapies in cancer: a review of the literature and current treatment recommendations. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 11.
13. **Azzi S., Gavard J. (2014).** Vascular permeability and drug delivery in cancers. *Front Oncol.* 4:212.
14. **Azzi, S., &Gavard, J. (2014).** Vaisseaux sanguins et tumeurs ou l'art du dialogue. *médecine/sciences*, 30(4), 408-414.
15. **Abdel-Rahman, O., ElHalawani, H., & Fouad, M. (2016).** Risk of endocrine complications in cancer patients treated with immune check point inhibitors: a meta-analysis. *Future Oncology*, 12(3), 413-425.

B

16. **Belk, C. M., & Borden, V. (2004).** *Biology: Science for life*. Pearson Prentice Hall.
17. **Belmondo, E., Bocci, G., &Fontanini, G. (2012).** Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies. *BioDrugs*, 23(6), 377-389.
18. **Bennis, Y., Bennis, S., El Mesbahia, O., Errihani, H., &Benider, A. (2010).** Sorafenib: a new therapeutic option for metastatic renal cell carcinoma. *Bulletin du Cancer*, 97(12), 1447-1454.
19. **Bensimon, J. (2012).** Le switchangiogénique ou comment réveiller les cellules tumorales dormantes. *Médecine/sciences*, 28(12), 1069-1071.
20. **Berenblum I., Shubik P. (1947).** The role of croton oil applications, associated with a single painting of a carcinogen, in tumour induction of mouse skin. *British Journal of Cancer* 1(4):379–382.

21. **Berenblum, I., & Shubik, P. (1947).** A new quantitative approach to the study of stages of chemical carcinogenesis in the mouse skin. *British Journal of Cancer*, 1(3), 383-391.
22. **Bidart, M., Ricard, M., Leblond-Francillard, M., & Claret-Bindel, E. (2013).** Anti-angiogenic therapy: challenges and perspectives. *Bulletin du Cancer*, 100(1), 13-24.
23. **Bielenberg D. R et Zetter B.R (2015).** The Contribution of Angiogenesis to the Process of Metastasis. *Cancer Journal* 21(4): 267-273.
24. **Birkett N., Al-Zoughool M., Bird M., Baan R.A., Zielinski J., Krewski D. (2019).** Overview of biological mechanisms of human carcinogens. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B: Critical Reviews* 22(7-8):288–359.
25. **Block, E. (2010).** *Garlic other alliums*. Cambridge: RSC publishing.
26. **Bodnar, L. (2014).** Cutaneous side effects of anti-angiogenic therapy. *Advances in Dermatology and Allergology*, 31(2), 81-86.
27. **Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
28. **Bretagne, M., Lattafi, M., & Errihani, H. (2016).** Pazopanib: a new therapeutic option for metastatic renal cell carcinoma. *Bulletin du Cancer*, 103(12), 1040-1047.
29. **Brosseau, S., Naltet, C., Gounant, V., & Zalcman, G. (2015).** Antiangiogéniques en cancérologie thoracique: critères de prescription et gestion des effets indésirables. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*, 7(4), 414-422
30. **Béliveau, R., Gingras, D., (2007).** Role of nutrition in preventing cancer. *Canadian Family Physician* 53, 1905-1911.
31. **Bartek Jiri , Martin Mistrik, Jirina Bartkova ., (2013)** Androgen Receptor Signaling Fuels DNA Repair and Radioresistance in Prostate Cancer. *Cancer Discov* ; 3 (11): 1222–1224.

C

32. **Cancer Research UK. (n.d.).** Bevacizumab (Avastin) | Cancer information | Cancer Research UK.
<https://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/treatment/drugs/bevacizumab>
33. **Cancer Research UK. (n.d.).** Drugs that block cancer blood vessel growth (anti angiogenics) | Targeted cancer drugs | Cancer Research UK.
<https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/treatment/targeted-cancer-drugs/types/anti-angiogenics>.
34. **Cardoso, F., Senkus, E., Costa, A., Papadopoulos, E., Aapro, M., André, F., Harbeck, N., & Winer, E. P. (2020).** 4th ESO–ESMO International Consensus Guidelines for Advanced Breast Cancer (ABC 4). *Annals of Oncology*, 31(12), 1623-1649.
35. **Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2000).** Angiogenesis in cancer and other diseases. *nature*, 407(6801), 249-257 WLA F HAL.
36. **Chabannes, E., Bernardini, S., Wallerand, H., & Bittard, H. (2001).** L'angiogenèse dans les tumeurs vésicales: indicateur pronostique et cible thérapeutique. *Prog. Urol*, 11(3), 417-427.
37. **Chen Y.J., Shiao M.S., & Wang S.Y. (2012).** L'acide caféique phényléthyle ester antioxydant induit l'apoptose associée à la capture sélective du peroxyde d'hydrogène dans les cellules leucémiques HL-60. *AnticancerDrugs*, 13(2):143–149.
38. **Chen, X., Wang, Y., Zhang, Y., Li, X., & Liu, Y. (2021).** Evaluation of the irritant action of natural products on chick embryo chorioallantoic membrane blood vessels. *Journal of Natural Products*, 84(1), 5-12.
39. **Chiapolino, T. (2018).** La phytothérapie: une approche intéressante en prévention des cancers (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
40. **Choukran, B., & DebchiBouthaina, K. M. (2022).** Effets anticancéreux de certaines plantes médicinales: cas du cancer colorectal

41. **Clinical Trials Arena. (2014).** Avastin (bevacizumab) - Angiogenesis Inhibitor and Cancer Therapy ... <https://www.clinicaltrialsarena.com/projects/avastin/>
42. **Coleman, M. L., & Evan, G. I. (2015).** Transcriptional control of cell fate by c-Myc and Max. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5(12), a026062.
43. **Cooney, M. M., Radivoyevitch, T., Dowlati, A., Overmoyer, B., Levitan, N., Robertson, K., & Remick, S. C. (2006).** Cardiovascular safety profile of combretastatin a4 phosphate in a single-dose phase I study in patients with advanced cancer. *Clinical Cancer Research*, 12(6), 1695-1702.
44. **Couffinhal, T., Dufourcq, P., Dupl  a, C., Moreau, C., Bonnet, J., & Llanas-Chea, F. (2001).** Regulation of vascular cell adhesion molecule-1 and intercellular adhesion molecule-1 in human vascular smooth muscle cells. *Circulation research*, 88(5), 477-483.
45. **Coultas, L., Chawengsaksothak, K., & Rossant, J. (2005).** Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*, 438(7070), 937-945.
46. **CRUK. (2021).** TP53 gene. Cancer Research UK.
47. **Caragay, A. B. (1992).** Cancer-preventive foods and ingredients. *Food Technology*, 46(4), 65-68.
48. **Chabner, B.A., Roberts, T.G.Jr., (2005).** Timeline: Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews of Cancer* 5, 65-72.
49. **Coon, J. J., Sorensen, M. C., LeMay, G. A., & O'Connor, D. M. (2010).** The effects of diet and exercise on cancer prevention and survivorship: A review of the literature. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(10), 1487-1505.

D

50. **De Luca, A., Normanno, N., & Maiello, M. R. (2013).** Epidermal growth factor receptor signaling in colorectal cancer: preclinical data and therapeutic perspectives. *Annals of Oncology*, 24(2), 10-22.

51. **DeFouw, D. O., Rizzo, V. J., Steinfeld, R., Feinberg, R. N., & Granger, H. J. (1989).** Chorioallantoic membrane vascular responses to vasoactive agents. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 257(2), H339-H345.
52. **Des Guetz, G., Uzzan, B., Chouahnia, K., Morere, J. F., & Nicolas, P. (2011).** Cardiovascular toxicity of anti-angiogenic drugs. *Targeted Oncology*, 6(3), 197-202. 0
53. **Detrait, E., & Etchevers, H. C. (2005).** Vascularisation de la tête et du cou au cours du développement. *Journal of neuroradiology*, 32(3), 147-156.
54. **Doumit, J. (2011).** Rôle des facteurs de croissance plaquettaires dans les compartiments vasculaires et tumoraux cérébraux/mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en chimie par Jinane Doumit; [directeur de recherche, Richard Béliveau].
55. **Drugs.com. (2023).** Avastin: Uses, Dosage, Side Effects, Warnings - Drugs.com. <https://www.drugs.com/avastin.html>
56. **Dahan, M., Brouchet, L., Berjaud, J., & Garcia, O. (2003, April).** Chirurgie des tumeurs de la paroi thoracique. In *Annales de chirurgie plastique esthétique* (Vol. 48, No. 2, pp. 93-98). Elsevier Masson.
57. **Descôteaux, C. (2013).** *Développement de nouveaux composés anticancéreux pour le traitement des cancers féminins* (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières)

E

58. **Edelberg, J. M., & Reed, M. J. (2003).** Aging and angiogenesis. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 8(6), 1199-1209.
59. **El Mesbahia, O., Bennisb, Y., Bouhajja, H., El Abbadii, N., & Errihanic, H. (2011).** Sunitinib: a new therapeutic option for metastatic renal cell carcinoma. *Bulletin du Cancer*, 98(12), 1447-1454.
60. **El-Deiry W.S.(2003).** The role of p53 in chemosensitivity and radiosensitivity. *Oncogene* 22(47), 7486–7495.

61. **Eremina, V., Quaggin, S. E., & Hudson, B. G. (2007).** Role of the VEGF–a signaling pathway in the glomerulus: evidence for crosstalk between components of the glomerular filtration barrier. *Nephron Physiology*, 106(2), p32-p37.
62. **Escudier, B., Pluzanska, A., Koralewski, P., Ravaud, A., Bracarda, S., Szczylik, C., & Laguerre, B. (2007).** Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *The Lancet*, 370(9605), 2103-2111
63. **Esfahani, K., Roudaia, L., Buhlaiga, N., Del Rincon, S. V., Papneja, N., & Miller Jr, W. H. (2020).** A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Current Oncology*, 27(Suppl 2), S87-S97.

F

64. **Faivre, S., Demetri, G., Sargent, W., & Raymond, E. (2007).** Molecular basis for sunitinib efficacy and future clinical development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6(9), 734-745.
65. **Folkman J. (1971).** Angiogenèse tumorale: implications thérapeutiques. *N Engl J Med*. 285(21):1182-6.
66. **Folkman J., Klagsbrun M. (1987).** Facteurs angiogéniques. *Science*. 235(4787):442-7.
67. **Folkman, J. (1971).** Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *The New England Journal of Medicine*, 285(21), 1182–1186.
68. **Folkman, J. (1972).** Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Annals of surgery*, 175(3), 409.
69. **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.
70. **Ford D.(2020).** BRCA1 and BRCA2 mutations and treatment strategies for breast cancer. *Integrative Cancer Science and Therapeutics*7(1). <https://doi.org/10.1002/ics2.100>.
71. **Fridman W.H., Sautès-Fridman C. (2014).** Le microenvironnement tumoral : un acteur clé de l'immunosurveillance antitumorale. *médecine/sciences*. 30(3):267–273

72. **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.
73. **Frontiers. (2020).** Targeting Adrenomedullin in Oncology: A Feasible Strategy to Overcome Resistance to Anti-Angiogenic Therapies? | Frontiers in Oncology. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fonc.2020.589218/full>.
74. **Folkman, J. (1985).** Tumor angiogenesis. *Advances in cancer research*, 43, 175-203

G

75. **Garmy-Susini, B., Pizzinat, N., Villeneuve, N., Bril, A., Brakenhielm, E., & Parini, A. (2017).** Le système lymphatique cardiaque. *médecine/sciences*, 33(8-9), 765-770.
76. **-Garrido-Urbani, S., Jaquet, V., & Imhof, B. A. (2014).** ERO, NADPH oxydases et vascularisation des tumeurs. *médecine/sciences*, 30(4), 415-421.
77. **Gavard J., Gutkind J.S. (2007).** A new role for a beta-arrestin in endothelial cell dynamics and vascular permeability. *Cell AdhMigr.* 1(1):33-7.
78. **Gavard J., & Gutkind J.S. (2006).** VEGF controls endothelial-cell permeability by promoting the beta-arrestin-dependent endocytosis of VE-cadherin. *Nat Cell Biol*; 8: 1223–1234.
79. **Gavard J., & Gutkind J.S. (2007).** La VE-cadhérine prend des chemins de traverse. *Med Sci (Paris)*; 23: 119–121.
80. **Gothié E., Pouyssegur J. (2002).** La régulation transcriptionnelle par l'hypoxie : le rôle central du facteur induit par l'hypoxie (HIF). *médecine/sciences*. 18(6–7):711–719.
81. **Gothié, E., & Pouyssegur, J. (2002).** HIF-1: régulateur central de l'hypoxie. *médecine/sciences*, 18(1), 70-78.
82. **Glory, a. (2016).** le rôle des protéines anti-apoptotiques de la famille bcl-2 et du facteur de transcription anti-oxydant nrf2 dans l'effet protecteur de la thermotolérance (40 c).

H

83. **Hadriche-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).
84. **Halimi, J. M., Azizi, M., Bobrie, G., Bouché, O., Deray, G., des Guetz, G., ... & Rieu, P. (2008).** Effets vasculaires et rénaux des médicaments anti-angiogéniques:
85. **Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000).** The hallmarks of cancer. *cell*, 100(1), 57-70.
86. **Hasmim M., Bieler G., Rüegg C. (2014).** L'hypoxie tumorale : conséquences pour les cellules immunitaires. *médecine/sciences*. 30(3):259–266.
87. **Hasmim, M., Messai, Y., Noman, M. Z., & Chouaib, S. (2014).** L'hypoxie tumorale-Un déterminant clé de la réactivité stromale et de la réponse antitumorale. *médecine/sciences*, 30(4), 422-428.
88. **Hassanpour, S. H., & Dehghani, M. (2017).** Review of cancer from perspective of molecular. *Journal of Cancer Research and Practice*, 4(4), 127-129.
89. **Hasskarl, J. (2007).** Pazopanib: a novel multitargeted tyrosine kinase inhibitor. *Current Opinion in Oncology*, 19(6), 597-602.
90. **Hasskarl, J. (2007).** Sorafenib: targeting multiple tyrosine kinases in cancer. *Current Opinion in Investigational Drugs*, 8(10), 835-842.
91. **Healthline. (2021).** Hand-Foot Syndrome: Symptoms, Causes, and Treatment. <https://www.healthline.com/health/hand-foot-syndrome>.
92. **Hohenstein. (n.d.).** HET-CAM (Hen's Egg Test on the Chorioallantoic Membrane – exclusion of chemical irritation). Retrieved from https://www.hohenstein.com/fileadmin/user_upload/Downloads/Factsheets/Factsheet_HET-CAM_Exclusion_of_Chemical_Irritation_EN.pdf.
93. https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C422.

94. **Huet, O., & Duranteau, J. (2008).** Dysfonction endothéliale: rôle des radicaux libres. *Réanimation*, 17(4), 387-392.
95. **Hurwitz H., Fehrenbacher L., Novotny W., et al. (2004).** Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil et leucovorin pour le cancer colorectal métastatique. *N Engl J Med.* 350(23):2335-42.
96. **Hoseinkhani, Z., Norooznezhad, F., Rastegari-Pouyani, M., & Mansouri, K. (2020).** Medicinal plants extracts with antiangiogenic activity: where is the link?. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(3), 370.
97. **Hilberg, F., Roth, G. J., Krssak, M., Kautschitsch, S. Sommergruber, W., Tontsch-Grunt, U., ... & Rettig, W. J. (2008).** BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer research*, 68(12), 4774-4782.

I

98. **Isautier, S. (2012).** Place de la vaccination antipapillomavirus dans la prévention du cancer du col de l'utérus-situation à l'île de la réunion (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
99. **Ishak, R. S., AbiAad, S., Kyei, A., & Farhat, F. S. (2014).** Cutaneous manifestations of anti-angiogenic therapy in oncology: Review with focus on VEGF inhibitors. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 90(2), 152-164.
100. **Iwasaki, H., Hamano, T., Ogata, A., Hashimoto, N., Irisawa, A., Shibukawa, G., & Ohira, H. (2002).** Clinical significance of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor in multiple myeloma. *British journal of haematology*, 116(4), 796-802.

J

101. **Jacob, M. P., Cazaubon, M., Scemama, A., Prié, D., Blanchet, F., Guillin, M. C., & Michel, J. B. (2001).** Plasma matrix metalloproteinase-9 as a marker of blood stasis in varicose veins. *Circulation*, 104(3), 312-315.

- 102. Jesus-Gonzalez, R., Osorio-Velazquez, J., & Rangel-Cordero, A. (2012).** Nephrotoxicity of antiangiogenic drugs. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 18(4), 353-363.
- 103. JP. (2020).** Cancer en Algérie: Plus de 55.000 nouveaux cas enregistrés en 2018. Récupéré le [date], de <https://www.jeune-independant.net/cancer-en-algerie-plus-de-55-000-nouveaux-cas-enregistres-en-2018/>

K

- 104. Kalluri R. (2003).** Angiogenesis: Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nature Reviews Cancer*; vol. 3(6): p.422.
- 105. Kalluri R. (2003).** Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*. 3(6):422–433. doi: 10.1038/nrc1094
- 106. Kamba, T., & McDonald, D. M. (2007).** Mechanisms of adverse effects of anti-VEGF therapy for cancer. *British Journal of Cancer*, 96(12), 1788-1795.
- 107. Kawaguchi H, Kurokawa T, Hanada K, et al., (2005)** Stimulation of endochondral bone formation by basic fibroblast growth factor in vivo. *ActaOrthop Scand.* ;76(3):341-350..
- 108. Kim J.H., Kim Y.H., Song G.Y., Kim D.E., Jeong Y.J., Liu K.H., Lee H.J., & Park S.U. (2016).** L'allicine inhibe l'angiogenèse en supprimant l'expression du facteur de croissance endothélial vasculaire dans les cellules endothéliales de veines ombilicales humaines et dans les cellules tumorales. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 473(4):1133–1138.
- 109. King, R.J.B.,(1996)** *Cancer biology*. Edition Harlow, Essex (England), 227p
- 110. 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.
- 111. Koffi, A. C., Koffi, A. R., Kossonou, Y. K., & Koffi-Nevry, R. (2022).** Activité antimicrobienne et composition phytochimique d'extraits de piment "Capsicumsp.". *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 20(2), 29-38.

L

- 112. Lacroix, P., & Desormais, I. (2015).** Les nouveaux antiplaquettaires pour l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs. *Journal des Maladies Vasculaires*, 40(5), 295
- 113. Lambrigts, S. (2021).** Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249.
- 114. Lataillade, J. J., Albanese, P., & Uzan, G. (2010).** Implication de l'acide hyaluronique dans l'angiogenèse normale et pathologique, application à l'ingénierie cellulaire. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*, 137(1), S15-S22.
- 115. Lattafi, M., Bennis, Y., & Errihani, H. (2016).** Pazopanib: a new therapeutic option for metastatic soft tissue sarcoma. *Bulletin du Cancer*, 103(12), 1048-1054.
- 116. Leclers, G., Uzan, G., & Lataillade, J. J. (2005).** Angiogenèse tumorale: mécanismes physiopathologiques et implications thérapeutiques. *Revue francophone des laboratoires*, 2005(372), 25-36.
- 117. Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A.(2000)** Noggin antagonizes BMP signaling to create a niche for adult neurogenesis. *Neuron*.28(3):713-726
- 118. Lippert III, J.W., (2007).** Vascular disrupting agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(2), pp.605-615.
- 119. Lugano R., Ramachandran M., Dimberg A. (2020).** Angiogenèse tumorale: causes, conséquences, défis et opportunités. *Cell Mol Life Sci*. 77(9):1745-1770
- 120. Lopes-Coelho, F., Martins, F., Pereira, S. A., & Serpa, J. (2021).** Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3765. doi:10.3390/ijms22073765

M

121. **Magnussen, A. L., & Mills, I. G. (2021).** Tumor vasculature as a target for cancer therapy. *Cancers*, 13(4), 784.
122. **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.
123. **Mareel, M., & Leroy, A. (2003).** Clinical, cellular, and molecular aspects of cancer invasion. *Physiological reviews*, 83(2), 337-376
124. **Martin, P. M., & Ouafik, L. H. (2012).** Angiogenesis: return to the fundamental. *Oncologie*, 14, 199-215.
125. **Matsuura, N., Miyamae, Y., Yamane, K., Nagao, Y., Hamada, Y., Kawaguchi, N., ...& Ishikawa, H. (2006).** Aged garlic extract inhibits angiogenesis and proliferation of colorectal carcinoma cells. *The Journal of nutrition*, 136(3), 842S-846S.
126. **Méjean A., & Lebret T. (2010).** Diffusion métastatique, angiogenèse et métastasogenèse. *Progrès en urologie*; vol.20: S5-S10.
127. **Merckx, G., Tay, H., Lo Monaco, M., van Zandvoort, M., De Spiegelaere, W., Lambrichts, I., & Bronckaers, A. (2020).** Chorioallantoic Membrane Assay as Model for Angiogenesis in Tissue Engineering: Focus on Stem Cells. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 519-539.
128. **Mergny, J. L., Guittat, L., & Ségal-Bendirdjian, É. (2020).** Télomères et Télomérase: des cibles toujours pertinentes en oncologie?. *Bulletin du Cancer*.
129. **MNT. (2021).** Genetic Testing for Cancer: What to Know. *Medical News Today*.
130. **Monge, M., Massy, Z. A., van Zonneveld, A. J., & Rabelink, T. J. (2011).** Cellules progénitrices endothéliales, de quoi parle-t-on?. *Néphrologie & thérapeutique*, 7(7), 521-525.
131. **Mongiat M., Andreuzzi E., Tarticchio G., et al.(2016).** Extracellular matrix: a hard player in angiogenesis. *International journal of molecular sciences*; vol.17(11): p1822.

N

- 132. National Cancer Institute. (2019).** Types of Cancer Treatment. Récupéré le [date], de <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
- 133. National Cancer Institute. (2021).** Genetics of Cancer. <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/genetics>
- 134. Nature. (2019).** Pazopanib in advanced soft tissue sarcomas | Signal Transduction and Targeted Therapy. <https://www.nature.com/articles/s41392-019-0049-6>
- 135. Nature. (2021).** Anti-angiogenic agents — overcoming tumour endothelial cell resistance Nature Reviews Clinical Oncology. <https://www.nature.com/articles/s41571-021-00496-y>.
- 136. Nature. (2022).** Sorafenib inhibits LPS-induced inflammation by regulating Lyn-MAPK-NF-kB/AP-1 pathway and TLR4 expression | Cell Death Discovery. <https://www.nature.com/articles/s41420-022-01073-7>
- 137. Nature. (2022).** VEGF-A, VEGFR1 and VEGFR2 single nucleotide polymorphisms and outcomes from the AGITG MAX trial of capecitabine, bevacizumab and mitomycin C in metastatic colorectal cancer | Scientific Reports. <https://www.nature.com/articles/s41598-021-03952-y>
- 138. NCI. (2021).** Genetics of Cancer. National Cancer Institute
- 139. NCI. (2021).** Managing Chemotherapy Side Effects: Mouth and Throat Changes. <https://www.cancer.gov/publications/patient-education/mouth-throat.pdf>.
- 140. NCI. (n.d.).** Angiogenesis Inhibitors - NCI - National Cancer Institute. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy/angiogenesis-inhibitors-fact-sheet>.
- 141. NCI. (n.d.).** Immunotherapy to Treat Cancer. Retrieved from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy..>
- 142. Neves, M., Sousa, N., & Castro, P. (2020).** Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *Frontiers in Oncology*, 9, 1370.

143. **Nicard E. (2017).** Hypoxie : définitions et mécanismes physiopathologiques. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 9(3):235–242.
144. **Nowak-Sliwinska, P., Segura, T., & Iruela-Arispe, M. L. (2014).** The chicken chorioallantoic membrane model in biology, medicine and bioengineering. *Angiogenesis*, 17(4), 779-804..

O

145. **Oksenhendler, E. (1989).** Azidothymidine. *Nouvelle revue française d'hématologie*, 31(2), 69-72.
146. **Organisation Mondiale de la Santé. (2018).** Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. Récupéré le [date], de <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>.
147. **Ornitz DM, Itoh N.(2015)** Fibroblast growth factors. *Genome Biol.*;16(1):212..
148. **Okano, J. L., Shiota, G., & Kawasaki, H. (1999).** Expression of hepatocyte growth factor (HGF) and HGF receptor (c-met) proteins in liver diseases: an immunohistochemical study. *Liver*, 19(2), 151-159).

P

149. **Papaetis, G. S., & Syrigos, K. N. (2009).** Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies. *BioDrugs*, 23(6), 377-389.
150. **Parsa, N. (2012).** Environmental factors inducing human cancers. *Iranian journal of public health*, 41(11), 1.
151. **Patel-Hett, S., & D'Amore, P. A. (2011).** Signal transduction in vasculogenesis and developmental angiogenesis. *The International journal of developmental biology*, 55,353.
152. **Pepper, M. S. (2000).** Angiogenèse et morphogenèse de l'arbre vasculaire: de la biologie cellulaire à la clinique. *MS. Médecine sciences*, 16(12), 1378-1386.

153. **Pezzella, F., Harris, A. L., Tavassoli, M., & Gatter, K. C. (2015).** Blood vessels and cancer much more than just angiogenesis. *Cell death discovery*, 1(1), 1-2.
154. **PIERRE-HENRI D et al., (2011).** Nutrition et cancer Légitimité de recommandations nutritionnelles dans le cadre de la prévention des cancers, Edition scientifique. Légitimité de recommandations nutritionnelles dans le cadre de la prévention des cancers. p16.
155. **Pinzani M, Milani S, Herbst H, et al.(1996)** Expression of platelet-derived growth factor and its receptors in normal human liver and during active hepatic fibrogenesis. *Am J Pathol.* ;148(3):785-800.
156. **Poirot, C. (2014).** L'information sur les effets indésirables de la chimiothérapie anticancéreuse: les besoins du patient et la place du pharmacien (Doctoral dissertation, Thèse d'exercice Pharmacie. Lorraine:[sn]).
157. **Presta M, Dell'Era P, Mitola S, Moroni E, Ronca R, Rusnati M.(2005)** Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev.* ;16(2):159-178.
158. **Provot S.(2014).** Contrôle de la croissance et de la dissémination tumorales par le microenvironnement-Certitudes et hypothèses émergentes.médecine/sciences; vol30(4): p366-371.
159. **Pasquet, V. (2011).** *Recherche bioguidée de molécules anticancéreuses issues de microalgues marines* (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
160. **Pillet, S., & Le Guyader, N. (2005).** Interaction des virus avec la voie cellulaire de réponse à l'hypoxie. *médecine/sciences*, 21(5), 517-522.

R

161. **Rajaut, F. (2001).** Le méningiome du chat: étude bibliographique (Doctoral dissertation).
162. **Raynaud J et Lavoisier, (2007)** : Prescription et conseil en aromathérapie. Edition Lavoisier. Pp : 7.
163. **Reuss B, von Bohlen und Halbach O, Unsicker K.(2003)** Fibroblast growth factors and their receptors in the central nervous system. *Cell Tissue Res.* ;313(2):139-157.

- 164. Ribatti, D. (2009).** Immune cells and angiogenesis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 13(8b), 2822-2833.
- 165. 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.
- 166. Rigaud, G., & Sturtz, F. (2005).** Angiogenèse tumorale: aspects physiopathologiques et thérapeutiques. *Revue francophone des laboratoires*.
- 167. Rigaud, M., & Sturtz, F. (2005).** Dany Leclers, Karine Durand, Aurélie Dutour, Guislaine Barrière, Jacques Monteil. *MEDECINE/SCIENCES*, 21, 839-47.
- 168. Rini, B. I., Cohen, D. P., Lu, D. R., Chen, I., Hariharan, S., Gore, M. E., ...& Motzer, R. J. (2009).** Hypertension as a biomarker of efficacy in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(10), 722-732.
- 169. Risau, W., & Flamme, I. (1995).** Vasculogenesis. *Annual review of cell and developmental biology*, 11(1), 73-91.
- 170. Rivlin, R. S. (2006).** Is garlic alternative medicine?. *The Journal of nutrition*, 136(3), 713S-715S.
- 171. Robert, C., Ribas, A., Wolchok, J. D., Hodi, F. S., Hamid, O., Kefford, R., & Schadendorf, D. (2014).** - Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial. *The Lancet*, 384(9948), 1109-1117.

S

- 172. Scott R.E., Wille J.J. Jr., Wier M.L. (1984).** Mechanisms for the initiation and promotion of carcinogenesis: a review and a new concept. *Mayo Clinic Proceedings* 59(2):107-117.
- 173. Scott, R. E., Florine-Casteel, K., & Markovitz, P. J. (1984).** The role of cell proliferation and cellular shape change in branching morphogenesis of the fetal

- mouselung: analysis using aphidicolin and cytochalasins. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 82(1), 135-151.
174. **Ségala, G. (2012).** Caractérisation des mécanismes moléculaires impliqués dans l'activité anti-cancéreuse du Tamoxifène et de la Dendrogénine A (Doctoral
175. **Sendl, A. (1995).** *Allium sativum* and *Allium ursinum*: Part 1 Chemistry, analysis, history, botany. *Phytomedicine*, 1(4), 323-339.
176. **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.
177. **Sheng, G. (2010).** The developmental basis of somitogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 21(4), 424-432.
178. **Siddiqui, M. S., François, R. A., Fornelli, L., & Kelleher, N. L. (2015).** Advancing top-down analysis of the human proteome using a benchtop quadrupole-orbitrap mass spectrometer. *Journal of Proteome Research*, 14(2), 609-618
179. **Siemann D.W. (2011).** The unique characteristics of tumor vasculature and preclinical evidence for its selective disruption by tumor-vascular disrupting agents. *Cancer Treat Rev.* 37(1):63-74.
180. **Siemann, D. W., Bibby, M. C., Dark, G. G., Dicker, A. P., Eskens, F. A., Horsman, M. R., & Tozer, G. M. (2011).** Differentiation and definition of vascular-targeted therapies. *Clinical Cancer Research*, 17(2), 192-196.
181. **Silagy, C. A., & Neil, H. A. (1994).** A meta-analysis of the effect of garlic on blood pressure. *Journal of hypertension*, 12(4), 463-468.
182. **Spear, M. A., LoRusso, P., Mita, A., & Mita, M. (2011).** Vascular disrupting agents (VDA) in oncology: advancing towards new therapeutic paradigms in the clinic. *Current drug targets*, 12(14), 2009-2015.

183. **Stacker, S. A., Achen, M. G., Jussila, L., Baldwin, M. E., & Alitalo, K. (2002).** Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 2(8), 573-583.
184. **StatPearls.(2022).** Bevacizumab-StatPearls-NCBIBookshelf.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482126/>.
185. **Stéhelin, D. (1985).** Les oncogènes cellulaires, clés de la cancérogenèse. Bs. 1 :1
186. **Stephan, D., Wilting, D., Zaric, V., Chapelon, D., Da Silva, A., & Lugnier, C. (2000).** Angiogenèse: De la physiologie à la thérapeutique. *Reanimation Urgences*, 9(7), 534-544.
187. **Sumiyoshi, H., & Wargovich, M. J. (1990).** Chemoprevention of 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in mice by naturally occurring organosulfur compounds. *Cancer research*, 50(16), 5084-5087.
188. **Szekanecz, Z., Besenyei, T., Szentpétery, A., Koch, A. E. (2010).** Angiogenesis and vasculogenesis in rheumatoid arthritis. *Current opinion in rheumatology*, 22(3), 299-306.
189. **Schlumberger, M. (2007, June).** Cancer papillaire et folliculaire de la thyroïde. In *Annales d'endocrinologie* (Vol. 68, No. 2-3, pp. 120-128). Elsevier Masson
190. **Swift, M. R., & Weinstein, B. M. (2009).** Arterial–venous specification during development. *Circulation research*, 104(5), 576-588.

T

191. **Tateishi, K., Iafrate, A. J., Ho, Q., Curry, W. T., Batchelor, T. T., Flaherty, K. T., Onozato, M. L., & Wakimoto, H. (2019).** Myc-Driven Glycolysis Is a Therapeutic Target in Glioblastoma. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25(17), 5459-5471
192. **Teillaud, J. L. (2015).** Quand les anticorps rencontrent l'immunité antitumorale: fin de partie pour la cellule cancéreuse?. *médecine/sciences*, 31(8-9), 707-708
193. **Thomson J M, Neuman M, Parkes J S, et al(2006).** Expensive part transcriptional regulation of micro RNAs and its implication for cancer, *Genes Dev.* 20: 2202-2207

- 194.Tobelem G.(2008).** Angiogenese physiologique et tumorale.Journal de Chirurgie; vol145(1): p4-7
- 195.Tozer, G. M., Kanthou, C., &Baguley, B. C. (2005).** Disrupting tumour blood vessels. Nature Reviews Cancer, 5(6), 423-435.
- 196.Treps, L., & Gavard, J. (2015).** L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tournemal. médecine/sciences, 31(11), 989-995.
- 197.Tubiana, M. (2008).** Généralités sur la cancérogenèse. Comptes rendus biologies, 331(2), 114-125.
- 198.Thai, H. T. (2013).** *Développement de modèles mécanistiques et évaluation de l'incertitude des paramètres par bootstrap: application aux médicaments anti-angiogéniques* (Doctoral dissertation, Université Paris-Diderot-Paris VII).
- 199.Takeda, A., Stoeltzing, O., Ahmad, S.A., Reinmuth, N., Liu, W., Parikh, A., ... & Ellis, L.M. (2002).** Rôle de l'angiogenèse dans le développement et la croissance de métastases hépatiques. Annals of Surgical Oncology, 9, 610-616.

U

- 200.Ueno H, Nakamura T, Torimura T et al.(1998)** Enhanced wound healing by topical administration of basic fibroblast growth factor in patients with chronic skin ulcer. Growth Factors. ;15(4):269-277..

V

- 201.Vaahomeri, K., Karaman, S., Mäkinen, T., & Alitalo, K. (2017)** Lymphangiogenesis guidance by paracrine and pericellular factors. Genes & development, 31(16), 1615-1634
- 202.VEZINAA., (2012).** Impact du statut de différenciation des cellules promyélocyaires HL-60 sur l'efficacité anticancéreuse et antiinflammatoire de l'EGCG, Physiologie et biophysique moléculaires, Université de Montréal, p109.
- 203.Vittet, D., & Feige, J. J. (2007).** Lymphangiogenèse et progression tumorale. Lymphangiogenesis and tumor progression. Bulletin du cancer, 94(10), 881-6.

W

- 204.-Wacker, A., & Gerhardt, H. (2011). Endothelial development taking shape. *Current opinion in cellbiology*, 23(6), 676-685.
- 205.Waldman A. D., Fritz J. M., &Lenardo M. J. (2020). A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nature Reviews Immunology* , 20 , 651–668.
206. Wang, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Bai, X., Wang, X., Chen, B., ...& Wei, Y. (2021). Chorioallantoic membrane assay: a 3D animal model for the study of human diseases. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment*, 7.
- 207.Warshafsky, S., Kamer, R. S., &Sivak, S. L. (1993). Effect of garlic on total serum cholesterol: a meta-analysis. *Annals of internalmedicine*, 119(7_Part_1), 599-605.
- 208.Weber, M., & De Bandt, M. (2000). Angiogenesis and inflammation in rheumatoid arthritis: an update on pathogenic and therapeutic implications. *Joint Bone Spine*, 67(6), 497-506.
- 209.Werner S, Grose R.(2003) Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* ;83(3):835-870.
- 210.Wikipedia. (n.d.). Bevacizumab - Wikipedia.
<https://en.wikipedia.org/wiki/Bevacizumab>.
211. Wilson, S. R., &Steck, W. F. (2000). The use of the chick embryo chorioallantoic membrane in the study of angiogenesis and vascular responses to natural products. In *Natural Products and Drug Discovery* (pp. 123-134). Elsevier.
212. World Cancer Research Fund International. (2018). Diet, Nutrition, Physical Activity and Cancer: a Global Perspective. Récupéré le [date], de <https://www.wcrf.org/dietandcancer>.
213. World HealthOrganization. (2020). Cancer. Récupéré le [date], de https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1.

Y

214. **Yassine, H. (2014).** Caractérisation d'endocan murin: dualité fonctionnelle pro-ouanti-tumorale de l'endocan selon son statut de glycosylation. Etude des mécanismes d'action anti-tumorale.
215. **Yee A.S.(2019).** The RB tumor suppressor in stress responses and hematopoietic homeostasis.Frontiers in Cell and Developmental Biology7(201).

Z

216. **Zhang Y.,& Zhang Z. (2020).** The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. Cellular & Molecular Immunology , 17 , 807–821.
217. **Zhang, Y., Li, X., Wang, Y., Chen, X., & Liu, Y. (2021).** Imaging techniques for assessing the vascular responses to natural products in the chick embryo chorioallantoic membrane assay. Journal of Natural Products, 84(1), 13-20.
218. **Zhang, Y., Zhang, Y., Bai, X., Wang, X., Chen, B., & Wei, Y. (2018).** Chorioallantoic membrane assay: a 3D animal model for the study of human diseases. Journal of Cancer Metastasis and Treatment, 4.
219. **Zhou, Y., Wang, Y., Qiao, L., Zhang, J., Wang, C., Zhang, M., ... & Liu, Z. (2019).** Chorioallantoic membrane (CAM) assay for the study of human bone regeneration. Journal of VisualizedExperiments: JoVE(144).