

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences  
de la Nature et de la Vie

Département de Biologie  
Moléculaire et Cellulaire



جامعة جيجل

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

*Mémoire de Fin d'Études pour L'Obtention du Diplôme  
des Études Supérieures en Biologie*

جامعة محمد الصديق بن يحيى  
كلية علوم الطبيعة والحياة  
المكتبة  
2734  
رقم الجرد :

Option : Biochimie

Intitulé

**La Chimio-prévention de  
l'Angiogénèse Tumorale par la  
Thérapie Anti-inflammatoire.**

Membres du Jury :

Examinatrice : M<sup>me</sup> HIRECHE S.

Encadreur : M<sup>me</sup> BENGUEDOUAR L.

Présenté par :

M<sup>elle</sup> GRIMES Wafia

Mme YOURIDE Hanane

*Année Universitaire : 2012-2013*



# Remerciement

*Tout d'abord, nous remercions **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, et la force pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre remerciement et notre respect à notre encadreur :*

***M<sup>e</sup> BENGUEDOUAR L.** pour sa bonne direction et à notre examinateur*

***M<sup>e</sup> HIRECHE S.***

*A tous les enseignants qui ont été un bon bénéfice durant nos études ainsi que nos parents qui sont très chers, tous nos amis et tous ceux qui nous ont témoigné leur affection et leur soutien durant ces longues années.*

*Merci à tous*

***Wafia et Hanane***

# Sommaire

<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

## **Chapitre I: Angiogenèse Physiologique et Tumorale**

I.1. Angiogenèse physiologique.....	2
I.1.1. Définition.....	2
I.1.2. De la vasculogénèse à l'angiogénèse.....	2
I.1.3. Les étapes principales de l'angiogénèse.....	3
I.1.3.a. La vasodilatation et la perméabilité vasculaire.....	3
I.1.3.b. La dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire.....	4
I.1.3.c. La migration et la prolifération des cellules endothéliales.....	4
I.1.3.d. La formation du lumen et la maturation des vaisseaux.....	4
I.1.4. Régulation de l'angiogénèse.....	5
I.1.5. Les facteurs angiogéniques.....	6
I.1.6. Rôle du VEGF dans l'angiogénèse physiologique .....	7
I.2. Angiogenèse tumorale.....	7
I.2.1. Définition.....	7
I.2.2. Étapes de l'angiogénèse tumorale.....	7
I.2.3. Le switch angiogénique .....	8
I.3. Un facteur clé de l'angiogénèse tumorale : le VEGF .....	9
I.3.1. Biologie du VEGF .....	9
I.3.2. Rôle du VEGF dans l'angiogénèse tumorale .....	10
I.3.3. Structure du VEGF .....	10
I.3.4. Les récepteurs du VEGF .....	11
I.3.4.a. VEGFR-1.....	11
I.3.4.b. VEGFR-2.....	11
I.3.4.c. VEGFR-3.....	11
I.3.5. La signalisation cellulaire de la famille des VEGF .....	12
I.3.5.a. Rôle de VEGF dans la migration cellulaire.....	12
I.3.5.b. Rôle de VEGF dans la prolifération cellulaire.....	13
I.3.5.c. Rôle de VEGF dans la survie cellulaire.....	13
I.3.5.d. Rôle de VEGF dans la perméabilité cellulaire.....	13
I.3.6. Régulation de l'expression génique du VEGF .....	14
I.4. Rôle de la matrice extracellulaire dans l'angiogénèse tumorale.....	15
I.5. L'invasion tumorale et la formation des métastases .....	15

## Chapitre II: Les Anti-inflammatoires Non stéroïdiens

II.1. Historique .....	17
II.2. Contexte pharmacologique .....	17
II.3. Principales caractéristiques des AINS .....	18
II-3-1-Définition .....	18
II.3.2. Propriétés thérapeutiques.....	18
II.4. Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens .....	19
II.4.1. Classification chimique .....	20
II.4.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité Cox .....	20
II.4.3. Classification selon la sélectivité pour Cox-1 et Cox-2.....	21
II.5. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens .....	22
II.5.1. Mécanismes de Cox dépendent.....	23
II.5.2. Mécanismes de Cox indépendant.....	23

## Chapitre III: La Chimio-prévention de l'Angiogenèse Tumorale par les Anti-inflammatoires

III. La thérapie anti-angiogénique .....	24
III.1. Inhibiteurs pharmacologiques de la voie du VEGF .....	24
III.1.1. Le Bevacizumab.....	24
III.1.2. Le Sorafénib et le Sunitinib.....	25
III.2.1. Inhibiteurs des Cyclooxygénases dans l'angiogénèse.....	25
III.2.1.a. Les inhibiteurs de la synthèse de prostaglandines.....	26
III.2.1.b. Les inhibiteurs de la Cox-2 .....	26
III.2.2. Produits naturels inhibiteurs de la Cyclooxygénase-2 : Rôle dans l'angiogénèse.	27
a. La Curcumine .....	27
• Effets anti-prolifératifs de la Curcumine sur des lignées cellulaires cancéreuses et endothéliales.....	28
• Effet de la curcumine sur la production du VEGF.....	28
• Effet inhibiteur de l'activité des MMPs par la Curcumine .....	28
b. Le Resvératrol .....	29
• Effets anti-angiogénique du Resveratrol .....	29
• Effet du Resveratrol sur l'activité des MMPs.....	30
• Effet du Resveratrol sur la différenciation capillaire des HUVECs induite par bFGF .....	30
• Effet du Resveratrol sur l'expression protéique du VEGF et du bFGF.....	30
c. Les flavonoides .....	30
• Effet anti-angiogénique des flavonoides .....	32
• Effets des flavones sur la sécrétion des MMPs .....	33

III.2.3. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :	
Effets Inhibiteurs des cyclooxygénases par les anti- inflamatoires non stéroïdiens...	33
a. L'Aspirine.....	33
• Effet de l'Aspirine sur l'angiogénèse.....	34
• Effet de l'Aspirine sur la migration de la cellule endothéliale.....	34
b. Diclofénac.....	34
• Effet anti-angiogénique du Diclofénac .....	34
• Effet de Diclofenac sur la viabilité de cellules du cancer de prostate.....	35
c. Ibuprofène .....	35
• Effet antiprolifératif de l'Ibuprofène sur les lignées MKN-45 .....	35
• Effet d'Ibuprofène sur les facteurs de croissance .....	35
<b>Conclusion</b> .....	37
<b>Références bibliographiques</b> .....	

## **Les abréviations :**

**ADN:** Acide Désoxyribonucléique.

**AINS:** Anti-Inflammatoires Non Steroïdiens .

**Ang:** Angiopoïétine.

**BFGF:** Basic Fibroblast Growth Factor.

**bFGF:** Facteur de Croissance de Fibroblaste de base.

**CAM:** Chorioallantoic Membrane.

**COX:** Cyclo-Oxygénase.

**CRCC:** Carcinome Rénal à Cellules Claires.

**CSF1R:** Colony-Stimulating Factor 1 Receptor.

**CSFR1:** Colony-Stimulating Factor 1 Receptor.

**DAG:** Diacylglycerol.

**EGCG:** Epigallocatechin-3-Gallate.

**eNOS:** endothelial Nitric Oxide Synthase.

**ERK:** Extracellular-Regulated Kinase.

**FAK:** Kinase d'adhésion Focale.

**FGF:** Facteur de Croissance du Fibroblast.

**FLT4:** Fms-related Tyrosine Kinase.

**HIF:** Hypoxy Inducing Factor.

**HRE:** Hypoxia Response Elemen.

**HUVECs:** Human Umbilical Vein Endothelial Cells.

**MEK:** MAPK-ERK Kinase.

**MEPK:** Mitogen-Activated Protein Kinase.

**MKN-45:** Human Gastric Adenocarcinoma Cells.

**NF-κB:** Nuclear Factor κB.

**MMP:** Matrix Metalloproteinase.

**NPs :** NanoParticules.

**NSAIDs:** Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs.

**PDGF:** Platelet Derived Growth Factor.

**PDGF-B:** Platelet-Derived Growth Factor-B.

**PDGFR- $\beta$ :** Platelet Derived Growth Factor Receptor.

**PGs :** Prostaglandins.

**PHD:** Prolyl-4-Hydroxylase.

**PI3K:** Phosphatidylinositol-3-Kinase.

**PKB:** Protéine Kinase B.

**PLGA:** Acide Poly Lactic-Co-Glycolique.

**PLGF:** Placental Growth Factor.

**S1P1:** Sphingosine-1-Phosphate-1.

**TXA2:** Thromboxane-A2.

**TXB2:** Thromboxane-B2.

**TGF- $\beta$ :** Transforming Growth Factor- $\beta$ .

**TNF- $\alpha$ :** Tumour Necrosis Factor- $\alpha$ .

**U87:** Cellules de glioblastome humain.

**uPA:** Plasminogène de type urokinase.

**RBE4:** Rat Brain capillary Endothelial cells.

**VEGF:** Vascular Endothelial Growth Factor.

**VEGFR-:** Vascular Endothelial Growth Factor Receptor.

## Glossaire

**Angiopoïétines** : Stabilisation/Maturation des vaisseaux sanguins, recrutement péricytes Ang-1 agoniste récepteur tie-2 (CE et CHP) Ang-2 antagoniste de l'ang-1, proangiogénique en inhibant l'action stabilisatrice de l'ang-1.

**Apoptose** : mort cellulaire programmée.

**Artériogénèse** : épaissement pariétal, prolifération CML, péricytes pour former un réseau vasculaire mature

**Endothélium** : revêtement cellulaire interne des vaisseaux et des cavités cardiovasculaires.

**IC50** : dose de l'AINS ayant inactivé 50% de l'acide arachidonique.

**Ischémie** : affection résultant de la diminution du flux sanguin en raison d'une obstruction. L'ischémie est réversible si le flux sanguin normal peut être rétabli.

**L'endoderme** : la couche plus intérieure, produira les intestins, les poumons et le foie

**Le mésoderme** : la couche moyenne, donnera naissance aux reins aux organes reproducteurs, aux os, aux muscles et système vasculaire.

**Matrice extracellulaire** : substance fondamentale extracellulaire dans laquelle sont incluses les cellules formant des tissus.

**Métastase** : tumeur maligne secondaire à une tumeur primitive du système nerveux central ou à un cancer viscéral primitif. Les métastases sont très fréquentes et peuvent siéger en n'importe quel point du système nerveux central, mais les plus fréquentes sont celles des hémisphères cérébraux. Elles peuvent être uniques ou multiples et de taille variable. Leur origine est variable, mais le plus fréquemment elles proviennent du poumon ou du sein.

**Précytes** : sont des cellules accolées aux cellules de capillaires. Ils sont présents dans la membrane basale. Leur présence permet de renforcer la paroi des capillaires.

**Protéase** : enzyme agissant sur les protéines pour les cliver.

**Protooncogène** : gènes cellulaires dont les produits participent normalement aux communications intra ou intercellulaires.

**Remodelage artériel**: modification de la structure du vaisseau (diamètre du vaisseau et épaisseur de la paroi artérielle) en réponse à un stimulus (augmentation du débit sanguin).



## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>page</b>
<b>Tableau 1</b> : Liste non exhaustive des régulateurs positifs et négatifs de l'angiogénèse.....	<b>6</b>
<b>Tableau 2</b> : Classification chimique des AINS.....	<b>20</b>
<b>Tableau 3</b> : Classification des AINS selon leur mode d'inhibition enzymatique des COX...	<b>21</b>
<b>Tableau 4</b> : Classification des AINS selon leur sélectivité inhibitrice en vers les isoformes de type 1 et 2 de la cyclooxygénase.....	<b>22</b>

## Liste des Figures

Figure	Page
<b>Figure 1:</b> La vasculogénèse .....	3
<b>Figure 2:</b> Représentation schématique des étapes principales de l'angiogénèse.....	5
<b>Figure 3:</b> Switch angiogénique .....	9
<b>Figure 4:</b> Représentation des liaisons membranaire du VEGF à leurs récepteurs ....	12
<b>Figure 5:</b> Voies de signalisation activées par le VEGF et fonction physiologique ...	14
<b>Figure 6:</b> La formation des métastases .....	16
<b>Figure 7:</b> Optimisation de la signalisation de VEGF .....	25
<b>Figure 8:</b> Production du VEGF par les cellules 4T1 in vitro en présence du SC-236 ou de l'indométhacine à 5 ou 10 $\mu\text{M}$ .....	Annexe I
<b>Figure 9:</b> Apoptose de cellules 4T1. En présence SC-236 ou indométhacine à 5 ou 10 $\mu\text{M}$ .....	Annexe I
<b>Figure 10:</b> Structure développée du Curcumine. ....	27
<b>Figure 11:</b> Effet de la Curcumine sur la synthèse de l'ADN, test de la Thymidine $^3\text{H}$	Annexe II
<b>Figure 12:</b> Effets inhibiteurs de la curcumine sur l'activité et l'expression de la MMP-9 A : expression de la Pro-MMP-9 issue des cellules HUVEC. B : activité gélatinolytique de la MMP-9 .....	Annexe II
<b>Figure 13:</b> Effet de la Curcumine sur la migration des cellules endothéliale.....	Annexe II
<b>Figure 14:</b> Effet de la Curcumine sur la formation de réseau de néovaisseaux in vitro sur des cellules HUVECs .....	Annexe II
<b>Figure 15:</b> Structure développée du Resveratrol.....	29
<b>Figure 16:</b> Effets de différentes concentrations de Resveratrol sur l'activité gélatinolytique des MMP-2 et -9 dans les cellules RPMI 8226 .....	Annexe III
<b>Figure 17:</b> Effets du Resveratrol sur la sécrétion du VEGF et bFGF par les cellules RPMI 8226.....	Annexe III
<b>Figure 18:</b> Structure de base des flavonoïdes .....	31
<b>Figure 19:</b> Effets anti-tumoraux des flavonoïdes.....	32
<b>Figure 20:</b> Effet de la quercétine sur l'expression de la COX-2.....	Annexe IV
<b>Figure 21:</b> Inhibition par la lutéoline, de l'excrétion par les PSMCs de la proMMP-2 dans le milieu de culture.....	Annexe IV
<b>Figure 22:</b> L'aspirine empêche la prolifération de cellules endothéliale et réduit la viabilité de cellules.....	Annexe IV
<b>Figure 23:</b> L'aspirine induit l'apoptose .....	Annexe IV
<b>Figure 24:</b> la phosphorylation p38 VEGF-induite est empêchée par AtI-1 .....	Annexe IV
<b>Figure 25:</b> Effets de Diclofenac sur les cellules LNCaP-COX-2 et LNCaP-Néo.....	Annexe IV

# ***Introduction générale***

L'angiogénèse tumorale se produit quand un réseau de vaisseaux sanguins prolifère et pénètre les tumeurs cancéreuses. Les cellules tumorales libèrent des molécules qui envoient des signaux aux tissus sains environnants. Ces signaux activent certains gènes dans les tissus hôtes qui, à leur tour, produisent des protéines qui favorisent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins.

Ce processus s'organise selon le concept du switch angiogénique. On pourrait la comparer à une balance dont la position varie en fonction du poids des mécanismes pro-angiogéniques (par VEGF, PDGF...) et des mécanismes et de celui des mécanismes anti-angiogénique (par angiostatine...) (Méjean & Lebret, 2008).

L'importance de l'angiogénèse pour la croissance des tumeurs est largement reconnue. L'inflammation dépendant de l'angiogénèse semble être d'une importance centrale dans la croissance et l'expansion de tumeurs. Les mécanismes de l'inflammation de l'angiogénèse fournissent de nouvelles approches à la cible, traitement, ou même améliorer et empêcher l'angiogénèse tumorale par traitement avec des produits synthétiques ou agents anti-inflammatoires. Un concept soutenu par observation stipule que l'utilisation des médicaments anti-inflammatoires classiques, comme les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), conduit à l'inhibition de l'angiogénèse (Albini et al., 2005).

De nombreuses études expérimentales, épidémiologiques et cliniques suggèrent que les AINS sont des inhibiteurs fortement sélectifs de la Cox-2 et empêchent également l'angiogénèse (Michael et al., 2002).

Des observations expérimentales ont montré qu'une série de médicaments a été proposé comme de potentiels agents chimiopréventifs du cancer, ces substances ont montré des propriétés anti-angiogénique *in vitro* et *in vivo* sur des modèles cellulaires (HUVEC) et animaux respectivement. D'autre part, des produits naturels (tels que la curcumine, resveratrole, flavonoïde ...) retrouvés généralement dans l'alimentation ont montré des effets anti-inflammatoires qui de plus empêchent l'invasion de cellules endothéliales par inhibition directe de l'activité des MMPs (2 et 9), et indirectement par diminution de l'expression du VEGF (Tosetti et al., 2002).

Le présent recueil rassemble des informations bibliographiques sur la chimioprévention de l'angiogénèse tumorale par les médicaments AINS en s'intéressants aux substances les plus prescrites (Diclofenac, Aspirin, Ibuprofène) comme agents anticancéreux à action anti-angiogéniques. Nous présentons les résultats de plusieurs études de l'inhibition de l'angiogénèse par des substances (naturelles et synthétiques) ayant un potentiel effet anti-inflammatoire ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués.

# **Chapitre 1**

## **Angiogénèse Physiologique et Tumorale**



C'est dans cet ordre d'idée qu'il y a une trentaine d'années, suite au concept d'angiogenèse tumorale formulé par Judah Folkman, la théorie selon laquelle s'opposer à la vascularisation d'une tumeur pourrait constituer une nouvelle stratégie thérapeutique anticancéreuse, a vu le jour (Folkman, 2006). L'angiogenèse est maintenant un champ d'investigation de pointe et un sujet majeur de la recherche biomédicale (Folkman, 1971). Le développement du système vasculaire est un processus complexe hautement régulé. Il se compose de deux phénomènes successifs: la vasculogénèse et l'angiogenèse (Risau, 1997).

## **I.1. Angiogenèse physiologique**

### **I.1.1. Définition**

L'angiogenèse est un processus complexe, multi-étapes qui mène à la formation de nouveaux capillaires sanguins (néovaisseaux) à partir des vaisseaux préexistants (Chabannes et *al.*, 2001). Lors de l'embryogenèse, le processus de néo vascularisation dépend de l'origine de l'organe. Ainsi, la vasculogénèse est un mécanisme prépondérant dans les ébauches d'organes constitués de mésoderme et d'ectoderme (poumon, pancréas, rate). En revanche, dans les organes composés de mésoderme et d'ectoderme (cerveau, rein), la vascularisation s'établit par angiogenèse (Ortega et *al.*, 1997). Chez l'adulte sain, l'angiogenèse intervient principalement au cours du cycle ovarien et de la grossesse. Elle participe également au développement d'une circulation collatérale lors de l'exercice physique. On parle alors d'artériogénèse. En conditions pathologiques, l'angiogenèse est impliquée dans les phénomènes de croissance tumorale, dans des affections oculaires comme la dégénérescence maculaire liée à l'âge et la rétinopathie diabétique, dans la cicatrisation de blessure ou dans des maladies inflammatoires comme la polyarthrite rhumatoïde ou le psoriasis (Ferrara & Kerbel, 2005).

### **I.1.2. De la vasculogénèse à l'angiogenèse**

Lors de la vasculogénèse, les hémangioblastes (progéniteurs communs des cellules endothéliales et hématopoïétiques) apparaissent dans les îlots sanguins de l'aire extraembryonnaire et sur la paroi ventrale de l'aorte mésodermique. Les cellules en périphérie des îlots sanguins donneront naissance aux angioblastes, tandis que celles au centre reconstitueront les progéniteurs hématopoïétiques. Les angioblastes s'assemblent en un plexus vasculaire primitif qui sera affiné en un réseau fonctionnel par angiogenèse et artériogénèse (Figure 1) (Carmeliet, 2004).

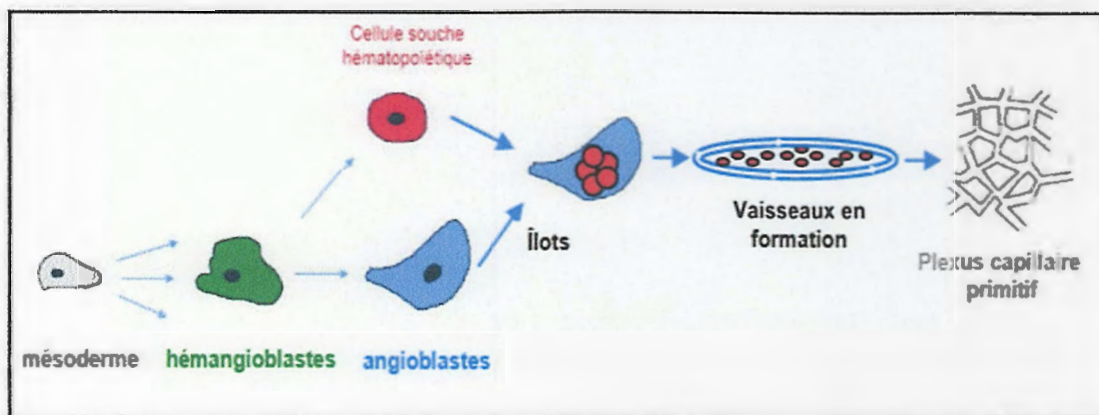


Figure 1: La vasculogénèse (D'après Carmeliet, 2004).

L'angiogenèse peut se dérouler selon trois mécanismes: par bourgeonnement ("sprouting"), par élargissement et séparation des vaisseaux déjà formés (intussusception) ou encore par septation où les cellules poussent à l'intérieur des vaisseaux pour créer des canaux vasculaires séparés ("bridging") (Carmeliet, 2000).

Le mécanisme le plus étudié est l'angiogenèse bourgeonnante qui est caractérisée par différentes étapes. L'initiation de l'angiogenèse, suite à un stimulus angiogène local tel que l'hypoxie, débute par une vasodilatation et une augmentation de la perméabilité des vaisseaux via la dissolution des jonctions d'adhésion. La dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire environnante permet alors la migration et la prolifération des cellules endothéliales qui s'assemblent en tubes, formant ainsi des vaisseaux primitifs. Lors de la maturation, certains de ces vaisseaux deviennent des capillaires après différenciation et apposition de cellules mésenchymateuses spécialisées, les péricytes; d'autres se transforment en vaisseaux de plus grands calibres (artères et veines) après la mise en place d'une paroi constituée de plusieurs couches de cellules musculaires lisses (Pepper, 2000).

### I.1.3. Les étapes principales de l'angiogenèse

#### I.1.3.a. La vasodilatation et la perméabilité vasculaire

Lors de la néovascularisation par bourgeonnement, les vaisseaux existants se dilatent sous l'action du monoxyde d'azote (NO) et deviennent perméables grâce au VEGF. Cette augmentation de la perméabilité est due à la formation de fenestrations et d'organelles vésiculo-vacuolaires, à la redistribution des molécules d'adhésion inter-cellulaire telles que PECAM-1 et VEcadhérine et à la modification des propriétés des membranes cellulaires lors de l'activation des Src kinases (Carmeliet, 2000; Jain, 2003). L'hyperperméabilité de la paroi vasculaire est induite par le VEGF dont la transcription est en partie régulée positivement par le NO et est contrôlée par l'angiopoïétine (Silvestre & Levy, 2002).

### I.1.3.b. La dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire

La membrane basale et la matrice extracellulaire sont dégradées suite à l'activation de protéases telles que l'activateur du plasminogène de type urokinase (uPA), les métalloprotéinases MMP-2, -3 et -9 et à la suppression d'inhibiteurs de protéases.

Ces dégradations permettent ainsi la migration des cellules endothéliales dans la matrice interstitielle environnante. La dégradation de la matrice extracellulaire permet également d'activer ou de libérer des facteurs de croissance comme le FGF ou le VEGF séquestrés dans cette matrice (Carmeliet, 2000; Silvestre & Levy, 2002; Jain, 2003). L'angiopoïétine-2 (Ang-2) intervient aussi dans la déstabilisation des vaisseaux matures en détachant les cellules musculaires lisses et en relâchant la matrice, ce qui permet aux cellules endothéliales de migrer (Carmeliet, 2000; Conway *et al.*, 2001).

### I.1.3.c. La migration et la prolifération des cellules endothéliales

Les cellules endothéliales peuvent migrer et proliférer vers les stimuli angiogènes. Les cellules endothéliales forment de fins prolongements cytoplasmiques et les cellules migrantes s'allongent et s'alignent les unes avec les autres pour former un bourgeon capillaire. L'activation de PI3K/Akt promet la survie et la prolifération des cellules endothéliales via la modulation de nombreux régulateurs du cycle cellulaire, incluant cycline D1, p27 et Bcl-X2.

Lors de la migration, les cellules endothéliales expriment à leur surface des intégrines qui facilitent leur adhésion à la matrice extracellulaire. Ainsi, l'expression des intégrines  $\alpha\beta3$  et  $\alpha\beta5$  augmente dans les cellules endothéliales en prolifération grâce à la stimulation du bFGF et du VEGF (Milkiewicz *et al.*, 2006).

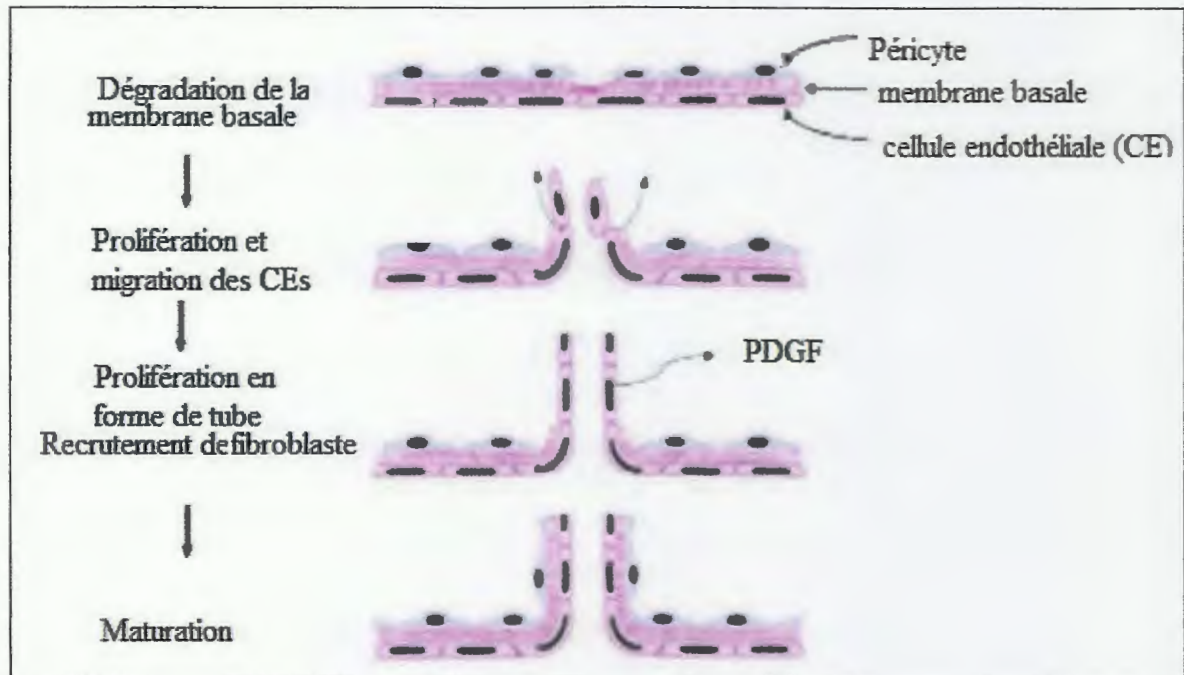
### I.1.3.d. La formation du lumen et la maturation des vaisseaux

Après avoir migré et proliféré, les cellules endothéliales s'assemblent en tubes et forment un lumen (Milkiewicz *et al.*, 2006). Au niveau moléculaire, on distingue plusieurs facteurs impliqués dans la formation du lumen: les intégrines  $\alpha5\beta1$  et  $\alpha\beta3$ , les VEGF (les isoformes VEGF121 et VEGF165 et leurs récepteurs augmentent la formation du lumen tandis que VEGF189 diminue son diamètre), et Ang-1 qui, en combinaison avec le VEGF, augmente le diamètre du lumen (Conway *et al.*, 2001).

Les vaisseaux nouvellement formés sont ensuite stabilisés, lors du processus de maturation, par recrutement des cellules mésenchymateuses qui se différencient en cellules péri-endothéliales (péricytes, cellules musculaires lisses) et par génération de la matrice extracellulaire. Plusieurs molécules sont impliquées dans la régulation de ce processus: le facteur PDGF-B et son récepteur PDGFR- $\beta$ ; la S1P1 et EDG1; Ang-1 et son récepteur à tyrosine kinase Tie-2, le facteur TGF- $\beta$  (Jain, 2003). Le facteur de croissance PlGF peut aussi assister le processus de stabilisation. PlGF présente une haute affinité pour le récepteur à tyrosine kinase VEGFR-1.



L'activation de ce récepteur sur les cellules péri-endothéliales stimule le recouvrement et la stabilisation des capillaires (Figure 2) (Milkiewicz et *al.*, 2006).



**Figure 2:** Représentation schématique de principales étapes de l'angiogenèse. Déstabilisées, les CEs sont capables de dégrader la MB, puis de proliférer et migrer en direction du gradient de concentration en VEGF. Ces cellules s'organisent alors en une structure en forme de tube, sécrètent des molécules de PDGF afin de recruter des fibroblastes, indispensables à la maturation du néo-vaisseau (D'après Carmeliet, 2004).

#### I.1.4. Régulation de l'angiogenèse

Chez les mammifères adultes, en conditions physiologiques normales, le réseau vasculaire est quiescent. L'angiogenèse est un processus finement contrôlé par une balance d'activateurs et d'inhibiteurs produits par des cellules normales (Tableau 1). Un changement dans l'équilibre de ces régulateurs peut induire une angiogenèse excessive ou insuffisante (Liekens et *al.*, 2001).

**Tableau 1 : Liste non exhaustive des régulateurs positifs et négatifs de l'angiogenèse.**  
(D'après Liekens et *al.*, 2001).

Régulateurs positifs	Régulateurs négatifs
aFGF et bFGF Ang 1 Angiogénine EGF Héparine HGF Hypoxie IL-8 PDGF-B Prostaglandines TGF- $\alpha$ et TGF- $\beta$ TNF- $\alpha$ VEGF	Angiostatine Endostatine Inhibiteurs des MMP et des PA Interférons Fragments 16K de la PRL, GH, GH-V et PL PF4 PRP TGF- $\beta$ Thrombospondine Troponine I

### I.1.5. Les facteurs angiogéniques

La régulation de l'angiogenèse est un équilibre complexe entre activation et inhibition des processus impliqués. Les cellules endothéliales sont maintenues dans un état de quiescence par la présence concomitante des facteurs anti-angiogéniques et pro-angiogénique. Cet équilibre peut basculer en faveur de l'angiogenèse par excès de facteurs angiogéniques et/ou par défaut de facteurs anti-angiogénique, c'est le mécanisme de commutation angiogénique ou «Switch angiogénique» (Hanahan & Folkman, 1996). Les inhibiteurs et activateurs de l'angiogenèse sont des cytokines et des facteurs de croissance qui agissent directement au niveau des cellules endothéliales ou indirectement via des cellules «accessoires» (monocytes, macrophages, mastocytes et cellules T) (Bussolino et *al.*, 1997). Les cytokines pro-angiogéniques les mieux caractérisées sont les facteurs de croissance : aFGF et bFGF, est le VEGF qui jouent un rôle essentiel dans la migration et la prolifération des cellules endothéliales (Montesno et *al.*, 1986). De nombreux facteurs sont impliqués lors des différentes étapes de l'angiogenèse peuvent être regroupés suivant leur principal rôle physiologique :

- Les facteurs de croissance: PIGF, PDGF, HGF, TGF- $\alpha$  et TGF- $\beta$ , EGF, IGF-1, PDECGF.
- Les médiateurs de l'inflammation: TNF- $\alpha$ , IL-8, IL-3, Prostaglandines E1 et E2.
- Les facteurs hématopoïétiques: Erythropoïétine, G-CSF et GM-CSF.
- En fin des molécules sécrétées par le tissu environnant: L'angiopoïétine 2 (ang-2) en présence du VEGF et l'angiopoïétine 1 (ang-1).



De nombreux inhibiteurs de l'angiogenèse ont également été identifiés, La plupart inhibent la prolifération et la migration des cellules endothéliales, certaines sont également capables d'induire leur apoptose. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer : l'angiostatine, l'endostatine, la prolactine et TSP-1 (Liekens *et al.*, 2001).

### **I.1.6. Rôle du VEGF dans l'angiogenèse physiologique**

Tout d'abord, l'action biologique du VEGF a été décrite comme étant un facteur de perméabilité vasculaire dont il est le plus puissant inducteur (Dvorak, 2002). Il agit par ailleurs comme chémokine pour les monocytes qui sont ainsi recrutés vers les sites d'inflammation. De plus, c'est un mitogène puissant et spécifique des cellules endothéliales vasculaires. Il joue enfin un rôle unique dans la régulation de la croissance de tous types de vaisseaux sanguins lors des processus d'angiogenèse (Kerbel, 2000).

## **I.2. Angiogenèse tumorale**

### **I.2.1. Définition**

L'angiogenèse tumorale est un processus complexe résultant d'une interaction entre deux types tissulaires: la tumeur et le réseau vasculaire dans l'objectif de former des néovaisseaux (folkman *et al.*, 1990).

L'angiogenèse tumorale correspond à l'apparition de nouveaux vaisseaux destinés à répondre aux métabolites de la tumeur. Cependant contrairement à ce que l'on observe dans ces phénomènes physiologiques, ce processus est caractérisé par une organisation et des dimensions vasculaires anarchiques ainsi qu'une perméabilité vasculaire accrue. L'étape la plus importante du ce phénomène est le « **Switch angiogénique** » (Ravoud, 2007).

### **I.2.2. Étapes de l'angiogenèse tumorale**

Le déroulement de l'angiogenèse tumorale peut être divisé en quatre grandes étapes, chacune faisant intervenir des acteurs cellulaires et moléculaires spécifiques :

- Activation des cellules endothéliales par des facteurs angiogéniques qui conduit à la dégradation localisée de la membrane basale et de la matrice extracellulaire environnante (Folkman, 1971).
- Prolifération suivie de la migration orientée des cellules endothéliales dans la matrice extracellulaire.
- Différenciation des premières cellules qui s'organisent en structures tubulaires avec une lumière et une nouvelle lame basale.

- Maturation des vaisseaux qui fait appel au recrutement des cellules péri endothéliales (cellules musculaires lisses, péricytes). Avec ces phases, on aboutit alors à un réseau vasculaire tumoral fonctionnel.

Les vaisseaux tumoraux se distinguent des vaisseaux normaux par des anomalies structurelles et fonctionnelles. La vascularisation tumorale résulte d'un processus angiogénique moins finement régulé que le processus physiologique (Carmeliet & Jain, 2000).

### I.2.3. Le Switch angiogénique

En effet, les nouveaux vaisseaux sanguins approvisionnent la tumeur en oxygène et en nutriments permettant ainsi son expansion au-delà d'1 à 2 mm<sup>3</sup>. Ils éliminent les déchets métaboliques et fournissent également des cytokines et des facteurs de croissance qui stimulent directement la croissance des cellules cancéreuses.

La progression tumorale est caractérisée par une phase prévasculaire et une phase vasculaire. (Bergers et *al.*, 2003).

La première phase, dite dormante, se caractérise par une masse tumorale inférieure à 1 mm<sup>3</sup> qui reste dans un état latent et bénin. La seconde phase, dite angiogénique et invasive, permet à la tumeur de croître au-delà de 1 mm<sup>3</sup>, de se développer dans le tissu hôte et éventuellement d'envahir le tissu avoisinant. Le passage entre ces deux phases est contrôlé par un relais moléculaire appelé «Switch» angiogénique (Yance & Sagar, 2006).

- ❖ La phase prévasculaire est caractérisée par une augmentation de la croissance tumorale suivie par un plateau durant lequel le taux de cellules en prolifération est balancé par le taux de cellules en apoptose.
- ❖ Durant la phase vasculaire, qui est caractérisée par une croissance exponentielle, une invasion tissulaire et une dissémination des cellules tumorales, l'augmentation rapide de la croissance tumorale est due en grande partie à une diminution du taux de cellules en apoptose (Bergers et *al.*, 2003).

Ce switch peut être réalisé par ces cellules tumorales de plusieurs façons (Figure 3):

- ❖ état d'hypoxie favorisant le maintien du déséquilibre en faveur des facteurs pro-angiogéniques et jouant un rôle majeur dans l'induction de divers facteurs proangiogéniques tels que le VEGF et le PDGF (Carmeliet & Jain, 2000).
- ❖ activation de certains proto-oncogènes (ras) ou la neutralisation de certains gènes suppresseurs de tumeurs (l'anti oncogène p53, qui régule positivement des facteurs anti-angiogéniques et négativement les facteurs pro-angiogéniques, est muté dans près de 50 % des cancers).
- ❖ surexpression des facteurs de croissance, soit de façon directe par les cellules tumorales elles mêmes, soit par le recrutement de cellules hôtes comme les macrophages qui produisent alors leurs propres facteurs angiogéniques.

### I.3.4. Les récepteurs du VEGF

Les récepteurs au VEGF ont initialement été découverts à la surface des cellules endothéliales vasculaires. Le VEGF se lie à deux récepteurs tyrosine kinase, VEGFR1 et VEGFR2. Ces récepteurs possèdent sept domaines immunoglobulines extracellulaires, une région transmembranaire et une séquence tyrosine kinase consensus interrompue par un domaine tyrosine kinase (Holmes et *al.*, 2007). Le VEGFR3 est un membre de la famille de ces récepteurs, il ne lie pas le VEGF, mais fixe le VEGF-C et D. À côté de ces récepteurs, le VEGF interagit avec une autre famille de récepteurs, les neuropilines (Figure 4) (Olsson et *al.*, 2006).

#### I.3.4.a. VEGFR-1

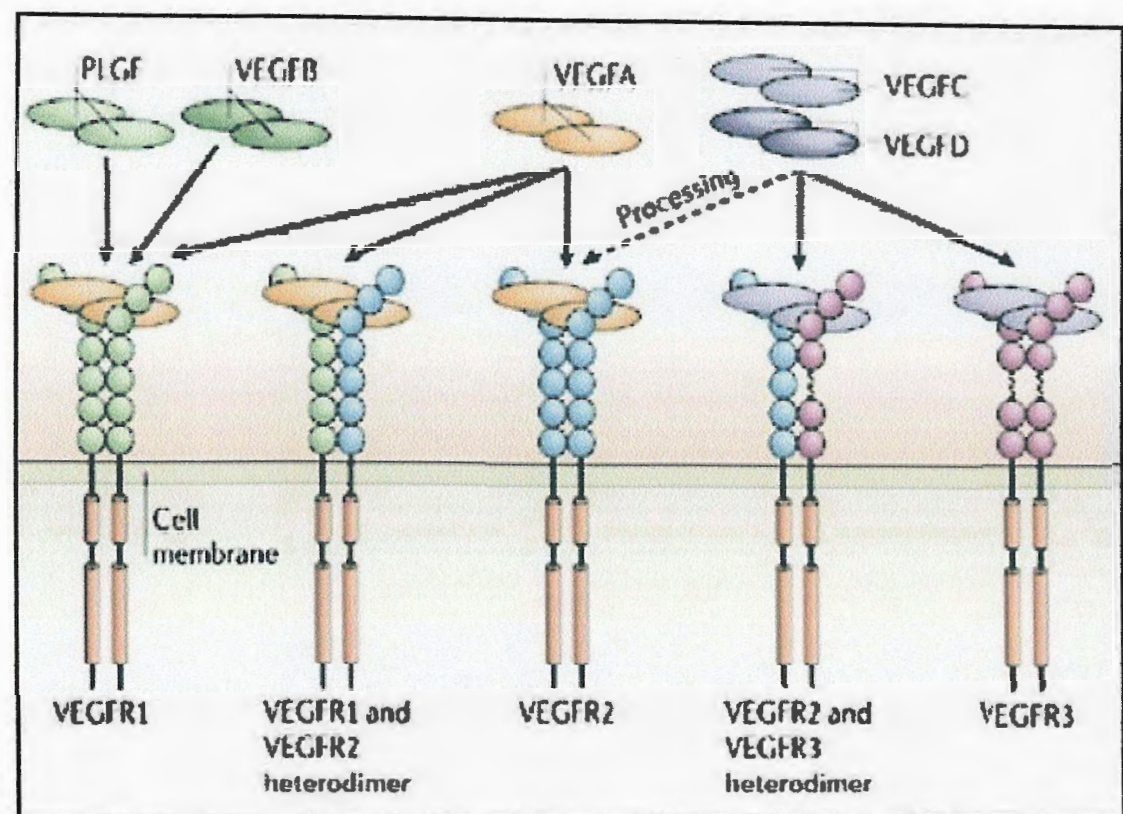
Le VEGFR1, ou FLT-1 a été le premier récepteur découvert pour le VEGF. Chez l'homme, le gène *flt-1* est localisé sur le chromosome 13 (13q12). Le VEGFR1 est exprimé à la surface des cellules endothéliales et son expression est activée au cours de l'angiogenèse, ainsi qu'en réponse à l'hypoxie sous le contrôle du facteur de transcription HIF-1 (Olsson et *al.*, 2006). Le VEGFR1 est capable de fixer le VEGF, le VEGF-B et le PlGF. Lorsque ces ligands lient le VEGFR1, celui-ci est capable d'homo- ou d'hétérodimériser avec le VEGFR2. Il s'ensuit une activation de l'activité tyrosine kinase qui conduit à l'autophosphorylation du récepteur. Cette phosphorylation permet ensuite de recruter les protéines qui vont induire la voie de signalisation consécutive à la liaison des VEGF. Le KO de VEGFR1 réalisé chez la souris entraîne une létalité embryonnaire précoce. L'analyse des embryons révèle que le VEGFR1 est important pour l'organisation du réseau vasculaire au cours du développement embryonnaire, alors qu'il ne semble pas intervenir dans la différenciation des cellules endothéliales (Fong et *al.*, 1995).

#### I.3.4.b. VEGFR-2

Le VEGFR2 est plus connu sous le nom de KDR, et il est appelé FLK1. Chez l'homme, le gène *kdr* est situé sur le chromosome 4 (4q11-q12). Le VEGFR2 est considéré comme le médiateur principal des effets mitogènes et angiogéniques du VEGF (Shalaby et *al.*, 1995). Le rôle du VEGFR2 est primordial dans l'angiogenèse au cours du développement embryonnaire et dans l'hématopoïèse 5 pour constituer le *pool* de cellules souches hématopoïétiques. Le VEGFR2 est capable de fixer le VEGF, ainsi que le VEGF-C et D. Comme pour le VEGFR1, la liaison de ces facteurs conduit à la dimérisation de ce récepteur. Dans ce cas, le VEGFR2 peut homodimériser ou hétérodimériser avec le VEGFR1 ou le VEGFR3, et induit une cascade de signalisation (Olsson et *al.*, 2006).

#### I.3.4.c. VEGFR-3

Le VEGFR3, également appelé FLT4, est codé par le gène *flt4* porté par le chromosome 5 (5q35.3). Le VEGFR3 fixe les VEGF-C et D. Par ailleurs le KO de son gène, chez la souris, indique qu'il serait impliqué dans la mise en place du système cardiovasculaire embryonnaire (Dumont et *al.*, 1998).



**Figure 4:** Représentation des liaisons membranaires du VEGF à leurs récepteurs (D'après Karaa, 2008).

### I.3.5. La signalisation cellulaire de la famille des VEGF

Suite à la liaison du VEGF, le récepteur est démérisé, les résidus tyrosine du domaine intra-cellulaire sont phosphorylés ce qui conduit à la transmission des signaux intracellulaire (Figure 5).

#### I.3.5.a. Rôle du VEGF dans la migration cellulaire

Le VEGF stimule la migration des cellules par la voie FAK et pi3k /Akt. Suite à la liaison du VEGF sur le VEGFR-2, la protéine adaptatrice Shb se lie au VEGFR-2 et conduit l'activation de FAK et de la Pi3K. Une voie faisant intervenir p38/MAPK aurait également des effets sur la migration. Seul le récepteur VEGFR-2 serait impliquée dans la migration des cellules endothéliales. Cependant, certaines études sembleraient impliquer aussi récepteur VEGFR-1(Boiteux, 2008).



**I.3.5.b. Rôle du VEGF dans la Prolifération cellulaire**

Le VEGF stimule la prolifération des cellules endothéliales via VEGFR-2. Ce récepteur, une fois phosphorylé suite la fixation du VEGF, conduit à l'activation de la voie MAPK ERK1/2 (Takahashi et *al.*, 1999). La PLC $\gamma$  active la PKC via la formation de diacylglycerol (DAG) et l'augmentation de la concentration en Ca intracellulaire. La voie P13-kinase (PI3K) est également impliquée la prolifération des cellules endothéliales (Boiteux, 2008).

**I.3.5.c. Rôle du VEGF dans la Survie cellulaire**

Le VEGF joue un rôle important dans la survie des cellules endothéliales. In vitro, le VEGF protège les cellules endothéliales de l'apoptose induite par le TNF $\alpha$  ou la radiation ionisantes. Dans des conditions de stress comme une déplétion sérique, le VEGF se fixe sur le VEGFR-2, active la voie PI3K et la phosphorylation de la protéine AKt/PKB. La protéine AKt/PKB phosphorylée va inhiber des protéines pro-apoptotiques telles que Bad. De plus, la survie des cellules peut être due à la régulation positive de protéine anti-apoptotique telles que Bcl-2 (Boiteux, 2008). Un autre mécanisme par lequel le VEGF peut maintenir la survie des cellules endothéliales serait la phosphorylation de FAK (Zachary & Glik, 2001).

**I.3.5.d. Rôle du VEGF dans la perméabilité vasculaire**

Le VEGF augmente la perméabilité des microvaisseaux aux macromolécules. En effet, le VEGFR-2 activé par le VEGF augmente de la NO synthétase via la voie PI3K/Akt, provoquant la production de NO. Le NO, activateur de la perméabilité vasculaire, provoque l'extravasculaire de protéines plasmatique comme la fibrine. Il se constitue alors un gel de fibrine extracellulaire qui forme un substrat pour la migration endothéliale vasculaire. La voie P38 MAPK semble également impliquée dans la perméabilité vasculaire (Boiteux, 2008).



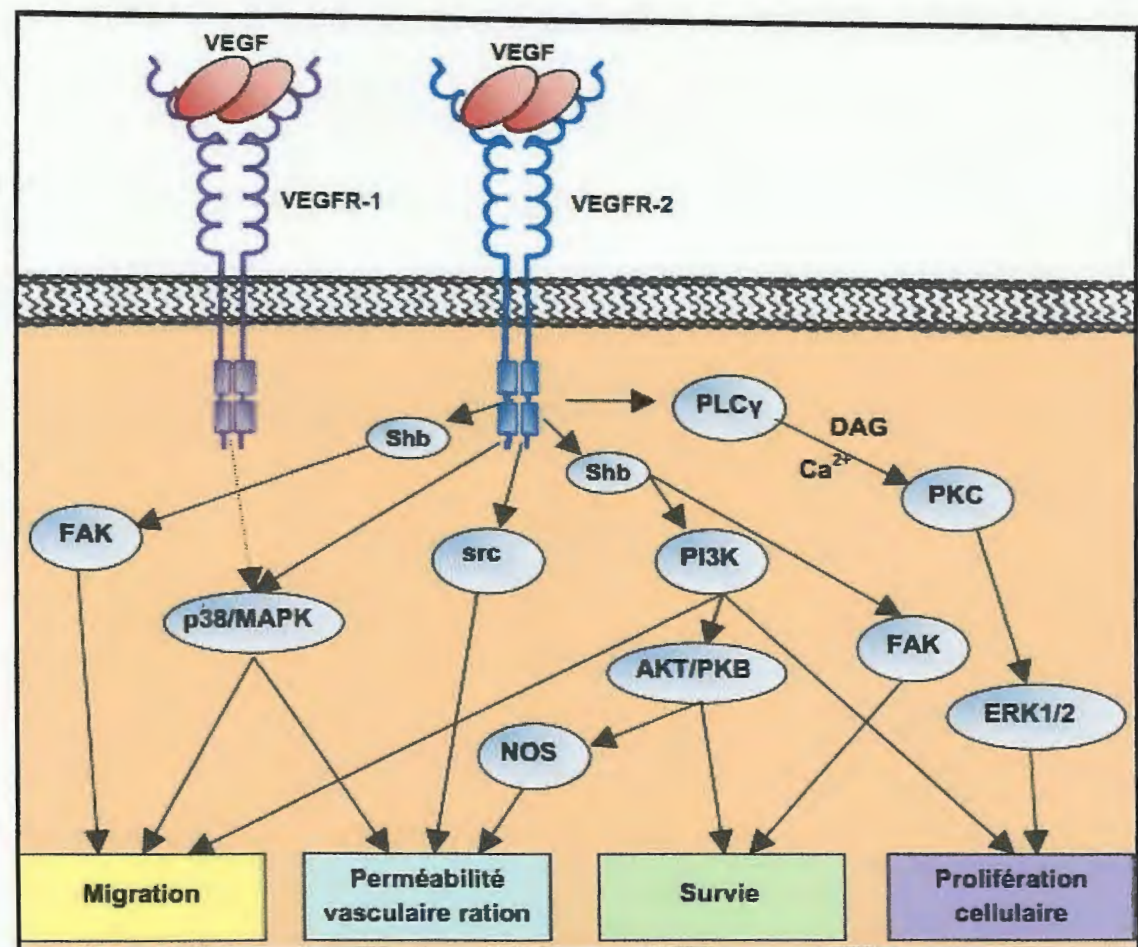


Figure 5: Voies de signalisation activées par le VEGF et fonction physiologique. (D'après Boiteux, 2008).

### I.3.7. La régulation de l'expression génique du VEGF

Le VEGF est produit par les cellules tumorales mais également par les cellules endothéliales, les macrophages et grand nombre de types cellulaires. Le VEGF est régulé par une variété de stimuli dont le plus efficace est l'hypoxie. Ce mécanisme fait intervenir le facteur de transcription HIF, hétérodimère composé de deux sous-unités, HIF-1 $\alpha$  et HIF-1 $\beta$ .

En condition normoxiques, le taux d'HIF-1 $\alpha$  est faible. En effet, la prolyl-4-hydroxylase (PHD), lie l'oxygène moléculaire et le fixe sur les résidus de proline du HIF-1 $\alpha$ . HIF-1 $\alpha$  oxydé se fixe alors sur la protéine de Von Hippel-Lindau (VHL) (Wang *et al.*, 1995).

En conditions hypoxiques, ce processus de dégradation de HIF-1 $\alpha$  est ralenti, le taux d'HIF-1 $\alpha$  augmente la translocation dans le noyau de HIF-1 $\alpha$  et va permettre son association avec HIF-1 $\beta$ . Le facteur HIF ainsi formé va se fixer sur une séquence cible HRE (HIF-responsive élément) au niveau du promoteur du gène VEGF et augmenter sa transcription (Wang *et al.*, 1995).

De nombreux facteurs de croissance et cytokines tels que PDGF, FGF, TNF et L'IL-1, peuvent également induire la synthèse du VEGF (Ferrara, 2004).

#### I.4. Rôle de la matrice extracellulaire dans l'angiogenèse tumorale

Les MMPs sont des endopeptidases, elles sont capables de cliver virtuellement tous les composants de la MEC et ce qui permet aux cellules endothéliales d'envahir le stroma tumoral (Seandel et al., 2001).

Traditionnellement été classées selon leurs affinités pour les substrats en quatre catégories: premièrement les collagénases interstitielles (MMP-1, MMP-8 et MMP-13) qui clivent les fibrilles de collagène, deuxièmement les collagénases de type IV (MMP-2 et MMP-9) qui dégradent le collagène, la gélatine et l'élastine des membranes basales, troisièmement les stromélysines (MMP-3, MMP-10 et MMP-11) qui dégradent les protéoglycanes, la fibronectine, la laminine, la gélatine et les protéines globulaires du collagène de type IV, quatrièmement les MMPs membranaires (MT-1, MMP-15, MMP-16 et MMP-17) qui sont ancrées à la surface cellulaire par un domaine transmembranaire situé dans la partie COOH terminale (Mignatti & Rifkin, 1996).

Les MMP9 peuvent stimuler l'angiogenèse en augmentant la biodisponibilité de facteurs de croissance pro-angiogéniques tels que le VEGF (Bergers et al., 2003).

#### I.5. L'invasion tumorale et la formation des métastases

L'invasion tumorale permet de distinguer les tumeurs bénignes des tumeurs malignes. En effet, contrairement aux tumeurs malignes, les tumeurs bénignes n'envahissent pas les tissus voisins. L'invasion par les cellules malignes nécessite une dégradation de la membrane basale (composée notamment de collagène de type IV) et de la matrice extracellulaire. Cette dégradation se fait principalement à l'aide des collagénases MMP-2 et MMP-9 ainsi que MT1-MMP. Tel qu'il a été mentionné, des études ont montré qu'il existe une corrélation très nette entre le pouvoir invasif des cellules malignes et la présence d'activité collagénase IV dans les tumeurs (Perry, 2008). La pénétration des cellules tumorales dans la circulation sanguine mène à la formation de métastases (Pepper, 2000). Ces dernières proviennent de la croissance d'une cellule tumorale à distance du site où se trouve la tumeur initiale ou primaire. Lorsque les cellules cancéreuses diffusent pour former une nouvelle tumeur, elles acquièrent de nouvelles caractéristiques, incluant le potentiel de migration et d'invasion ainsi que la perte d'adhésion cellulaire. Ceci leur permet de passer du phénotype cancéreux à métastatique, donc, la formation des métastases (Figure 6) (Arya et al., 2006).



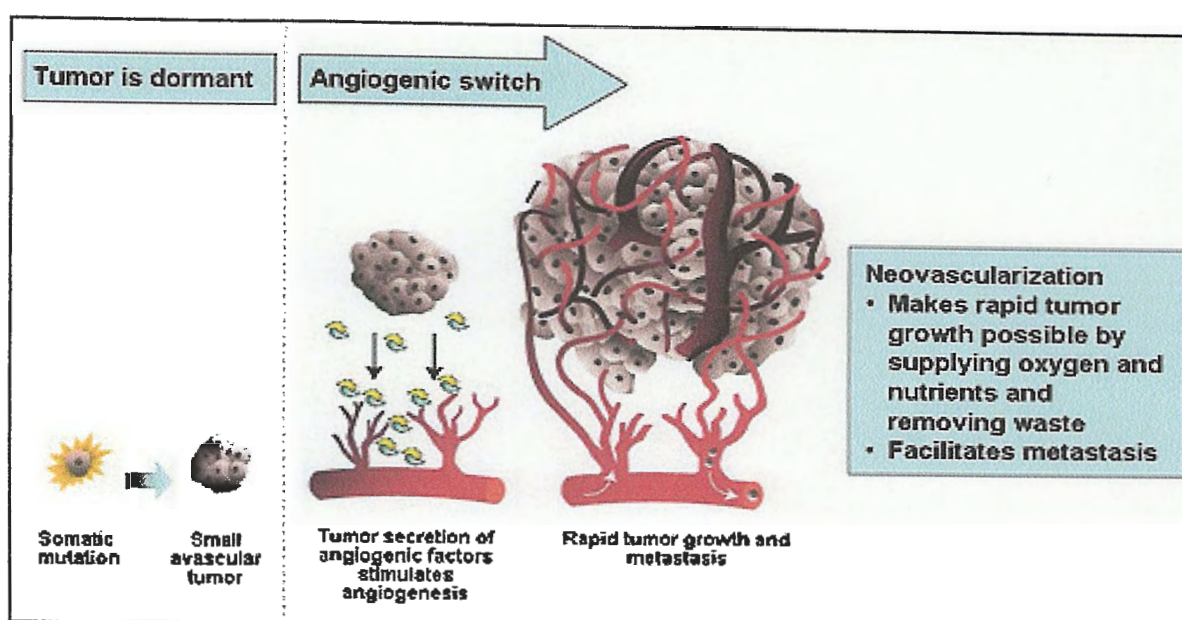


Figure 6: La formation des métastases (D'après Bergers & Benjamin, 2003).

## **Chapitre II**

### **Les anti-inflammatoires non stéroïdiens**

### II.1. Historique

L'histoire des anti-inflammatoires non stéroïdiens a commencé avec l'utilisation des feuilles et de l'écorce de saule par les anciens égyptiens et par Hippocrate pour traiter la fièvre et/ou la douleur. Après des milliers d'années d'un usage empirique de cette plante médicinale, c'est en 1897 que Felix Hoffmann fut le premier à synthétiser l'acide acétylsalicylique mieux toléré au niveau du goût que l'acide salicylique extrait de la plante (Wu, 2000; Ballinger & Smith, 2001 ; Vane & Botting, 2003).

En 1899 l'appellation Aspirine fut enregistrée, et un an après, les premiers comprimés furent fabriqués. A l'heure actuelle, la famille des AINS à laquelle appartient l'acide acétylsalicylique possède de nombreuses indications thérapeutiques, tant en médecine vétérinaire. Avec un large spectre d'activités pharmacologiques de type anti-inflammatoire, analgésique, antipyrétique et antiplaquettaire, les AINS sont aujourd'hui une des classes médicamenteuses les plus utilisées dans le monde (Warner & Mitchell, 2002).

### II.2. Contexte pharmacologique

Les prostaglandines (PG) sont des éicosanoïdes exerçant une action purement locale, mais leur distribution quasi ubiquitaire leur permet d'intervenir dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques. Elles sont synthétisées à partir de l'acide arachidonique (lui-même issu des phospholipides membranaires) grâce à la cyclo-oxygénase (Cox), dont il existe deux iso-enzymes :

La Cox 1 qui est la forme constitutive de l'enzyme: elle a été identifiée dans différents tissus comme le tube digestif, les plaquettes et le rein (Mitchell *et al.*, 1993). Elle catalysant la formation de PG impliquées dans la cytoprotection de la muqueuse gastrique, la physiologie rénale, et la production de thromboxane A<sub>2</sub> (prostaglandine vasoconstrictrice et pro-agrégante) par les plaquettes (Allaj *et al.*, 2013).

La Cox-2 fut décrite en premier lieu dans les fibroblastes embryonnaires du poulet traité par des agents mitogènes. Elle a été par la suite identifiée dans les cellules endothéliales, dans les macrophages, les fibroblastes et les cellules mésenchymateuses. Cette enzyme serait produite sous l'action d'interleukine 1 (IL-1) et d'endotoxine. Son expression serait augmentée localement au niveau de sites inflammatoires (Mitchell *et al.*, 1993).

Elle est essentiellement inductible, conduisant à la libération de PG ayant un rôle dans la fièvre, la douleur, l'inflammation, la prolifération cellulaire, mais aussi la cicatrisation et la fonction rénale. Elle gouverne la synthèse de prostacycline ou PGI<sub>2</sub> (prostaglandine vasodilatatrice et anti-agrégant) par les cellules endothéliales (Allaj *et al.*, 2013).



### II.3. Principales caractéristiques des anti-inflammatoires non stéroïdiens

#### II.3.1. Définition

Les AINS regroupent l'ensemble des médicaments symptomatiques inhibiteurs de la synthèse des PG. C'est à ce mécanisme commun d'action que les AINS doivent l'essentiel de leurs propriétés et de leurs effets indésirables. La diminution de la synthèse des PG par les AINS est consécutive à l'inhibition plus ou moins sélective des iso-enzymes de la cyclo oxygénase. On distingue trois catégories d'AINS :

- inhibiteur sélectif de Cox-1 : représenté par l'aspirine à faible dose (300 mg/j), seul AINS ayant une activité anti-thrombotique ;
- inhibiteurs non sélectifs ou « AINS classiques », inhibant Cox-2 et Cox-1 aux doses thérapeutiques. Ils partagent 4 propriétés : activité antipyrétique, antalgique, anti-inflammatoire et inhibition des fonctions plaquettaires. Ils exposent en outre à des complications communes digestives, rénales, gynéco-obstétricales et à des réactions d'intolérance cutanéomuqueuses ;
- inhibiteurs sélectifs de Cox-2 ou coxibs, qui se démarquent des précédents par l'absence d'effet « antiagrégant » plaquettaire (Warner & Mitchell, 2002).

#### II.3.2. Propriétés thérapeutiques

##### II.3.2.a. Action antipyrétique

Les AINS diminuent la fièvre d'origine infectieuse, inflammatoire ou néoplasique.

##### II.3.2.b. Action antalgique

Les AINS sont efficaces sur un large éventail de syndromes douloureux par excès de nociception aigus: douleurs dentaires, postopératoires, post-traumatiques, céphalées ou migraines, coliques néphrétiques...

- chroniques: affections rhumatologiques dégénératives, douleurs néoplasiques... A cet égard, les AINS forment, avec le paracétamol, le premier palier de la stratégie préconisée par l'OMS dans le traitement des douleurs cancéreuses (Bannwarth et al., 2005).

##### II.3.2.c. Action anti-inflammatoire

Cette action porte principalement sur la composante vasculaire de la réaction inflammatoire, responsable de la classique tétrade : œdème, douleur, rougeur, chaleur. Elle est mise à profit au cours des accès aigus microcristallins (goutte, chondrocalcinose) et des

rhumatismes inflammatoires chroniques. A noter que l'action anti-inflammatoire requiert généralement des posologies des AINSs plus élevées que celles nécessaires dans les autres variétés de douleurs ou dans la fièvre. Aussi certaines spécialités des AINSs sont-elles commercialisées à faible dose en tant qu'antalgique et/ou antipyrétique (certaines formes d'aspirine, l'ibuprofène 200 mg, le kétoprofène 25 mg) (Bannwarth et *al.*, 2005).

#### II.4. Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens

1. La plus ancienne classification des AINS est celle qui les range en familles chimiques. Les AINS sont ainsi scindés en huit groupes, selon leur noyau de base (tableau 2). Cette classification a pour avantage d'éviter la prescription ultérieure d'une molécule de la même famille en cas d'allergie vraie à l'une d'entre elles. Elle ne prend toutefois pas en compte l'hétérogénéité du rapport bénéfice/risque au sein d'un même groupe (Warner & Mitchell, 2002).
2. Les AINS peuvent aussi être classés selon le degré de sélectivité (et donc d'inhibition) des AINS pour l'une ou l'autre Cox. Quatre catégories se distinguent là encore:
  - Le groupe 1 correspond aux inhibiteurs sélectifs de la Cox-1. C'est le cas de l'aspirine à faible doses (100 à 300 mg), à visée antiagrégante plaquettaire.
  - Le groupe 2 est celui des inhibiteurs non spécifiques de la Cox, représenté par les AINS classiques.
  - Le groupe 3 renferme les inhibiteurs préférentiels de la Cox-2, représentés par le méloxicam et le nimésulide. Cette propriété anti-COX-2 est cependant perdue lorsque ces produits sont utilisés à fortes doses.
  - Le groupe 4 comporte les inhibiteurs spécifiques de la Cox-2 (c'est ainsi qu'il convient de les appeler et non les antiCox2 puisque tous les AINS sont des antiCox2). Leurs représentants sont le célécoxib et l'étoricoxib (Warner & Mitchell, 2002).
3. Une troisième classification tient compte de la demi-vie d'élimination d'un AINS, laquelle conditionne en partie son rythme d'administration. A cet égard, on sépare les AINS en 2 groupes :
  - Les AINS à demi-vie courte : inférieure à 6 heures (ibuprofène, flurbiprofène, kétoprofène, diclofénac et acide niflumique), imposant a priori 2 à 3 administrations journalières.
  - Les AINS à demi-vie longue : supérieure à 12 heures (oxicams, phénylbutazone), ne nécessitant en principe qu'une seule prise quotidienne.

A noter, les formes à libération prolongée des AINS à demi-vie courte qui autorisent une prise quotidienne unique (Chrono-Indocid 75 mg, Bi-Profénid 150 mg, Voltarène 100 mg «LP»...etc) (El Maghraoui, 2009).

### II.4.1. Classification chimique

Les AINS sont des composés dont certains présentent une analogie structurale. Pour cela, ils peuvent être classés par famille chimique (Tableau 2). Classiquement, on distingue parmi les AINS des acides carboxyliques et des acides énoliques. Toutefois, des molécules récentes comme le nimésulide ou les coxibs (célécoxib, rofécoxib, valdécoxib, étoricoxib) ne font pas partie d'une telle classification (Girgis, 2012).

**Tableau 2:** classification chimique des AINS (D'après Girgis, 2012).

<b>Dérivés des acides carboxyliques</b>	Acide salicylique	- Acide acétylsalicylique (aspirine) - Salicylate de sodium - Acétylsalicylate de lysine (aspégic)
	Acide propionique	- Ibuprofène - Fénopropène - Kétopropène - Naproxène - Carprofène - Flurbiprofène
	Acide amino-nicotinique	- Flunixin - Clonixin
	Acide acétique	- Indométacine - Kétorolac - Diclofénac - Sulindac
	Acides anthraniliques	- Acide méclofénamique - Acide tolfénamique - Acide méfénamique
	Quinolines	- Cincophène
<b>Dérivés des acides énoliques</b>	Oxicam	- Méloxicam - Piroxicam - Tenoxicam
	Pyrazolone	- Phénylbutazone - Oxyphenbutazone - Dipyron

### II.4.2. Classification selon le mode d'inhibition de l'activité Cox

Les AINS peuvent être classés selon leur mode d'inhibition de l'activité cyclo-oxygénase (Walker et al., 2001). On distingue 3 modes d'interactions avec l'enzyme (Tableau 3).



**Tableau 3:** classification des AINS selon leur mode d'inhibition enzymatique de cyclooxygénase (D'après Walker *et al.*, 2001)

<b>Classe I</b>	Inhibition simple, compétitive et réversible	- Ibuprofène - Méloxicam
<b>Classe II</b>	Inhibition temps-dépendante et réversible par liaison électrostatique entre le groupement guanidine de l'arginine en position 120 (Arg-120) et la fonction acide carboxylique terminale de l'inhibiteur suivi du changement conformationnel de l'enzyme [11]	Liaison faible - Naproxène
		Liaison forte - Indométacine - Acide méclofénamique
<b>Classe III</b>	Inhibition covalente et irréversible	- Aspirine

#### II.4.3. Classification selon la sélectivité pour cyclooxygénase-1 et cyclooxygénase- 2:

Plusieurs études *in vitro* ont été réalisées pour comparer les activités inhibitrices relatives des AINS sur Cox-1 et Cox-2. Leur objectif est de calculer une ration qui met en rapport l'affinité de l'AINS pour chaque isoforme de Cox. Cette affinité est estimée par la détermination de l'IC50 qui signifie la concentration de l'AINS inhibant 50 % de l'activité enzymatique de Cox-1 ou Cox-2.

AINS présentant une ration (IC50 Cox-1/IC50 Cox-2) supérieur à 1, inhibe donc préférentiellement voire sélectivement la Cox-2.

Il est difficile de comparer les résultats issus de ces différents modèles *in vitro*, étant donné la très grande variable des techniques et système cellulaires employés. Dans le but d'établir un lien entre la toxicité gastro-intestinale de certains AINS et leurs capacité d'inhiber la Cox-1 (Warner *et al.*, 1999) (Tableau 4).



**Tableau 4:** Classification des AINS selon leur sélectivité inhibitrice envers les isoformes de type 1 et 2 de la cyclo-oxygénase (D'après Girgis, 2012).

<b>Inhibiteurs Sélectifs COX-2</b>	Au moins 50 fois plus sélectifs pour COX-2 que pour COX-1	- Di-isopropylfluorophosphate - NS398 - Rofécoxib
<b>Inhibiteurs Préférentiels COX-2</b>	Entre 5 et 50 fois plus sélectifs pour COX-2 que pour COX-1	- Nimésulide - Méloxicam - Étodolac - Célécoxib
<b>Inhibiteurs Non Sélectifs</b>	Inhibition de COX-1 et COX-2 sans sélectivité particulière (ratio inférieur à 5)	- Acide acétylsalicylique - Sancylate de sodium - Indométacine - Kétorolac - Diclofénac - Piroxicam - Kétoprofène - Naproxène - Flurbiprofène - Sulindac

### II.5. Mécanisme d'action des anti-inflammatoires non stéroïdiens

Depuis le premier travail de Vane sur l'activité pharmacologique des AINS, il a été considéré que l'activité analgésique des AINS était basée sur une inhibition de la cyclo-oxygénase (Mitchell et al., 1993), supprimant l'expression de Cox-2 (Hwang et al., 2002), et donc sur une inhibition de la synthèse des prostaglandines, en particulier des PGS dont la PGE2 (Mitchell & al., 1993), les enzymes de Cox sont les meilleurs cibles primaires des AINS, y compris le terrain communal au-dessus des contre-médicaments comme l'aspirine, ibuprofène, et diclofénac, ces drogues suppriment les voies cela inflammation, douleur et fièvre médiates. (Allaj et al., 2013).

Les prostaglandines sensibilisent les nocicepteurs périphériques aux actions des substances algogènes comme la bradykinine, libérées lors d'agression tissulaire. Des lors l'inhibition de la synthèse des prostaglandines par les AINS conduit à une diminution, voire à une suppression des phénomènes d'hyperalgésie observés lors d'atteinte tissulaire (Mitchell et al., 1993).

Les AINS bloquent la dégradation de l'acide arachidonique par la voie de la cyclo-oxygénase. Ils s'opposent donc à la production des prostaglandines et du thromboxane A2. Ils agissent également sur la composante cellulaire de l'inflammation en bloquant la mobilité de cellules notamment les macrophages (Limbour & De melo, 1995). Tous les AINS actuellement disponibles dans la pharmacopée agissent sur les deux formes enzymatiques de la cyclo-oxygénase; cependant, leur action n'est pas identique sur ces deux formes (Mitchell et al., 1993).

**II.5.1. Mécanismes de Cox dépendent**

Les mécanismes de Cox-dépendent mènent également à une augmentation au niveau de l'acide arachidonique. (Pakneshan et *al.*, 2008) donc, dans ce mécanisme l'inhibition de Cox produit une diminution aux niveaux des prostaglandines et leur dérivés (prostacyclines et thromboxane) (Manzano & Pérez-Segura, 2012).

**II.5.2. Mécanismes de Cox Indépendant**

Un mécanisme potentiel implique la transcription de facteur NF- $\kappa$ B, qui favorise la survie de cellules et l'augmente prolifération. Plusieurs investigateurs ont suggéré que les AINS empêchant NF-  $\kappa$ B signalant la voie (Dai & Wang, 2006)



**Chapitre III**  
**Chimio-prévention de l'Angiogénèse**  
**Tumorale**  
**par les Anti-inflammatoires**

L'importance de l'angiogenèse pour la croissance des tumeurs est largement reconnue. Les médicaments qui visent avec succès l'endothélium, tel que le facteur endothélial anti-vasculaire de croissance des anticorps, commencent à avoir effet de vie expectative aux patients de cancer. Cependant, la cellule endothéliale n'est pas la seule cible possible pour la thérapie anti-angiogénique ou prévention de la vascularisation (Albini et *al.*, 2005). Les médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens bloquent la synthèse des prostaglandines en inhibant la cyclooxygénase. Il y a une évidence suggérant que l'enzyme Cox-2 est impliquée dans le développement et la croissance de cancers cutanés et non-cutanés (Husein Elahmed et *al.*, 2012). En dehors des médicaments issus des voies de synthèse chimique, un grand intérêt est porté ces dernières années aux produits naturels d'origine végétale ou animale ayant des activités pharmacologiques intéressantes tels que les polyphénols qui présentent des effets anti-inflammatoires, anti-prolifératif, anti-tumoral et anti-angiogéniques *via* l'inhibition des voies de signalisation cellulaire pro-proliférative, apoptotiques, angiogénique (Chabannes et *al.*, 2001).

### **III. La thérapie anti-angiogénique**

Un traitement anti-angiogénique n'a pas pour but la destruction des cellules tumorales, il vise essentiellement les cellules endothéliales en empêchant leur division, le résultat est un état de quiescence vasculaire avec une involution des vaisseaux néoformés (Chabannes et *al.*, 2001).

#### **III.1. Inhibiteurs pharmacologiques de la voie du VEGF sur l'angiogenèse**

Les deux approches pharmacologiques actuellement présentes sur le marché pour inhiber la voie du VEGF sont, d'une part un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre le VEGF-A, le Bevacizumab, et d'autre part des petites molécules inhibitrices de la fonction tyrosine kinase des récepteurs du VEGF (ITK) telles que le Sunitinib et le Sorafénib (Rini & Rathmell, 2007). Les anticorps monoclonaux sont très spécifiques d'un épitope présent sur la cible et interagissent uniquement avec des cibles extracellulaires alors que les petites molécules interagissent avec plusieurs cibles intracellulaires de façon moins sélective. De nombreux ITK anti-angiogéniques (AZD2171, axitinib, ...) sont également en développement, dont certaines à des stades avancés (Le Tourneau et *al.*, 2008).

##### **III.1.1. Le Bevacizumab**

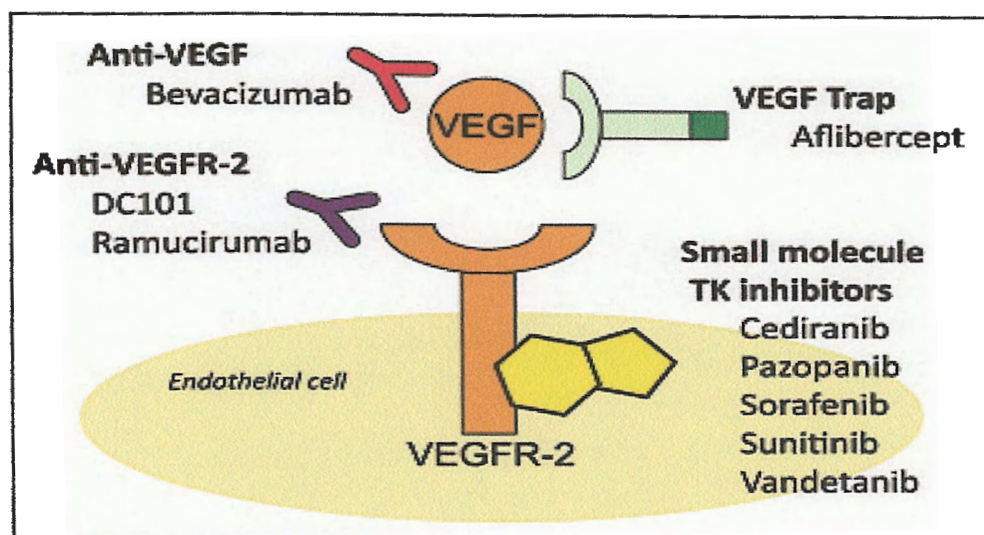
Le Bevacizumab est un anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF de type IgG1 qui se lie sélectivement au VEGF humain et en neutralise l'activité biologique (Presta et *al.*, 1997). Il a une forte affinité pour un épitope présent sur toutes les isoformes du VEGF, chevauchant partiellement les sites de liaison aux récepteurs VEGFR-1 et VEGFR-2, avec pour conséquence une inhibition de la liaison du VEGF à ces récepteurs à la surface des cellules endothéliales (Muller et *al.*, 1998). L'inhibition de la prolifération endothéliale par le Bevacizumab induit un blocage du phénomène de néo-vascularisation nécessaire à la croissance et à la dissémination tumorale. Le Bevacizumab a un effet additif, voir synergique, avec les médicaments

cytotoxiques « classiques » (5-fluorouracile (5-FU) / acide folinique et 5-FU avec oxaliplatine) (Gerber & Ferrara, 2005 ; Saltz *et al.*, 2008).

### III.1.2. Le Sorafénib et le Sunitinib

Le Sorafénib est un inhibiteur multi-cible de tyrosine kinase dont les principales cibles sont VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR- $\beta$ , FLT3, RAF, BRAF, et KIT (Le Tourneau *et al.*, 2008).

Le Sunitinib est également une inhibitrice multi-cible de tyrosine kinase dont les principales cibles sont identiques à celles du Sorafénib auxquelles s'ajoutent CSF1R (colony-stimulating factor 1 receptor) (Rini & Rathmell, 2007). Il est indiqué comme traitement du CRRC avancé et après échec ou intolérance de l'Imatinib dans les tumeurs stromales digestives. Dans le traitement de 1ère ligne du CRCC avancé, le Sunitinib comparé à l'interféron-alpha augmente significativement le taux de réponse objective (31 % versus 6 %) et la survie sans progression (Motzer *et al.*, 2007).



**Figure 7:** Optimisation de la signalisation de VEGF (D'après Glade Bender *et al.*, 2011).

### III.2.1. Inhibiteurs des Cyclooxygénases dans l'angiogenèse

Les études sur les modèles expérimentaux ont prouvé que la Cox-2 augmente le développement et la progression de tumeurs en favorisant la résistance à l'apoptose et à l'angiogenèse et en stimulant l'invasion tumorale; Elle est donc considérée comme un oncogène (Krishnan & Feldman, 2010).



### **III.2.1.a. Les inhibiteurs de la synthèse de prostaglandines**

Les médicaments anti-inflammatoires non-stéroïdiens conventionnels limitent la synthèse de prostaglandines (PGs) en inhibant la Cox-1 et la Cox-2, bien qu'ils dérivent leurs propriétés anti-inflammatoires de leur capacité à bloquer la Cox-2. L'administration topique du Diclofenac empêche l'angiogénèse chez les souris tumorigéniques (cancer du colon et cutané) avec une augmentation de la nécrose et de l'apoptose intratumorale.

L'utilisation des AINSs conventionnels dans toutes ces études *in vivo* et *in vitro* démontre l'effet anti-angiogénique par diminution de la production des PGs. Ces études montrent que cette inhibition de la synthèse de PGs limite l'angiogénèse, indiquant que les PGs sont des médiateurs importants de ce processus (Leahy et al., 2000).

### **III.2.1.b. Les inhibiteurs de la Cox-2**

La bibliographie dans ce domaine rapporte que le traitement avec un inhibiteur sélectif de la Cox-2 (SC-236) ou non sélectif de la Cox-1 et Cox-2 (indométhacine), conduit à la réduction de la croissance de tumeurs primaires, par action anti-angiogénique (Connolly et al., 2002). Le SC-236, utilisé à des doses n'inhibant pas significativement la Cox-1 plaquettaire, a empêché la réponse angiogénique. Ces résultats sont également observés pour le Celecoxib utilisé aux doses thérapeutiques. En revanche, L'inhibition de la Cox-1 plaquettaire avec le SC-560 n'a pas affecté le processus angiogénique. L'indométhacine, un AINS traditionnel a empêché l'angiogénèse et inhibé l'activité des Cox (Leahy et al., 2000).

Cox-2 a été clairement détectée dans le vaisseau sanguin angiogénique et les cellules vasculaires associées, mais n'était pas exprimée dans les vaisseaux limbiques préexistants dans la cornée. En revanche, on a observé Cox-1 dans la vascularisation limbique existante, mais pas dans les cellules des nouveaux vaisseaux sanguins envahissant le stroma cornéen. Prises ensemble, ces observations suggèrent que Cox-1 est l'enzyme présente dans les cellules endothéliales matures tandis que l'expression de la Cox-2 est associée à la génération de nouveaux vaisseaux sanguins (Verheul et al., 1999).

L'étude de la localisation de Cox-2 dans les cellules néovasculaires de la cornée, et son rôle dans la suppression efficace de l'angiogénèse, a été réalisé par l'utilisation des inhibiteurs de la Cox-2 aux doses qui n'inhibent pas la Cox-1. Les résultats suggèrent la participation active de la Cox-2 dans l'angiogénèse induite par le bFGF. Un exemple en est l'étude *in vitro*, sur la formation de tubes par les cellules HUVECs en Co-culture avec des cellules de cancer du colon HCT-116, a été Cox-1 dépendante. Ce qui conclue que la Cox-2 est l'isoenzyme qui contribue à la croissance de tumeur et la production de facteur de croissance dans certaines lignées cellulaires cancéreuses, en plus de l'induction de l'activité Cox-, ces deux enzymes peuvent être nécessaires à la formation de nouveaux vaisseaux à partir des cellules endothéliales (Tsuji et al., 1998).

*In vitro*, le traitement par l'indométhacine et le SC-236 a eu comme conséquence l'apoptose accrue dans la tumeur primaire et a diminué l'expression du VEGF (figure 8 Annexe 1).

L'étude de l'effet de cet AINS et de l'inhibiteur de la Cox -2 sur l'apoptose et sur la production du VEGF par les cellules 4T1 a montré une diminution significative de l'expression de ce dernier comparé aux cellules contrôles. Ce même traitement induit une augmentation significative du nombre de cellules apoptotiques comparées aux cellules contrôles (figure 9, Anexe1) (Connolly et al., 2002).

### III.2.2. Produits naturels inhibiteurs de la Cyclooxygénase-2 : Rôle dans l'angiogenèse

Des produits naturels tels que la Curcumine, le resvératrol, les flavonoïdes,..., ont montré des effets biologiques anticancéreux intéressants *in vivo* et *in vitro* s'agissant d'activités directes ou indirectes en empêchant la prolifération des cellules tumorales et en inhibant l'angiogenèse tumorale (Chintana, 2008).

#### III.2.2.a. La Curcumine

Récemment, des études effectuées *in vitro* et *in vivo*, ont montré que la Curcumine (petite molécule isolée du curcuma) possède des activités biologiques intéressantes pour la santé humaine incluant un effet anti-oxydant, anti-inflammatoire et anti-microbien (Maheshwari et al., 2006). Ce produit naturel peut également inhiber la croissance de plusieurs lignées cellulaires tumorales *in vitro* et empêcher la tumorigénèse *in vivo* (Duvoix et al., 2005).

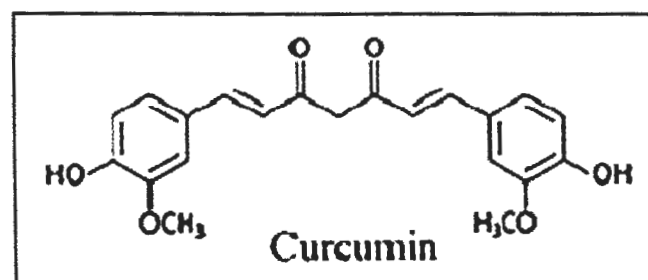


Figure10: Structures chimiques de curcumine (Perry et al., 2008).

La Curcumine utilisée dans des études *in vitro* sur des lignées cellulaires endothéliales conduit d'une part, à l'apoptose de cellules endothéliales, ce processus est nécessaire pour réparer les vaisseaux sanguins endommagés et d'autre part à la formation de néovaisseaux et des capillaires pendant l'angiogenèse. Des expériences dans ce domaine ont montré que la Curcumine pourrait réduire le nombre de cellules HUVECs sans avoir d'effet cytotoxique cependant ce produit n'a pas affecté les cellules fibroblaste de la souris (NIH3T3). Ceci indique la spécificité d'action de la Curcumine.



Dans une autre étude, on a démontré que la Curcumine pourrait empêcher la formation de tube capillaire et la migration de cellules endothéliales, et ces effets peuvent être augmentés par MEK. Ces résultats ont pu expliquer en partie les effets inhibiteurs angiogéniques directs du Curcumine (Chintana, 2008). L'effet anti-angiogénique indirect du Curcumine c'est à dire n'ayant pas d'effets directs sur les cellules endothéliales mais pouvant réguler la production des facteurs angiogéniques, tels que VEGF a été démontré (Arbiser et al., 1998). La Curcumine a montré également des effets inhibiteurs de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans l'angiogenèse (Perry et al., 2008).

- **Effets antiprolifératifs de la Curcumine sur des lignées cellulaires cancéreuses et endothéliales**

Pour déterminer l'impact du Curcumine sur la croissance des xénogreffes humaines de gliome, l'analyse de la prolifération a été conduite sur la lignée de cellules du gliome U-87 et les cellules endothéliales de cerveau RBE4. Cette expérience a indiqué que la Curcumine a exercé un effet antiprolifératif significatif sur les deux lignées cellulaires d'une façon concentration dépendante par action sur la synthèse de l'ADN, et un effet anti-angiogénique (figure 11, Annexe 1) (Perry et al., 2008).

- **Effet de la curcumine sur la production du VEGF**

La Curcumine induit l'inhibition de la production du VEGF mais n'a pas d'effet sur l'expression génique de ce dernier. Une étude *in vitro* menée sur des kératinocytes (HaCaT) en culture a montré que le traitement de ces cellules par le tétradecanoylphorbol ester (TPA) (inhibe la synthèse en présence et en absence de la Curcumine a conduit à l'inhibition de la production des facteurs de l'angiogenèse (VEGF) ce qui a directement inhibé les fonctions endothéliales ceci par le contrôle de l'expression de l'ARNm du VEGF (Arbiser et al., 1998).

- **Effet inhibiteur de l'activité des MMPs par la Curcumine**

La sécrétion des métalloprotéinases matricielles (MMPs) par les cellules endothéliales représente une importante étape dans la néovascularisation. Par ailleurs, des études ont montré que l'inhibition de l'expression du gène codant pour la MMP-9 dans la lignée cellulaire de glioblastome SNB19 entravait la formation de tumeurs chez les souris athymiques (Kondraganti et al., 2000). Ces travaux démontrent l'importance de MMP-9 dans l'invasion et la croissance tumorales. Ainsi, des agents capables d'inhiber l'expression ou l'activation de MMP-9 pourraient faire partie d'une stratégie thérapeutique efficace dans la prévention et le traitement du cancer du cerveau. Des études *in vitro* ont montré que la curcumine était capable d'inhiber l'activité enzymatique de MMP-9 induite par l'ester de phorbol (phorbol 12-myristate 13-acetate) chez trois lignées de gliomes humains, incluant les U87 (Woo et al., 2005). De plus, l'effet inhibiteur de la curcumine sur MMP-9 a été observé sur d'autres lignées cancéreuses (Kim et al., 2002; Shishodia et al., 2003). Ces données laissent supposer que l'un des mécanismes d'action de la curcumine expliquant son effet anti-tumoral *in vivo* pourrait être relié à une inhibition de



l'invasion et de la néovascularisation des GBM. Pour cette raison, l'activité des MMP a été mesurée dans les homogénats de tumeurs par zymographie gélatinolytique.

Les activités gélatinolytiques des pro-MMP-9 et la MMP-9 ont diminué de 25% comparés au groupe contrôle. En revanche, les taux ainsi que les activités enzymatiques des pro-MMP-2 et la MMP-2 n'ont pas été affectées par le traitement à la curcumine (figure 12 annexe II) la curcumine a montré des effets inhibiteurs dose dépendant de la migration des cellules endothéliales (figure 13, Annexe II) ainsi qu'une inhibition de la formation d'un réseau de tubes capillaires sanguins (figure 14, Annexe II) (Perry *et al.*, 2008).

### III.2.2.b. Le Resvératrol

Le Resvératrol est un composé polyphénolique non flavonoïdique (Hung *et al.*, 2000). Le trans-3,5,4'-trihydroxystilbène (Figure 15) en plus de sa présence accrue dans le raisin, il est abondant dans plus de 70 espèces de végétaux comprenant les baies, l'arachide et plusieurs herbes (Lee *et al.*, 2008 ; Harikumar *et al.*, 2008). La bibliographie rapporte plusieurs effets pharmacologiques, antioxydant notamment ce qui a valu l'appellation de « french paradox » à la consommation modérée du vin dans les habitudes nutritionnelles des français qui confère une protection contre les maladie cardiovasculaires en plus des effets anti-tumoral et anti prolifératif *in vitro*. (Kelkel *et al.*, 2010)

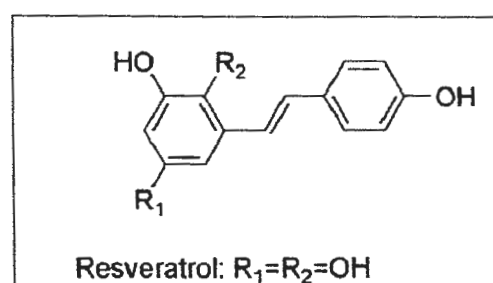


Figure 15: Structure développée du Resvératrol (D'après Kimura *et al.*, 2005)

#### • Effets anti-angiogénique du Resvératrol

Ces dernières années, le Resvératrol a démontré des effets anti-angiogéniques (Chen & Tseng, 2007). Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont étudié les effets du Resvératrol sur les cellules endothéliales et sur l'angiogenèse (Aggarwal *et al.*, 2004). Ces études ont démontré que le resvératrol empêche plusieurs événements principaux du processus angiogénique, tel que la prolifération et la migration des cellules endothéliale, inhibition d'expression de VEGF, inhibition de Cox-2, MMP-2, MMP-9, et factor-1 hypoxie-induis (Chen et Tseng, 2007).

Des études rapportent que le Resvératrol utilisé à faibles doses (0.1-1 µg/ml) sur les cellules endothéliales, augmente la prolifération des HUVEC, alors qu'à des doses plus élevées (10-100 µg/ml), il induit l'apoptose et diminue l'activité mitotique de ces cellules, Aggarwal *et al.*, 2004). Le Resvératrol utilisé à de fortes concentrations (de l'ordre de 100µM) inhibe la formation de tubes capillaires chez les cellules (HUVECs) par inhibition de la voie de signalisation du VEGF (Kimura et Okuda, 2001). *In vivo*, Une dose plus élevée de Resvératrol

(40 mg/kg/day) supprime de manière significative l'angiogenèse tumorale du gliome (Chen & Tseng, 2007).

- **Effet du Resveratrol sur l'activité des MMPs**

Le traitement de cellules cancéreuses par le Resveratrol induit une inhibition dose dépendante de la sécrétion des MMP-2 et MMP-9. Utilisé à 50  $\mu$ M, le Resveratrol conduit à une diminution de l'expression de la MMP-9 ainsi que la MMP-2 (figure 16, Annexe III) (Hu et al., 2007).

- **Le Resveratrol empêche la différenciation capillaire des HUVECs induite par bFGF**

La Stimulation des cellules HUVECs par les facteurs angiogéniques tels que VEGF et bFGF favorise leur différenciation et la formation des nouveaux tubes capillaires. Ainsi le traitement avec le Resveratrol conduit à l'inhibition de 50% sur la formation de bFGF-induite de tube) (Lee et al., 2006).

- **Effet du Resveratrol sur l'expression protéique du VEGF et du bFGF**

L'analyse biochimique par ELISA après traitement des cellules RPMI 8226 par le Resveratrol a montré une diminution de l'expression des protéines VEGF et bFGF. Cette dernière augmente dans les cellules non traitées intra et extracellulaire, ce qui témoigne de l'accumulation du VEGF dans les conditions normales. En revanche, la quantité de VEGF dans des les milieux extracellulaire des cellules de RPMI 8226 traitées par le Resveratrol n'a montré aucune augmentation appréciable au-dessus de période expérimentale, suggérant le retard de dans la synthèse et la sécrétion du VEGF (figure 17, Annexe III) (Hu et al., 2007).

### **III.2.2.c. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes : une famille de composés dérivés des plantes, ayant pour structure en commun le squelette polycyclique (Figure 18), présent dans l'alimentation ou utilisés dans la médecine traditionnelle ont connus ces dernières années un grand intérêt quand au large spectre d'activités biologiques qu'ils présentent : antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire, ...et bien d'autres.

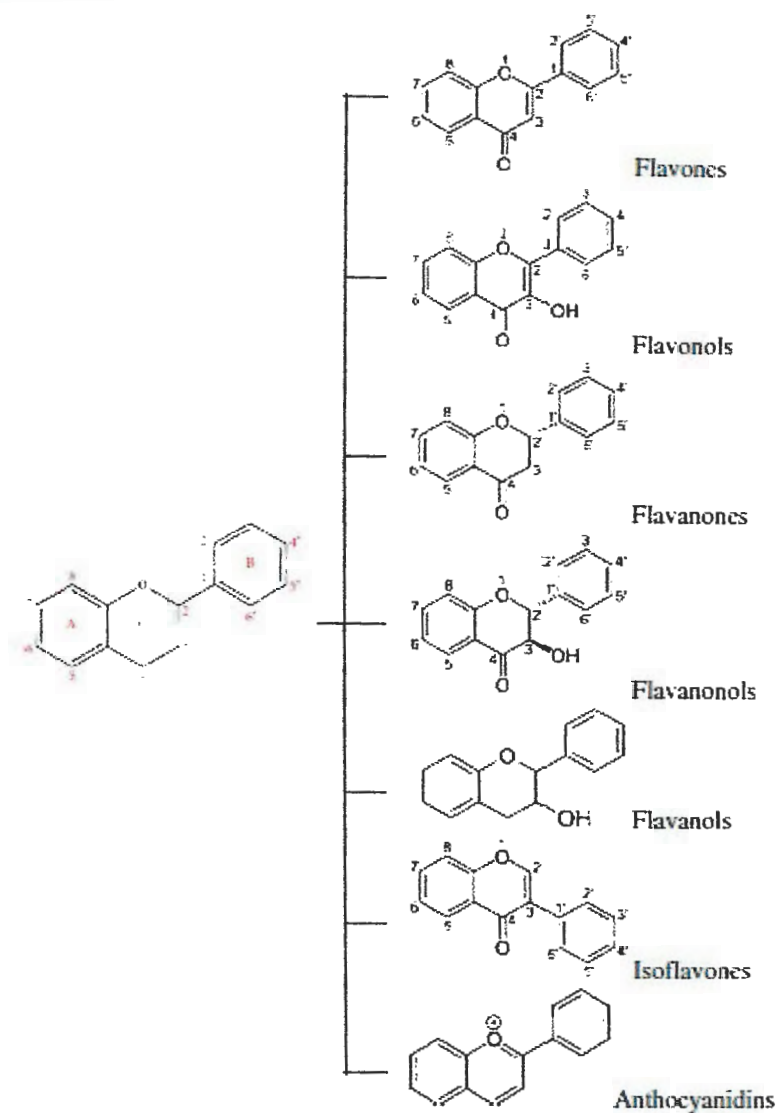


Figure 18 : Structure de base des flavonoïdes (D'après Weng & Yen 2012.)

Dans le domaine de la cancérologie plusieurs études ont été réalisées sur un panel de structures différentes de cette grande famille de produits. Les essais expérimentaux sur les flavonoïdes *in vitro* et *in vivo* ont montré des résultats intéressants, les flavonoïdes peuvent avoir des effets antiprolifératif et anti-tumoral sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses *in vitro* et *in vivo*.

Les activités anticancéreuses des flavonoïdes sur des cellules tumorales ont trouvé une variété des effets anticancéreux tels que l'inhibition de la croissance de cellules par inhibition des voies de signalisation impliquées dans la prolifération cellulaire, induction d'apoptose, suppression de la sécrétion des métalloprotéinases matricielles, anti-métastase et effets anti-angiogénèse (Kanadaswami et al., 2005) (Figure 19).



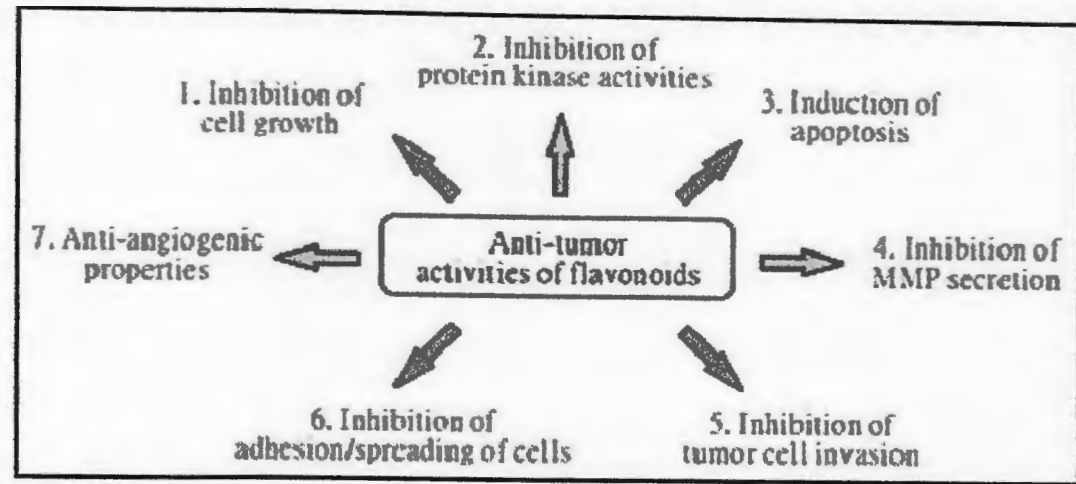


Figure 19 : Effets anti-tumoraux des flavonoïdes (D'après Kanadaswami et al., 2005).

- **Effet anti-angiogénique des flavonoïdes**

Certains flavonoïdes ont démontré la capacité d'inhiber l'expression génique de plusieurs récepteurs à tyrosine kinase. C'est le cas d'un extrait riche en catéchines du thé vert qui a inhibé l'expression de VEGFR-1 et VEGFR-2 dans les cellules HUVEC, de l'epigallocatechin-3-gallate (EGCG) qui a inhibé l'expression de PDGFR dans des cellules de rat. Cependant, toutes ces études ont un point en commun; elles utilisent des concentrations très élevées en flavonoïdes, pouvant atteindre 200µM dans le cas de la quercétine, et impliquent des temps d'incubation très longs, allant jusqu'à trois jours. Ces conditions expérimentales ne correspondent pas à celles utilisées lors de études *in vitro*, qui privilégiaient des concentrations faibles et des temps d'incubation qui ne modifiaient pas les niveaux des différents récepteurs, comme en témoignent les nombreux contrôles effectués en immunoblotting de type Western (Jung et al., 2001).

*In vitro* les études ont démontré que la génisteine, silymarine, et (EGCG) inhibent les voies de signalisation pro proliférative et modulent l'expression des régulateurs du cycle cellulaire et ce à différents niveaux, menant à l'inhibition de croissance tumorale et à la mort cellulaire de carcinome (Tosetti et al., 2002).

Par ailleurs, la Méricétine, un flavonol retrouvé dans plusieurs plantes ( thé, baies, fruits, légumes, et plantes médicinales) a montré des effets chimiopréventifs contre le cancer cutané où elle inhibe fortement la transformation néoplasique des cellules induite par les promoteurs tumoraux par l'inhibition des kinases impliquées dans les voies de signalisation liées à la prolifération cellulaires (MEK, AKT..) *in vitro* la mericétine atténue l'expression de la COX-2 UVB induite. Ce flavonol a récemment inhibé *in vivo* l'angiogenèse induite par les UVB impliquant le PI3-K dans un modèle murin tumorigénique cutané (Kang et al., 2011).

L'apigénine, un autre flavonoïde a été testé *in vitro* et a montré des effets modulateurs sur l'expression des marqueurs de cellules apoptotiques (p53, Bcl-2, Bax, Caspase-3 and 9), de la prolifération cellulaire (PCNA, Cyclin D1, c-fos), de l'angiogenèse (VEGF) et de l'inflammation



(NF $\kappa$ B, COX-2) dans un modèle animal de carcinogénèse buccale chez le hamster induite par le 7,12-diméthylbenz[a]anthracène (DMBA) (Silvan & Manoharan, 2013).

La Quercétine, un flavonoïde polyphénolique, possède de multiples activités pharmacologiques : anti-inflammatoire et anti-tumorale. Cependant le mécanisme d'action de la quercétine demeure inconnu. Xiao et collaborateurs ont démontré l'action régulatrice de la quercétine sur les COX-2 où ils ont observé une suppression significative des ARNm et de l'expression protéique de la COX-2, une diminution de la production des prostaglandines ainsi que l'inhibition de l'activation du promoteur de la COX-2 dans des cellules de cancer du sein. D'autre part ce flavonoïde inhibe significativement l'angiogenèse induite par COX-2 dans les cellules endothéliales humaines d'une manière dose dépendante (figure 20 AnnexeVI) (Xiao et al., 2011)

- **Effets des flavones sur la sécrétion des MMPs**

L'étude de l'effet anti-invasif des flavonoïdes sur des lignées cellulaires humaines (PASCs) incubées en présence de concentrations croissantes de flavones, a été réalisée par les méthodes de zymographie gélatinolytique mesurant l'activité des MMPs sécrétées. Cette étude a montré que les flavones tels que l'apigénine n'influence pas la sécrétion de la proMMP-2 par les PASCs En revanche, la lutéoline, elle, réussit à inhiber cette sécrétion et ce, en fonction des concentrations qui ont été utilisées (figure 21 Annexe IV) (Bédard V, 2008).

### **II.2.3. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens : Effets Inhibiteurs des cyclooxygénases par les anti- inflammatoires non stéroïdiens**

Les médicaments AINSs, telles que l'Aspirine, l'Ibuprofène et le Diclofénac..., ont été proposés pour prévenir certains types de cancer, tel que le poumon, et le cancer du sein. Les mécanismes moléculaires de l'action de ces substances suggèrent un effet anti-angiogénique (Cezar-de-Mello et al., 2006). L'utilisation de ces composés *in vivo* et *in vitro* a montré des effets biologiques anticancéreux intéressants en plus de leur effet inhibiteur des cyclooxygénases par inhibition de la synthèse des prostaglandines (Husein-El ahmed et al., 2012).

#### **II.2.3.a. L'Aspirine**

Il y a grand intérêt pour l'utilisation de l'aspirine comme agent chimio-préventif à action anti-angiogénique en tant que données épidémiologiques (Hurwitz & Kabbavar, 2005). L'effet protecteur de l'aspirine est souvent attribué à sa capacité à inhiber les enzymes Cox-1 et Cox-2 et pour réguler plusieurs fonctions homéostatiques aussi bien la douleur que l'inflammation. L'aspirine utilisé dans les études sur la prolifération de cellules endothéliales, la viabilité et l'angiogenèse (figure 22, Annexe IV) (Borthwick et al., 2006).

- **Effet de l'Aspirine sur l'angiogenèse**

Des expériences au laboratoire ont été réalisées sur la lignée cellulaire microvasculaire HMEC1, bien-caractérisée représentant la cellule endothéliale qui développe de l'angiogenèse *in vivo*. Le traitement par l'aspirine de ces cellules *in vitro* a montré une inhibition de la prolifération cellulaire et une diminution de viabilité cellulaire dose dépendante (figure 22 Annexe IV) (Borthwick et *al.*, 2006) en outre ces résultats, l'aspirine a démontré un effet pro apoptotique détecté par TUNEL dose dépendant (Figure 23 annexe IV) (Baatout, 1997).

- **Effet de l'Aspirine sur la migration de la cellule endothéliale**

Des études récentes ont démontré que l'activation de la voie de signalisation FAK stimulée par le VEGF est inhibée efficacement par Axl-1, ainsi que la formation de fibre dans la cellule endothéliale(CE). Pendant l'angiogenèse, la migration de la CE exige l'activation concertée de deux voies complémentaires menant à se soumettre à une contrainte, la formation de fibre : la voie de SAPK2/p38 kinase est impliquée dans la polymérisation d'actine, et l'autre implique l'activation de FAK et l'ensemble contrôle les adhérences focales. Cette conclusion a été déduite d'une étude *in vitro* sur des cellules HUVECs traitées ou non par l'inhibiteur avant d'être soumise ou non au VEGF. Le traitement combiné conduit à l'inhibition de la phosphorylation de p38 dans les HUVECs d'une façon dose dépendante (figure 24 annexe IV) (Cezar-de-Mello et *al.*, 2006).

### **II.2.3.b. Diclofénac**

- **Effet anti-angiogénique du Diclofénac**

Parmi les AINs, le diclofenac est le plus ancien en service depuis 1976. C'est un inhibiteur des COXs non sélectivement. Les études en clinique ont démontré qu'il réduit 94% de l'activité de la Cox-2 et 49% de l'activité Cox-1. *In vitro* il inhibe la phospholipase A2 (PLA2) qui est aussi inhibée *in vivo*.

À la lumière de ces activités inhibitrices du Diclofénac, l'exploration de son potentiel anticancéreux dans un modèle de souris du cancer pancréatique a montré une diminution de 60% de la taille des tumeurs revenant à l'apoptose des cellules tumorales, cet effet est indirect et fonctionne essentiellement un effet anti-angiogénique significatif, comme démontré par une forte réduction de l'expression du VEGF dans la tumeur, ainsi que la diminution de la densité microvasculaire et des modifications morphologiques des vaisseaux sanguins de tumeur. (Mayorek et *al.*, 2010).

La détermination du rôle du Diclofénac dans le processus angiogénique a été mise en évidence par la technique de CAM qui étudie les aspects morpho-fonctionnels du processus d'angiogenèse *in vivo* dû à la vascularisation. Les tumeurs étendus restent avasculaires pour 72 h, et après ils sont pénétrés par de nouveaux vaisseaux sanguins et commencent une phase de croissance rapide. La CAM peut également être utilisée pour vérifier la capacité d'empêcher la



croissance des capillaires en implantant des tumeurs sur la CAM et en comparant la croissance et la vascularisation de tumeur avec ou sans l'administration d'une molécule anti-angiogénique.

Le Diclofénac (utilisé à une concentration de 0,7%) induit une réduction du diamètre des vaisseaux sanguins (Hussain *et al.*, 2011).

Dans une autre étude, il a étudié le rôle d'expression de Cox-2 dans la résistance à la radiothérapie et l'effet du Diclofénac sur la viabilité des cellules et la radiosensibilité *in vitro* (Inoue *et al.*, 2013).

- **Effet de diclofenac sur la viabilité de cellules du cancer de prostate**

Le potentiel anti-tumoral du Diclofénac a été testé sur la viabilité des cellules et sur l'implication de l'expression Cox-2 dans la prolifération des cellules LNCaP-COX-2 et LNCaP-Néo. Une diminution de la viabilité cellulaire dose dépendante par Diclofénac est observée dans les deux lignées cellulaires LNCaP-COX-2 et LNCaP-Néo avec des concentrations inhibitrices du Diclofénac de 50%(IC50) de 42.2  $\mu$ M et 91.6  $\mu$ M, respectivement.

Ces données suggèrent que l'efficacité du Diclofénac puisse être attribuée à l'expression de la Cox-2(Figure 25 Annexe IV) (Inoue *et al.*, 2013).

### **II.2.3.c. Ibuprofène**

Les études épidémiologiques, cliniques, et au laboratoire ont suggéré que l'Ibuprofène, un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien généralement utilisé, inhibe la progression et la prolifération de certaines tumeurs. Récemment, nous avons démontré ses effets antiprolifératifs sur des lignées MKN-45 (Bonelli *et al.*, 2012).

- **Effet antiprolifératif de l'Ibuprofène sur les lignées MKN-45**

Cependant, les doses élevées d'Ibuprofène ont été exigées afin d'obtenir ces effets antiprolifératifs *in vitro*. La recherche actuelle a comparé les résultats de l'effet antiprolifératif de l'Ibuprofène libre et encapsulé dans des nanoparticules (NPs) de l'acide poly lactique-Co-glycolique sur des cellules MKN-45. Des différences dans les profils d'expression de gène après le traitement par l'Ibuprofène, l'Ibuprofène utilisé à fortes doses a exercé ses actions antiprolifératives à travers le cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose. Donc, observé des effets antiprolifératives de l'Ibuprofène sur les cellules MKN-45 (Bonelli *et al.*, 2012).

- **Effet d'ibuprofène sur les facteurs de croissance**

Dans cette étude les différences entre l'Ibuprofène et l'Indométhacine peuvent jaillir soit en raison des différences dans leurs caractéristiques pharmacologiques dans le nouveau-né.

En dépit de leurs différences, Là où comme ont montré que l'Ibuprofène augmente l'autorégulation rétinienne et choroïde d'écoulement de sang dedans les nouveaux nés ont exposé à l'hypertension et à l'hypotension.

Donc, l'Ibuprofène exercé leur effet sur le neovascularisation rétinien n'a pas précédemment étudié, mais peut en partie être lié au leur effets sur des facteurs de croissance tels que le VEGF, et/ou la croissance hormone (GH).  
Ibuprofène à dose forte diminué les niveaux rétiniens de VEGF et transcriptions retinal VEGF164, VEGF120, et VEGFR-2 (Beharry et *al.*, 2006).



**Conclusion**

L'angiogénèse est la formation de nouveaux vaisseaux sanguins supportant la croissance de tumeur. Elle est associée au plus grand risque d'invasion tumorale, de métastase et de mortalité.

Le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), un régulateur principal de l'angiogénèse, stimule directement la prolifération et la migration de cellules endothéliales. L'inhibition du VEGF constitue un traitement efficace de plusieurs types de cancers. Beaucoup d'agents visant l'inhibition du VEGF ont été développés, mais la plupart ont certains effets secondaires tels que l'hypertension, l'hémorragie, la perforation gastro-intestinale etc, lors d'utilisations à long terme. Le fonctionnement de Bevacizumab comme anticorps monoclonal humanisé, qui a empêché la formation de nouveaux vaisseaux sanguins en visant et en empêchant la fonction de VEGF.

La chimioprévention de l'angiogénèse n'a pas pour but la destruction des cellules tumorales, elle vise essentiellement les cellules endothéliales en empêchant leur division dont le résultat est un état de quiescence vasculaire avec une involution des vaisseaux néoformés, Plusieurs produits naturels ainsi que les AINS possèdent un excellent potentiel d'inhibition des processus d'angiogénèse et de formation de métastases, puisqu'ils ont pour cible une large gamme de récepteurs à activité tyrosine kinase. Bien que les mécanismes d'action de ces molécules bioactives soient généralement mal connus

Enfin nous proposons la chimioprévention de l'angiogénèse tumorale par la chimiothérapie anti-inflammatoire comme traitement adjuvant contre le développement et la progression du cancer.

# Annexes

## Annexe I

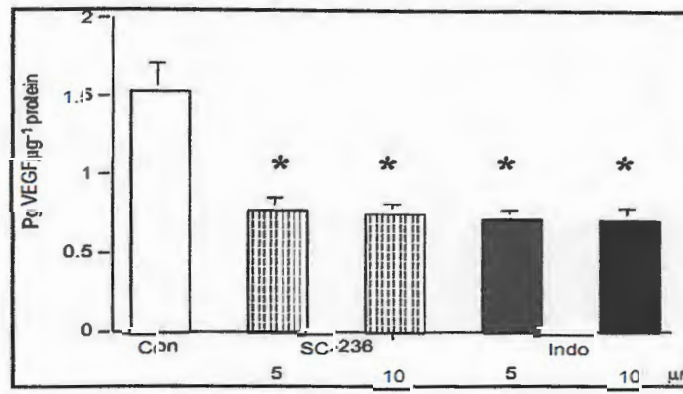


Figure 8: Production du VEGF par les cellules 4T1 *in vitro* en présence du SC-236 ou de l'indométhacine à 5 ou 10 μM (D'après Connolly et al., 2002).

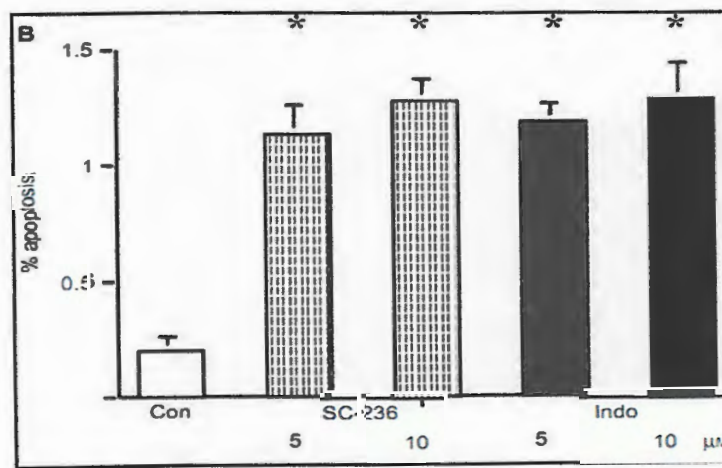


Figure 9: Apoptose de cellules 4T1. En présence SC-236 ou indométhacine à 5 ou 10 μM (D'après Connolly et al., 2002).



ANNEXE II

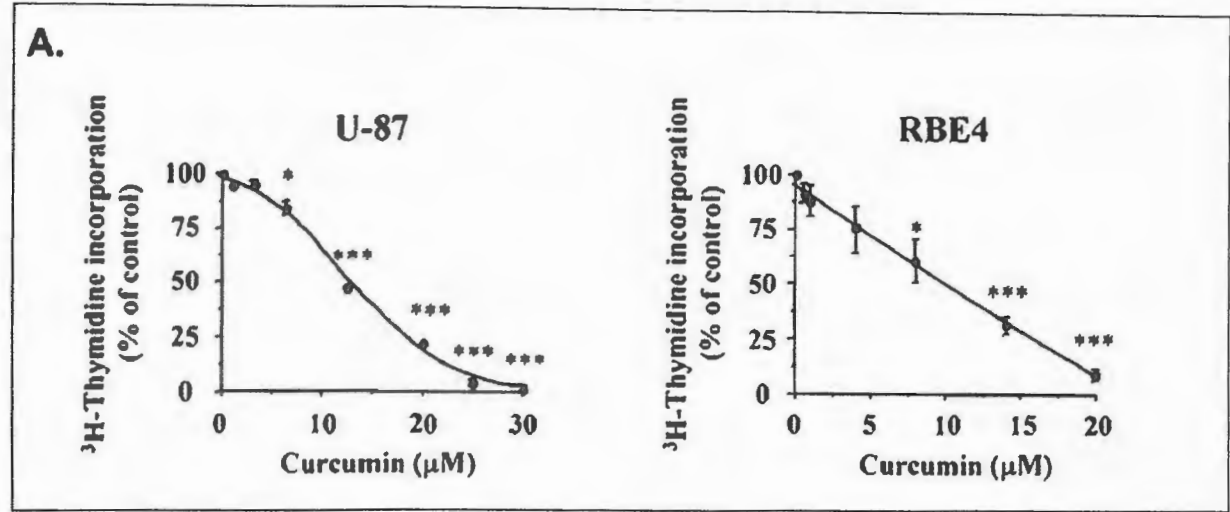


Figure 11 : Effet de la Curcumine sur la synthèse de l'ADN, test de la Thymidine  $^3\text{H}$  (d'après Perry et al.,2008)

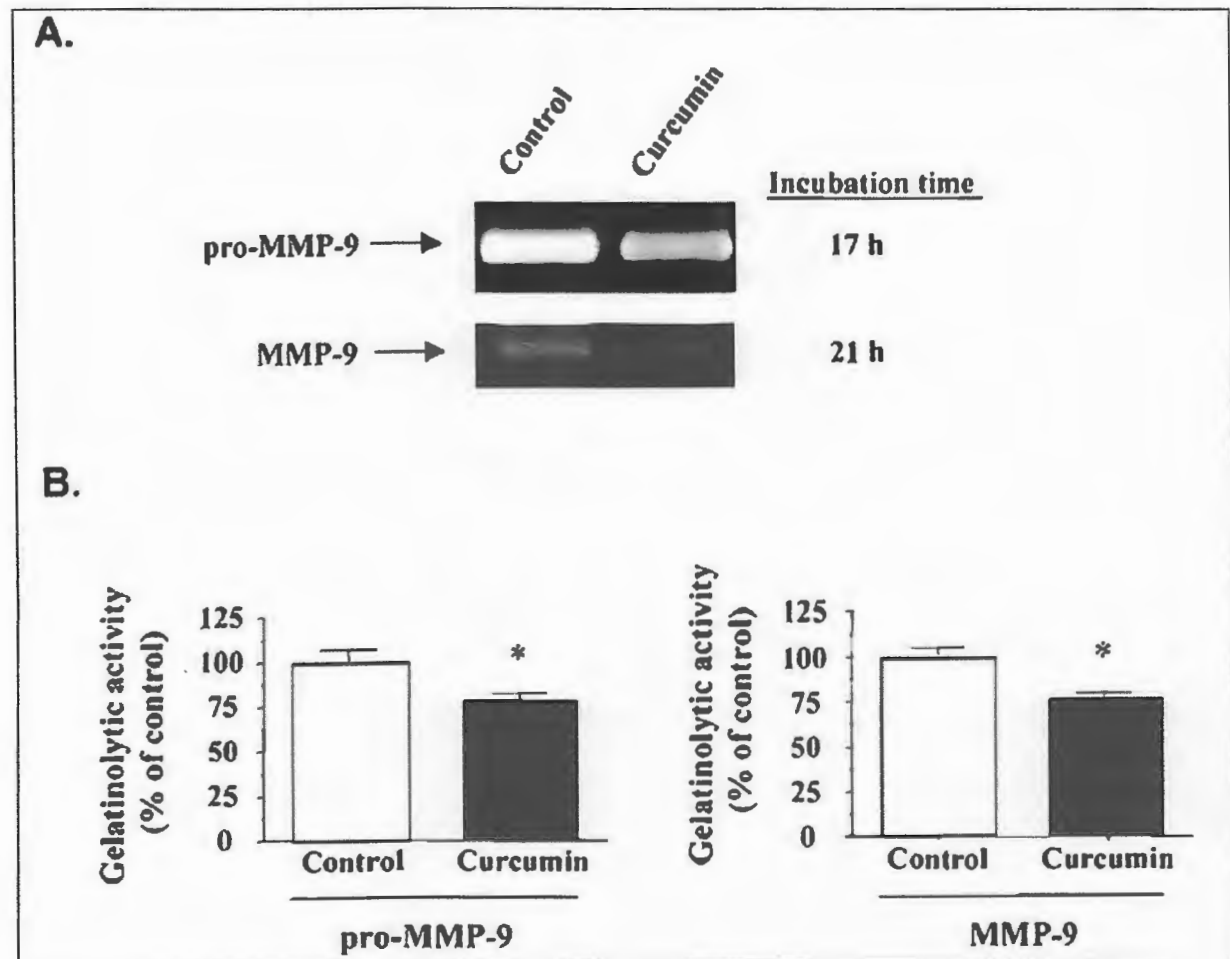
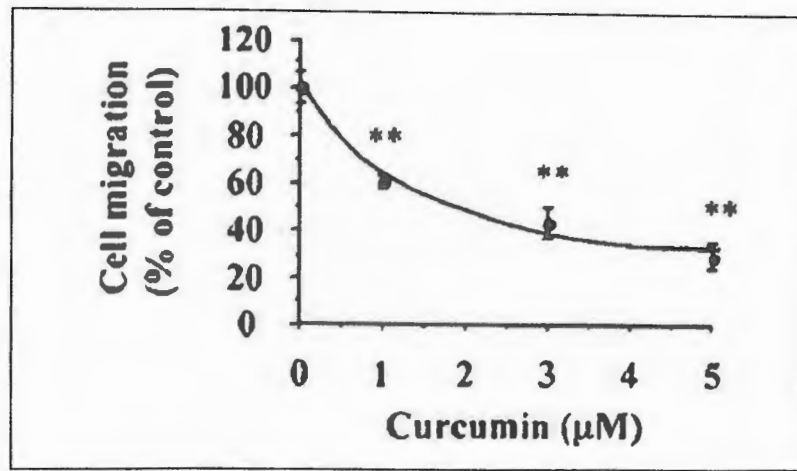
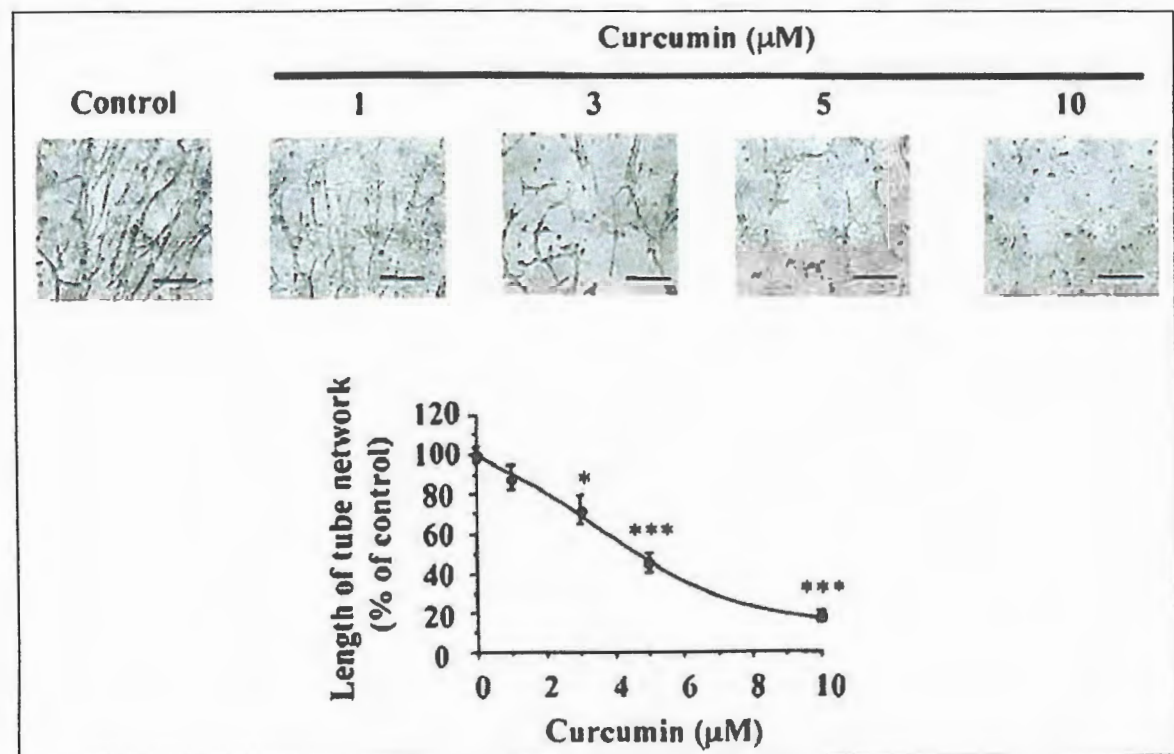


Figure12 : Effets inhibiteurs de la curcumine sur l'activité et l'expression de la MMP-9 A : expression de la Pro-MMP-9 issue des cellules HUVEC. B : activité gélatinolytique de la MMP-9 (d'après Perry et al.,2008)

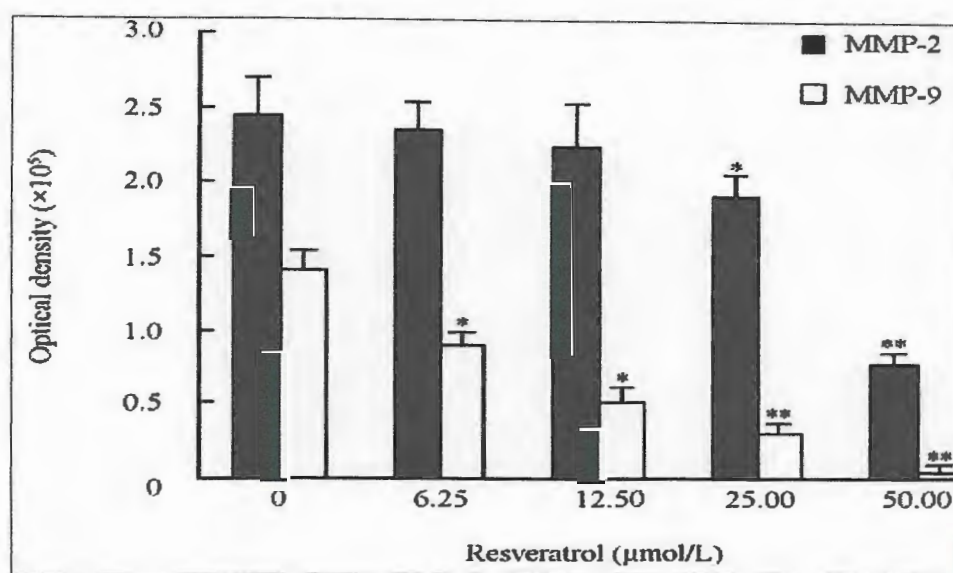


**Figure 13 :** Effet de la Curcumine sur la migration des cellules endothéliales (d'après Perry et al.,2008)

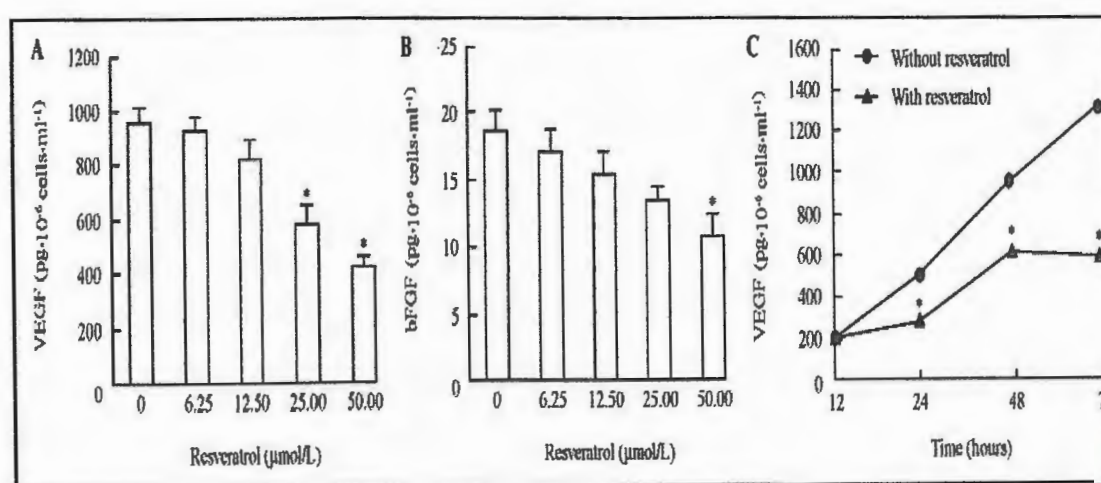


**Figure 14 :** Effet de la Curcumine sur la formation de réseau de néovaisseaux in vitro sur des cellules HUVECs (d'après Perry et al.,2008)

### ANNEXE III

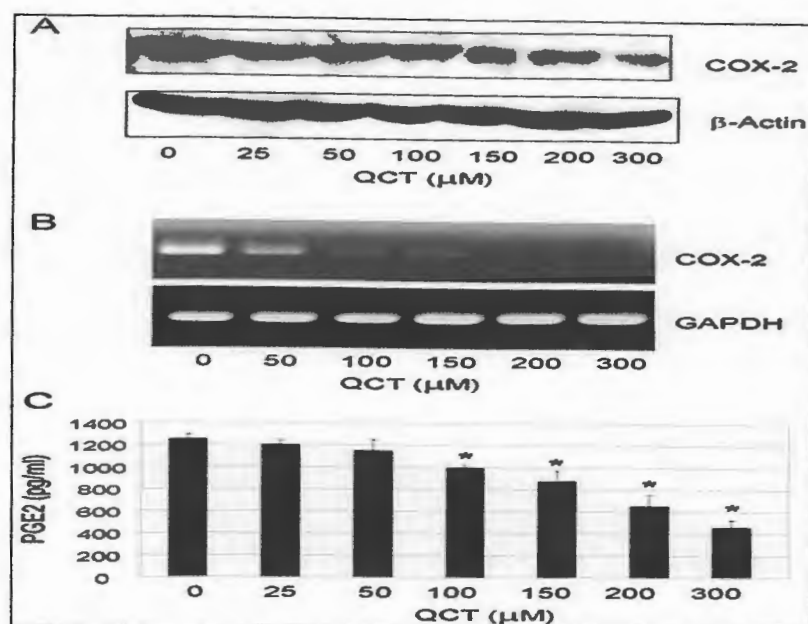


**Figure 16:** Effets de différentes concentrations de Resveratrol sur l'activité gélatinolytique des MMP-2 et -9 dans les cellules RPMI 8226 (D'après Hu et al., 2007).



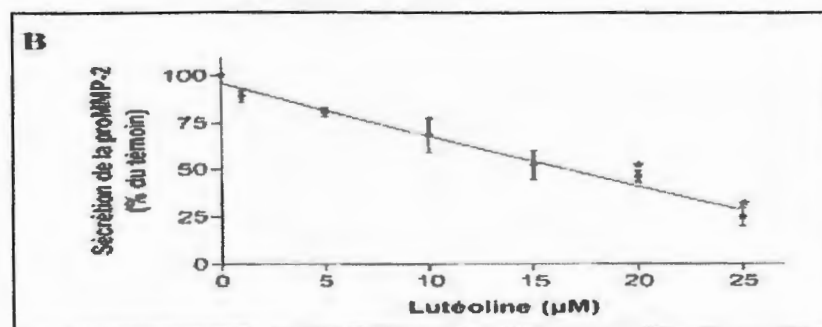
**Figure 17 :** Effets du Resveratrol sur la sécrétion du VEGF et bFGF par les cellules RPMI 8226. (D'après Hu et al., 2007)

## ANNEXE IV



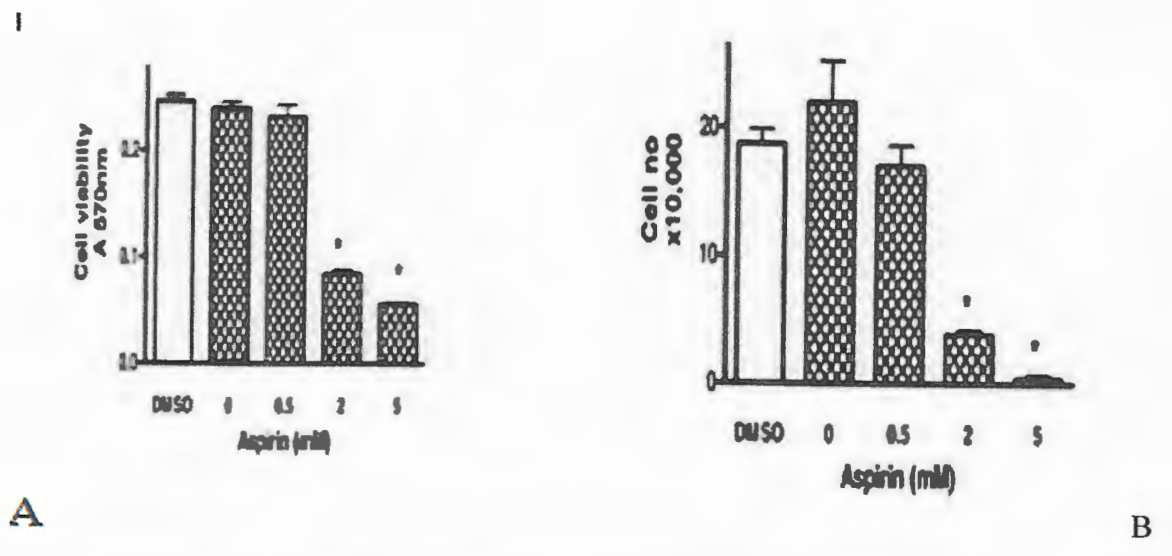
**Figure 20:** Effet de la quercétine sur l'expression de la COX-2

Les cellules humaines Mda-MB-231 ont été traitées avec de la quercétine pour 48 h. les protéines Cox-2 (A) et le mRNA (B) ont été analysés par Western blotting et RT-PCR, respectivement, et PGE2 dans le milieu des cellules Mda-mb-231 ont été examinés par ELISA (C).  $\beta$  - l'actine et les GAPDH ont été employés comme contrôles pour le chargement d'échantillon.

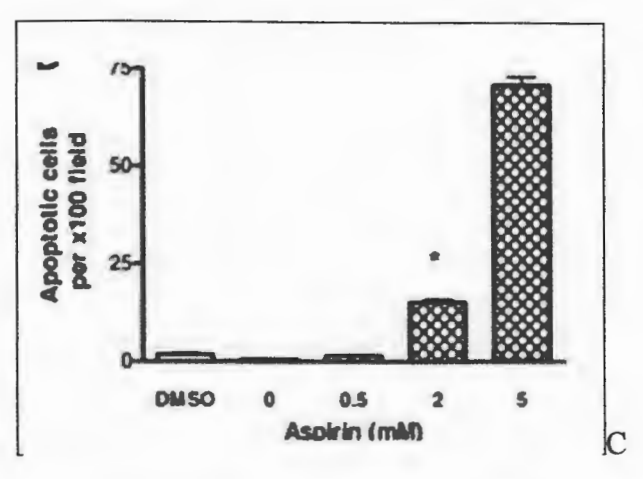


**Figure 21:** Inhibition par la lutéoline, de l'excrétion par les PSMCs de la proMMP-2 dans le milieu de culture (Daprès Bédard V, 2008)

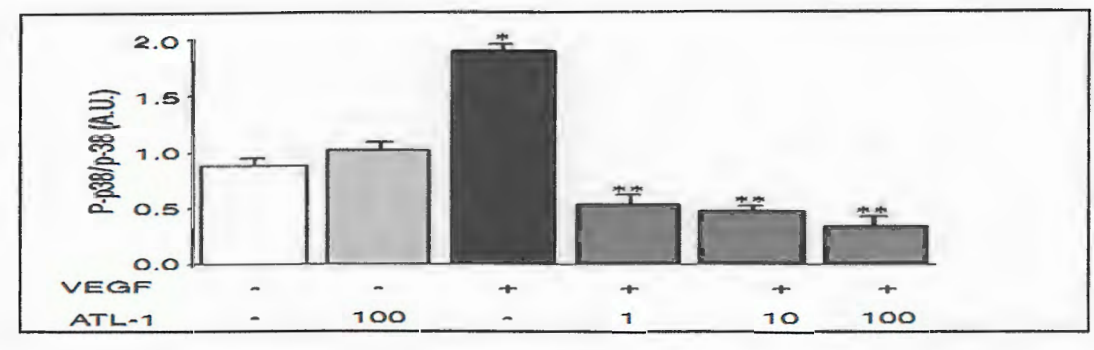




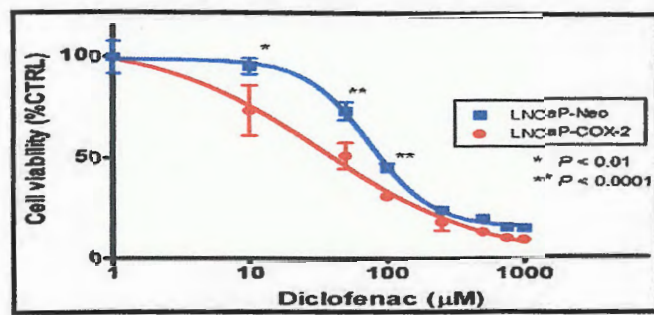
**Figure 22** :L'aspirine empêche la prolifération de cellules endothéliale et réduit la viabilité de cellules (D'après Borthwick et al., 2006).



**Figure 23** :L'aspirine induit l'apoptose (D'après Baatout, 1997).



**Figure 24**: la phosphorylation p38 VEGF-induite est empêché par Atl-1 (D'après Cezar-de-Mello et al., 2006).



**Figure 25:** Effets de Diclofenac sur les cellules LNCaP-COX-2 et LNCaP-Néo

(D'après Inoue et al., 2013).

## *Références bibliographiques*



## Références bibliographiques

- Aggarwal BB, Bardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S & Takada Y.** Role of Resveratrol in Prevention and Therapy of Cancer: Preclinical and Clinical (Review). *AntiCancer Research*, 2004; **24**: 2783-2840.
- Albini A, Tosetti F, Benelli R & Noonan DM.** Tumor Inflammatory Angiogenesis and Its Chemoprevention. *Cancer Res*, 2005; **65**(23): 10637-10641.
- Allaj V, Guo C & Nie D.** Non-steroid anti-inflammatory drugs, prostaglandins, and cancer (review). *Cell & Bioscience*, 2013; **3**: 8.
- Arbiser JL, Klauber N, Rohan R, Van Leeuwen R, Huang MT, Fisher C, Flynn E & Byers HR.** Curcumin is an in vivo inhibitor of angiogenesis. *Mol Med*, 1998; **4**: 376-83.
- Arya M, Bott SR, Shergill S, Ahmed HD, Williamson M & Patel HR.** The metastatic cascade in prostate cancer. *Surg Oncol*, 2006; **15**(3): 117-128.
- Bannwarth B, Bouvenot G & Bouvenot J.** Prescription et surveillance des anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Thèse de doctorat. Faculté de Médecine de Merseille, 2005; P: 9, 10.
- Baatout S.** Endothelial differentiation using Matrigel (review). *Anticancer Res*, 1997; **17**: 451-455.
- Ballinger A & Smith G.** Cox-2 inhibitors vs. NSAIDs in gastrointestinal damage and prevention. *Expert Opin Pharmacother*, 2001; **2**: 31-40.
- Beharry KA, Modanlou HD, Hasan J, Gharraee Z, Abad-Santos P, Sils JH, Jan A, Nageotte S & Aranda JV.** Effect of Prostaglandin Synthase Inhibitors on Growth Factors. *IOVS*, 2006; **47**(7): 3036-3043.
- Bergers G & Benjamin LE.** Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*, 2003; **3**(6): 401-410.
- Bergers G, Brekken R, Mahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, Tanzawa K, Thorpe P, Itohara S, Werb Z & Hanahan D.** Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol*, 2003; **2**: 737-744.
- Bédard V.** Les propriétés antiangiogéniques des flavonoïdes. Thèse de doctorat. Université québec à montréal .2008. P: 69 -96.
- Bicfalvi A.** Tumor angiogenesis. *Bull Cancer*, 2003; **90**(5): 449-458.
- Boiteux G.** Effet de ligands de PPAR sur l'expression de deux marqueurs potentiels de progression des cancers de la vessie: Vascular endothelial growth factor, Adepocytes-Fatty acid Binding Protien. Thèse de doctorat. Université de Franche-Centre. Faculté de médecine et de pharmacie. 2008. P: 69-71.
- Bonelli P, Tuccillo FM, Federico M, Napolitano M, Borrelli A, Melisi D, Rimoli MG, Palaia R, Arra C & Carinci F.** Ibuprofen-PLGA NPs: effects on human cancer cells. *International Journal of Nanomedicine*, 2012; **7**: 5683-5691.
- Borthwick GM, Johnson AS, Partington M, Burn J, Wilson R & Arthur HM.** Therapeutic levels of aspirin and salicylate directly inhibit a model of angiogenesis through a Cox-independent mechanism. *FASEB J*, 2006; **20**: 2009-2016.
- Bussolino F, Montovani A & Persico G.** Molecular mechanisms of blood vessel formation. *Trends Biochemem Sci*, 1997; **22**:251-256.

- Carmeliet P.** Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med*, 2000; **6**(4): 389-595.
- Carmeliet P & Jain RK.** Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*, 2000; **407**(6801): 249-257.
- Carmeliet P.** Angiogenesis in health and disease. *Nat Med*, 2003; **9**: 653-660.
- Carmeliet P.** Manipulating angiogenesis in medicine. *J Intern Med*, 2004; **255**(5): 538-561.
- Cezar-de-Mello PFT, Nascimento-Silva V, Villela CG & Fierro IM.** Aspirin-triggered Lipoxin A4 inhibition of VEGF-induced endothelial cell migration involves actin polymerization and focal adhesion assembly. *Oncogene*, 2006; **25**: 122-129.
- Chabannes E, Bernardini S, Wallerand H & Bittard H.** L'angiogenèse dans les tumeurs vésicales: indicateur pronostique et cible thérapeutique. Article de revue. *Progrès en Urologie*, 2001; **11**: 417-427.
- Chen Y & Tseng S H.** Pro- and Anti-angiogenesis Effects of Resveratrol. Review. *In vivo*, 2007; **21**: 365-370.
- Chintana P.** Role of curcuma on tumor angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *Naresuan University Journal*, 2008; **16**(3): 239-254.
- Connolly EM, Harmey JH, O'Grady T, Foley D, Roche-Nagle G, Kay E & Bouchier-Hayes DJ.** Cyclooxygenase inhibition reduces tumour growth and metastasis in an orthotopic model of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 2002; **87**: 231 – 237.
- Conway EM, Collen D & Carmeliet P.** Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc Res*, 2001; **49**(3): 507-521.
- Dai Y & Wang WH.** Non-steroidal anti-inflammatory drugs in prevention of gastric cancer. Review. *World J Gastroenterol*, 2006; **12**(18): 2884-2889.
- Dumont DJ, Jussila L, Taipale J, Lymboussaki A, Mustonen T, Pajusola K, Breitman M & Alitalo K.** Cardiovascular failure in mouse embryos deficient in VEGF receptor-3. *Science*, 1998; **282**: 946-949.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry B, Dicato M & Diederich M.** Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett*, 2005; **223**: 181-90.
- Dvorak HF.** Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol*, 2002; **20**(21): 4368-80.
- El Maghraoui A.** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens. *Modalités de prescription*. Thèse de doctorat. Faculté de Médecine de Marseille, 2009. 5- 10.
- Fakui M, Kamabe N & Zhu T.** Rasveratol attenuates the anticancer efficacy of paclitaxel in tumor breast cancer cells in vitro and in vivo. *Eur J cancer*, 2010; **46**(10): 1882-1891
- Ferrara N & Henzel WJ.** Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989; **161**: 851- 858.
- Ferrara N.** Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. *Endocr Rev*, 2004; **25**: 581-611.
- Ferrara N & Kerbel RS.** Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature*, 2005; **438**(7070): 967-974.

- Folkman J.** Tumor angiogenesis: therapeutic implication. *N Engl J Med*, 1971; **285**(21): 1182-1186.
- Folkman J.** Endothelial cells and angiogenic growth factors in cancer growth and metastasis. Introduction. Review. *Cancer Metastasis Rev*, 1990; **9** (3): 171-174.
- Folkman J.** Angiogenesis. *Annu Rev Med*, 2006; **57**: 1-18.
- Fong GH, Rossant J, Gertsenstein M & Breitman ML.** Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium. *Nature*, 1995; **376**: 66-70.
- Gerber HP, Ferrara N.** Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. *Cancer Res*, 2005; **65**: 671-680.
- Glade Bender J, Yamashiro DJ & Fox E.** Clinical Development of VEGF Signaling Pathway Inhibitors in Childhood Solid Tumors. *The Oncologist*, 2011; **16**: 1614-1625.
- Girgis HK.** Anti-inflammatoires Non Stéroïdiens: Une vieille classe innovante pour le traitement du traumatisme crânien. Thèse de doctorat. Université Paris Descartes. Spécialité de pharmacologie, 2012. P: 75.
- Hanahan D & Folkman J.** Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell*, 1996; **86**: 353-364.
- Hanahan D & Weinberg RA.** The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; **100**(1): 57-70.
- Harikumar KB, Kuttan G & Kuttan R.** Inhibition of progression of erythroleukemia induced by Friend virus in BALB/c mice by natural products: berberine, curcumin and picroliv. *J. Exp. Ther. Oncol*, 2008; **7**: 275-284.
- Harper SJ & Bates DO.** VEGF-A splicing: the key to anti-angiogenic therapeutics. *Nat Rev Cancer*, 2008; **8**(11): 880-887.
- Hicklin DJ & Ellis LM.** Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*, 2005; **23**(5): 1011-1027.
- Holmes K, Roberts OL, Thomas AM & Cross MJ.** Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal*, 2007; **19**: 2003-2012.
- Husein-El ahmed H, Fernandez JA, Salmeron G, Aneiros-Cachaza J, Naranjo-Sintes R.** Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the histology of basal cell carcinomas. *Eur J Dermatol*, 2012; **22**(2): 205-210.
- Hussain I, Omer MO, Ashraf M, Ur-Rehman H.** Effect of diclofenac sodium angiogenesis using chorioallantoic membrane (CAM) assay. *J App Pharm*, 2011; **03**(03): 320-330.
- Hu Y, Su C, Huang J, Hong L, Zhang L & Chu Z.** Antmyeloma effects of resveratrol through inhibition of angiogenesis. *Chin Med J*, 2007; **120**(19):1672-1677.
- Hurwitz H & Kabbinavar F.** Bevacizumab combined with standard fluoropyrimidine-based chemotherapy regimens to treat colorectal cancer. *Oncology*, 2005; **69**(3): 17-24.
- Hwang DH, Fung V & Dannenberg AJ.** Neoplasia National Cancer Institute Workshop on Chemopreventive Properties of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs: Role of COX-Dependent and -Independent Mechanisms, 2002; **4**(2): 91-97.



- Inoue T, Anai S, Onishi S, Miyake M, Tanaka N, Hirayama A, Fujimoto K & Hirao Y.** Inhibition of Cox-2 expression by topical Diclofenac enhanced radiationsensitivity via Enhancement of TRAIL in human prostate Adenocarcinoma xenograft model. *BioMed Central Urology*, 2013; **13**: 1-9.
- Jain RK.** Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med*, 2003; **9**(6): 685-693.
- Jung YD, Kim MS, Shin BA, Chay KO, Ahn BW, Liu W, Bucana CD, Gallick GE, & Ellis LM.** EGCG, a major component of green tea, inhibits tumour growth by inhibiting VEGF induction in human colon carcinoma cells. *Br. J. Cancer*, 2001, **84**, 844-850.
- Kang NJ, Jung SK, Lee KW & Lee HJ.** Myristin is a potent chemopreventive phytochemical in skin carcinogenesis. *Ann. NY. Acad. Sci.*, 2011; **1229**: 124-132.
- Kalluri R.** Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2003; **3**(6): 422-433.
- Kanadaswami C, Lee LT, Lee PP, Hwang JJ, Ke FC, Huang YT & Lee MT.** The Antitumor Activities of Flavonoids. Review. *in vivo*, 2005; **19**: 895-910.
- Karaa Z.** MicroARN et Hypoxie: Etude du contrôle de l'expression de HIF-1a et du VEGF. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. 2008. P: 75.
- Kelkel M, Jacob C, Dicato M & Diederich M.** Potential of the dietary antioxidants Resveratrol and Curcumin in prevention and treatment of Hematologic Malignancies (Review). *Molecules*, 2010; **15**: 7035-7074.
- Kerbel RS.** Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis*, 2000; **21**(3): 505-515.
- Kim JH, Shim JS, Lee SK, Kim KW, Rha SY, Chung RC & Kwon HJ.** Microarray-based analysis of anti-angiogenic activity of demethoxy curcumin on human umbilical vein endothelial cells: crucial involvement of the down regulation of matrix metalloproteinase. *Jpn J Cancer Res*, 2002; **93**: 1378-1385.
- Kimura Y & Okuda H.** Resveratrol isolated from *Polygonum cuspidatum* root prevents tumor growth and metastasis to lung and tumor-induced neovascularization in Lewis lung carcinomabearing mice. *J Nutr*, 2001; **131**: 1844-1849.
- Kimura Y.** New Anticancer Agents: *In vitro* and *in vivo* evaluation of the antitumor and antimetastatic actions of various compounds isolated from medicinal plants. *In vivo*, 2005; **19**: 37-60.
- Krishnan AV & Feldman D.** Molecular pathways mediating the anti-inflammatory effects of calcitriol: implications for prostate cancer chemoprevention and treatment. *Endocrine-Related Cancer*, 2010; **17**: 19-38.
- Lavielle S.** Synthèse de molécules fluorescentes pour le développement d'un nouvel outil de nanoimagerie. Application à l'imagerie de l'angiogénèse pathologique. Thèse de doctorat. Université Bordeaux 1. Spécialité de chimie organique, 2008. P: 27.
- Leahy KM, Koki AT & Masferrer JL.** Role of Cyclooxygenases in Angiogenesis. *Current Medicinal Chemistry*, 2000; **7**: 1163-1170.
- Le Tourneau C, Faivre S & Raymond E.** New developments in multitargeted therapy for patients with solid tumours. *Cancer Treat Rev*, 2008; **34**: 37-48.

- Lee EO, Lee HJ, Hwang HS, Ahn K S, Chae C, Kang K S, Lu J & Kim S H. Potent inhibition of Lewis lung cancer growth by heyneanol A from the roots of *Vitis amurensis* through apoptotic and anti-angiogenic activities. *Carcinogenesis*, 2006; **27**(10): 2059-2069.
- Lee SK, Zhang W. & Sanderson BJ. Selective growth inhibition of human leukemia and human lymphoblastoid cells by resveratrol via cell cycle arrest and apoptosis induction. *J. Agric. Food Chem*, 2008; **56**: 7572-7577.
- Liekens S, De Clercq E & Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol*. 2001; **61**(3): 253-270.
- Limbour P & De melo G. La prescription post-opératoire en chirurgie buccale. Actual. Odonto-stomatol., 1995, **190** : 205-213.
- Lin LI, Ke YF, Ko YC & Lin JK. Curcumin inhibits SK-Hep-I hepatocellular carcinoma cell invasion in vitro and suppresses matrix metalloproteinase-9 secretion. *Oncology*, 1998; **55**: 349-353.
- Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J & Srimal RC. Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sei*, 2006; **78**: 2081-7.
- Manzano A & Pérez-Segura P. Colorectal Cancer Chemoprevention: Is This the Future of Colorectal Cancer Prevention. Review Article. *The ScientificWorld Journal*, 2012: 1-8.
- Mayorek N, Naftali-Shani N, Grunewald M. Diclofenac Inhibits Tumor Growth in a Murine Model of Pancreatic Cancer by Modulation of VEGF Levels and Arginase Activity. *PLoS one*, 2010; **5**(9): e12715.
- Méjean A & Lebreton T. The metastatic cascade: angiogenesis and new concepts. *Progrès en Urologie*, 2008; **7**: s156-s166.
- Mignatti P & Rifkin DB. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein*, 1996; **49**(1-3), 117-137.
- Milkiewicz M, Ispanovic E, Doyle JL & Haas TL. Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006; **38**(3): 333-357.
- Mitchell JA, Akarasereenont P, Thiemermann C, Flower RJ & Vane JR. selectivity of non steroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl Acad Sci USA*, 1993; **17**: 145-162.
- Montesano R, Vassalli JD, Baird A, Gillemin R & Orci L. Basic Fibroblast Growth Factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986; **83**:7297-7301.
- Motzer RJ, Hutson TE & Tomczak P. Sunitinib versus Interferon Alfa in Metastatic Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med*, 2007; **356**: 115-124.
- Muller YA, Chen Y, Christinger HW & al. VEGF and the Fab fragment of a humanized neutralizing antibody: crystal structure of the complex at 2.4 Å resolution and mutational analysis of the interface. *Structure*, 1998; **6**: 1153-1167.
- Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J & Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006; **7**: 359-371.
- Ortega N, Sordello S & Plouet J. Tumoral vascularization: physiopathology and therapeutic prospects. *Bull Cancer*, 1997; **84**(4): 391-395.
-



- Pepper MS.** Angiogenèse et morphogénèse de l'arbre vasculaire: de la biologie cellulaire à la clinique. *médecine/sciences*, 2000; **16**: 1378-1386.
- Perry MC.** Évaluation de la curcumine comme agent anti-cancéreux dans le traitement des tumeurs cérébrales. Thèse de doctorat. Université du Québec à Montréal, 2008; P: 16.
- Perry MC, Demeule M, Régina A, Cecchelli R, Moundjian R & Béliveau R.** Curcumin inhibits tumor growth and angiogenesis in glioblastoma xenografts ( Article en Soumission). Thèse de doctorat. Université du Québec à Montréal, 2008; P: 43- 48.
- Pakneshan P, Birsner AE, Adini I, Becker CM & D'Amato RJ.** Differential Suppression of Vascular Permeability and Corneal Angiogenesis by Nonsteroidal Anti inflammatory Drugs. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2008; **49**(9): 3909-3913.
- Presta LG, Chen H, O'Connor SJ & al.** Humanization of an antivascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res*, 1997; **57**: 4593-4599.
- Ravaud A.** Le mécanisme de l'angiogénèse tumorale. *Progrès en Urologie*, 2007; **17**: 144-147.
- Rini BI & Rathmell WK.** Biological aspects and binding strategies of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2007; **13**: 741s-746s.
- Risau W.** Mechanisms of angiogenesis. Review. *Nature*, 1997; **17**: 671-674.
- Robinson CJ & Stringer SE.** The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci*, 2001; **114**(5): 853-865.
- Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E & al.** Bevacizumab in Combination With Oxaliplatin-Based Chemotherapy As First-Line Therapy in Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Phase III Study. *J Clin Oncol*, 2008; **26**: 2013-2019.
- Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, Gertsenstein M, Wu XF, Breitman ML & Schuh AC.** Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice. *Nature*, 1995; **376**: 62-66.
- Shishodia S, Potdar P, Gairola CG & Aggarwal BB.** Curcumin (diferuloylmethane) down-regulates cigarette smoke-induced NF-kappaB activation through inhibition of IkappaBalpha kinase in human lung epithelial cells: correlation with suppression of COX-2, MMP-9 and cyclin D1. *Carcinogenesis*, 2003; **24**: 1269-1279.
- Silvan S & Manoharan S.** Apigenin prevents deregulation in the expression pattern of cell-proliferative, apoptotic, inflammatory and angiogenic markers during 7,12-dimethyl benz(a) anthracene-induced hamster buccal pouch carcinogenesis. *Arch. Oral. Biol*, 2013; **58**(1): 94-101.
- Silvestre JS & Levy BI.** Role of matrix proteolysis in angiogenesis. *JournAnnu Diabetol Hotel Dieu*, 2002: 23-32.
- Seandel M, Noack-Kunmann K, Zhu D, Aimes RT & Quigley JP.** Growth factor-induced angiogenesis in vivo requires specific cleavage of fibrillar type I collagen. *Blood*, 2001; **97**: 2323-2332.
- Takahachi N, Okumura T, Montomura W, Fugionuto Y, Kawabata I & Kohgo Y.** Activation of PPAR gamma inhibits cells growth and induces apoptosis in human gastric cancer cells. *FEBS Lett*, 1999: 135-139.
- Tosetti F, Ferrari N, De Flora S & Albin A.** Angioprevention: angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents. *Antiangiogenic activity of chemopreventive agents*, 2002; **16**: 2-14.
- Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H & Hori M.** DuBois, R.N. *Cell*, 1998; **93**:705.

Vane JR, Botting RM. The mechanism of action of aspirin. *Thromb Res*, 2003; **110**: 255-258.

Verheul HMW, Panigrahy D & Yuan J. D'Amato, R.J. *British Journal of Cancer*, 1999; **79**(1): 114.

Walker MC, Kurumbail RG, Kiefer JR, Moreland KT, Koboldt CM, Isakson PC, Seibert K & Gierse JK. A three-step kinetic mechanism for selective inhibition of cyclo-oxygenase-2 by diarylheterocyclic inhibitors. *Biochem J*, 2001; **357**: 709-718.

Wang GL, Jiang BH, Rue EA & Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; **92**: 5510-5514.

Weng CJ, Yen GC. Flavonoids a ubiquitous dietary phenolic sub class exert extensive in vitro anti-invasive and in vivo antimetastatic activities. *Cancer Metastasis Rev*, 2012; **31**: 323-351.

Warner TD, Giuliano F, Vojnovic I, Bukasa A, Mitchell JA & Vane JR. Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full in vitro analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; **96**: 7563-7568.

Warner TD & Mitchell JA. Cyclooxygenase-3 (COX-3): filling in the gaps toward a COX continuum. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002; **99**: 13371-13373.

Woo MS, Jung SH, Kim SY, Hyun JW, Ko KH, Kim WK & Kim HS. Curcumin suppresses phorbol ester-induced matrix metalloproteinase-9 expression by inhibiting the PKC to MAPK signaling pathways in human astrogloma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005; **335**:1017-1025.

Wu KK. Aspirin and salicylate: An old remedy with a new twist. *Circulation*, 2000; **102**: 2022-2023.

Xiao X, Shi D, Lie L, Wang J, Xie X & Deng W. Quercetin suppresses cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis through inactivation of P300 signaling. *PLOS. One*, 2011; **6**(8): 229-34.

Yance DR & Sagar SM. Targeting angiogenesis with integrative cancer therapies. *Integr Cancer Ther*, 2006; **5**(1): 9-29.

Zachary I & Glick G. Signaling transduction mechanism mediating biological of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovas Res*, 2001; **49**: 568-581.



Dirigé par: M<sup>c</sup>L.Benguedouar  
Date de soutenance :27 -6-2013

Présenté par :-Hanane YOURIDE  
-WafiaGRIMES

## Chimioprévention de l'Angiogenèse Tumorale par la Thérapie Anti-inflammatoire

### Résumé :

L'étude de l'angiogenèse au cours de la croissance des tumeurs constitue un secteur de recherche en pleine essor. Cet intérêt provient de résultats importants, aux niveaux fondamental et clinique, montrant que la progression tumorale est très étroitement liée au degré de néovascularisation intratumorale. L'inhibition de cette néovascularisation par des composants perturbant certaines étapes moléculaires et cellulaires associées au développement des nouveaux vaisseaux est actuellement à l'étude, et pourrait permettre le développement de traitement contrôlant la progression de métastases. C'est ainsi qu'ont été développés des essais in vitro et in vivo sur des modèles cellulaires et animaux pour mettre en évidence les mécanismes moléculaires et cellulaire de l'angiogenèse en utilisant des substances anti-cancéreuses, artificielles connues pour d'autres effets pharmacologiques : les médicaments anti-inflammatoire non stéroïdien AINS ou encore les produits naturels. Ces derniers agissant à plusieurs niveaux par: inhibition de l'action des facteurs angiogéniques (VEGF), inhibition du signal angiogénique intracellulaires et altération de l'adhérence des cellules endothéliales à la matrice extracellulaire.

**Mots clés :** Angiogenèse, AINS, produits naturels, VEGF, Néovascularisation.

### Summary :

The study of angiogenesis in tumor growth is an interesting area of research. This interest comes from important results in fundamental and clinical levels, showing that tumor progression is closely related to the degree of intratumoral neovascularization. Inhibition of this neovascularization by disrupting molecular and cellular patterns is associated with the development of new blood vessels is currently under review and may allow the development of treatment controlling the progression of metastasis. This has led developed in vitro and in vivo testing on cellular and animal models in order to determine molecular and cellular mechanism of action of artificial anti-cancer substances, known for other pharmacological effects: non steroidal anti-inflammatory drugs NSAIDs or natural products, acting at several levels by inhibiting the action of angiogenic factors (VEGF), inhibition of intracellular angiogenic signal and altered adhesion of endothelial cells to the extracellular matrix.

**Key words:** Angiogenesis, NSAIDs, natural products, VEGF, Neovascularisation.

### ملخص:

دراسة الأوعية الدموية في نمو الورم هو مجال مهم للبحث العلمي، يأتي هذا الاهتمام من النتائج الهامة على المستوى الأساسي و الإكلينيكي، مبينا أن تطور الورم يرتبط ارتباطا وثيقا بدرجة اتساع الأوعية الدموية، و تثبيطه يتم عن طريق تعطيل بعض المكونات و الخطوات الخلوية الجزيئية المرتبطة بتطوير أوعية دموية جديدة يعتبر حاليا تحت البحث، وقد يسمح بتطوير علاج السيطرة على الورم الخبيث. ولهذا تم تطوير تجارب على الخلايا و الحيوان من أجل تحديد الميكانيزمات الجزيئية و الخلوية لتأثير المواد الاصطناعية المضادة للسرطان مثل الأدوية AINSs و المنتجات الطبيعية التي تعمل على عدة مستويات عن طريق تثبيط عامل من عوامل الأوعية الدموية (VEGF) و تثبيط الأوعية الدموية و اختلال التصاق الخلايا من الخلايا الباطنية إلى خارج الخلايا المصفوفة.

الكلمات المفتاحية : Angiogenèse، AINS، المنتجات الطبيعية، VEGF، تشكل الأوعية الدموية.