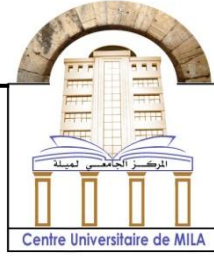


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N° Ref : .....

**Centre Universitaire Abdelhafid BOUSSOUF- Mila**

Institut des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

**Activité anti-vasculaire des composés naturels sur la  
membrane chorioallantoïdienne (CAM)**

Présenté par :

- AMIMOUR Khadidja
- BOUGHOUES Manel

Devant le jury :

- Dr. REFES.I	MAB	Présidente
- Dr. KEHILI. H	MCB	Examineur
- Mr. MOUSSAOUI. B	MAA	Promoteur

**Année Universitaire : 2023/2024**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



## *Remerciement*

*Avant tout nous remercions "Allah" le toutpuissant qui nous a donnés le courage, la volonté et la force pour accomplir ce travail. Merci de nous avoir éclairés le chemin de la réussite*

*Tout d'abord un grand merci pour l'encadrant **Monsieur Bilal***

***MOUSSAOUI**, votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien, et pour nous avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail*

*Nous remercions vivement les membres de ce jury :*

*qui nous fait l'honneur d'accepter de jurer notre travail*

*Nos remerciements les plus sincères à nos très chers parents, pour leurs soutiens indéfectibles, leurs encouragements indispensables et précieux qui nous ont permis d'avancer. Nous espérons un jour, être à la hauteur de vos attentes. Nous exprimons nos vifs remerciements aux techniciens de laboratoires.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à l'ensemble des enseignants du département des Sciences de la Nature et de la Vie qui ont contribué à notre formation.*

*Nous remercions aussi toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.*





# Dédicaces

*Avant tout je tiens à remercier Allah le tout puissant pour m'avoir donnée la force, la volonté, la santé et la patience pour mener à terme ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chères parentes : ma mère **Razika** et mon père **Ramdane***

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

*À mon chère frère **Mohamedamine** et mes belles sœurs **Rania, Khadija**. Pour leurs encouragements et pour leur soutien moral et physique.*

*À ma petite princesse **Yahia***

*À mon chère et belle binôme **Khadija***

*A tous ceux qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire. Pour tout leur amour, leur soutien, leur encouragement, leur assistance et leur présence dans ma vie.*

*A toutes mes chères amies : **Asma, Sara, Hanane, Maroua,***

***Feriel, Amani, Wissem, Nada, Malak***

*Merci de votre présence, soutien et de m'avoir encouragée à aller plus loin.*

*À toute ma famille.*

***Manal***



# *Dédicaces*

*Avant tout je tiens à remercier **Allah** le tout puissant pour m'avoir donnée la force, la volonté, la santé et la patience pour mener à terme ce modeste travail*

*que je dédie :*

*A mes chère parents mon père **Ali**, et ma mère **Lelia** qui m'ont encouragé pour que je réussisse dans mes études, pour leur sacrifice, soutien, et leur patience.*

*A mes chères frères Adel, Ala, Mouhamed amine et mes belles sœurs **Soumia** , **Samih** , **Ghania** , **Meryem**, **Amira** , Pour leurs encouragements et pour leur soutien moral et physique.*

*A mes petite princesses **AYA**, **Iline**, **Amanie**.*

*A mes petite princes **Zayad**, **Abde lhak***

*A mes ma binôme **Manal Boughoues** , et mes tout amies précieuses amies qui m'ont toujours ouvert les portes de l'espoir: **Feryal**, **Amina**, **Amira**, **Romaissa** **Wissam nada***

***Khadija***

## Résumé

La thérapie anti-vasculaire anticancéreuse se décline en deux approches distinctes : la thérapie anti-angiogénique, qui vise à empêcher la formation de nouveaux vaisseaux sanguins, et la perturbation vasculaire, dont l'objectif est de détruire le réseau vasculaire déjà établi au sein des tumeurs. Cette étude examine, à la fois *in ovo* et *ex ovo*, l'effet anti-vasculaire du jus bruts de l'ail (*Allium sativum*), du piment rouge (*Capsicum annuum*) et de l'oignon (*Allium cepa*) sur la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM). Au cours du 3ème et 4ème jours d'incubation (ED3 et ED4), des cultures *in ovo* et *ex ovo* ont été préparées puis réincubées. Au jour E8, les jus de l'ail, de l'oignon et la décoction du piment rouge ont été obtenus extemporanément ainsi que leurs dilutions correspondantes ( $10^0$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-10}$ ). Toutes ces préparations ont été appliquées directement sur les CAMs des embryons. Une solution d'eau physiologique a été employée comme témoin négatif alors que la Dexaméthasone constitue le témoin positif. Des images ont été prises et le temps d'apparition de toutes modifications a été noté.

Les données recueillies suggèrent que le piment rouge et l'oignon ont une interaction modérée et tardive avec les vaisseaux sanguins, exerçant respectivement une action anti-angiogénique et perturbatrice. Toutefois, les observations indiquent que l'extrait brut de l'ail a une action précoce, puissante, reproductible et dépendante de la dose et du temps. Par conséquent, nous observons des événements hémorragiques, des coagulations (thromboses), une hyperémie et une vasodilatation. De plus, nous avons constaté une interruption du flux sanguin et l'apparition de vaisseaux fantômes. En outre, il semble que ces produits ne soient pas toxiques pour les embryons. L'extrait brut d'ail produit un effet irritant significatif sur les vaisseaux sanguins CAM. À la suite de cette investigation, des recherches plus approfondies sont nécessaires avant de recommander l'utilisation de ces trois plantes dans une thérapie anticancéreuse ciblant la vascularisation tumorale.

**Mots-clés** : Thérapie Anti-Vasculaire (AVT), Angiogenèse, Cancer, Thérapie de perturbation vasculaire (VDT), Thérapie Anti-Angiogénique, Membrane Chorioallantoïdienne (CAM), ail (*Allium sativum*), piment rouge (*Capsicum annuum*), décoction, oignon (*Allium cepa*), jus.

## المخلص

يعتمد العلاج المضاد للأوعية الدموية السرطانية على نهجين متميزين : تثبيط تكوين الأوعية الدموية ، والذي يهدف إلى منع تكوين أوعية دموية جديدة ، وتعطيل الأوعية الدموية ، والذي يهدف إلى تدمير شبكة الأوعية الدموية القائمة بالفعل داخل الأورام. تهدف الدراسة الحالية إلى استكشاف التأثير المضاد للأوعية الدموية للمستخلصات الخام من الثوم ( *Allium sativum* ) والفلفل الأحمر ( *Capsicum annuum* ) والبصل ( *Allium cepa* )، وذلك عبر تطبيقها على الأوعية الدموية للغشاء المشيمي السقائي (CAM). خلال اليومين الثالث والرابع من الحضانة ( ED3 و ED4 )، تم تحضير مزارع داخل وخارج البيض ثم تمت إعادتها للحضانة. ففي اليوم الثامن (ED8)، يتم تحضير عصائر الثوم والبصل ومغلي الفلفل الأحمر طازجة مباشرة قبل اختبارها وكذلك المحاليل المخففة ( $10^0$ ،  $10^{-2}$ ،  $10^{-4}$ ،  $10^{-6}$ ،  $10^{-8}$ ،  $10^{-10}$ ). تم تطبيق جميع هذه المستحضرات مباشرة على الغشاء المشيمي السقائي (CAM). كما تم استخدام محلول الماء الفسيولوجي كشاهد سلبي ودواء الديكساميثازون كشاهد إيجابي. وبعدها تم التقاط الصور وتدوين وقت ظهور جميع الأعراض.

بناءً على البيانات التي تم جمعها، يبدو أن الفلفل الأحمر والبصل يتفاعلان مع الأوعية الدموية بشكل متساوٍ وتوسط وتأخر، حيث يظهران تأثيرات مضادة لتكوين الأوعية الدموية وتأثيرات مدمرة على التوالي. في حين أن، الملاحظات تشير إلى أن مستخلص الثوم الخام له تأثير قوي ومبكر وقابل للتكرار، كما تتزايد شدته طردياً مع الجرعة. ونتيجة لذلك، نلاحظ حدوث نزيف، وتجلطات (خثرات)، واحمرار مع توسع الأوعية. بالإضافة إلى ذلك، لوحظ انقطاع تدفق الدم وظهور آثار أو بقية أوعية. علاوة على ذلك، لا تبدو هذه المنتجات سامة للأجنة. ختاماً، من المعقول الاعتقاد بأن مستخلص الثوم الخام ينتج تأثيراً مهيئاً كبيراً على أوعية الغشاء المشيمي السقائي. وبناءً على ماسبق، هناك حاجة لمزيد من البحث قبل التوصية باستخدام هذه النباتات الثلاثة في علاج السرطان الذي يستهدف الأوعية الدموية للأورام.

**الكلمات المفتاحية:** العلاج المضاد للأوعية الدموية السرطانية، تثبيط تكوين الأوعية الدموية ، تعطيل الأوعية الدموية الثوم ( *Allium sativum* ) ، الفلفل الأحمر ( *Capsicum annuum* ) ، البصل ( *Allium cepa* ) ، الغشاء المشيمي السقائي (CAM) ، السرطان ، تخليق الأوعية الدموية.

*Abstract*

Anti-vascular cancer therapy is divided into two distinct approaches: anti-angiogenic therapy, which aims to prevent the formation of new blood vessels, and vascular disruption, which aims to destroy the already established vascular network within tumors. This study examines, both *in ovo* and *ex ovo*, the anti-vascular effect of garlic raw juice (*Allium sativum*), red pepper decoction (*Capsicum annuum*), and onion raw juice (*Allium cepa*) on the vascularization of the chorioallantoic membrane (CAM). During the 3rd and 4th days of incubation (ED3 and ED4), *in ovo* and *ex ovo* cultures were prepared and then re-incubated. On day E8, the juices of garlic, onion, and the red pepper decoction were freshly prepared along with their corresponding dilutions ( $10^0$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-10}$ ). All these preparations were directly applied to the CAMs of the embryos. A physiological water solution was used as a negative control, while Dexamethasone served as the positive control. Images were taken, and the time of appearance of any modifications was noted.

The collected data suggest that red pepper and onion have a moderate and late interaction with blood vessels, exerting anti-angiogenic and disruptive actions, respectively. However, observations indicate that garlic raw extract has an early, powerful, reproducible, dose- and time-dependent action. Consequently, we observe hemorrhagic events, coagulations (thromboses), hyperemia, and vasodilation. Additionally, we noted an interruption of blood flow and the appearance of ghost vessels. Furthermore, these products do not appear to be toxic to the embryos. Garlic raw extract produces a significant irritating effect on CAM blood vessels. Following this investigation, further research is necessary before recommending the use of these three plants in cancer therapy targeting tumor vascularization.

**Keywords:** Anti-Vascular Therapy (AVT), Angiogenesis, Cancer, Vascular Disruption Therapy (VDT), Anti-Angiogenic Therapy, Chorioallantoic Membrane (CAM), garlic (*Allium sativum*), red pepper (*Capsicum annuum*), decoction, onion (*Allium cepa*), juice.



Table des matières

Résumé	
المخلص	
Abstract	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction .....	1
<i>Chapitre I. Système vasculaire et progression tumorale</i>	
I.1. Généralités sur le système vasculaire.....	6
I.1.1. Structure des vaisseaux sanguins .....	7
I.1.1.1. Les artères .....	7
I.1.1.2. Les veines.....	7
I.1.1.3. Les capillaires .....	7
I.1.2. Système lymphatique : .....	8
I.2. La formation du système vasculaire.....	9
I.2.1. Vasculogenèse embryonnaire et adultes .....	9
I.2.2. L'angiogenèse .....	11
I.2.2.1. La cellule endothéliale .....	11
I.2.2.2. L'endothélium.....	11
I.2.2.3. Les mécanismes de l'angiogenèse .....	12
I.2.3. Les principaux acteurs impliqués dans la formation de nouveaux vaisseaux .....	17
I.2.3.1. L'hypoxie et le système HIF .....	17
I.2.3.2. Activateur de l'angiogenèse.....	18
I.2.3.3. Les inhibiteurs.....	21
I.2.4. Angiogenèse tumoral .....	22
I.2.5. Le rôle de l'angiogenèse dans la progression tumoral et le métastase .....	24
I.2.6. Les caractéristiques des vaisseaux tumoraux .....	25
I.2.7. Interaction tumeurs microenvironnement .....	26
I.2.8. Thérapie anti angiogénique.....	27
I.2.8.1. Inhibiteurs de la signalisation VEGF/VEGFR (Bevacizumab).....	27

I.2.8.2. Inhibiteurs de Tyrosine Kinase (Sorafenib) .....28

***Chapitre II. L'expérimentation sur la membrane chorioallantoïdienne(CAM Assay)***

II.1. Historique de l'expérimentation sur la membrane chorioallantoïdienne (CAM) .....31  
 II.2. Structure et composition de l'œuf.....31  
 II.3. Structure et développement de la CAM.....34  
 II.4. Développement .....35  
 II.5. Les fonctions biologiques .....36  
 II.6. Les applications du test CAM.....37  
 II.7. Les avantages et les inconvénients de l'expérimentation sur la CAM .....37

***Chapitre III. Phytothérapie et activité anti-vasculaire des produits dérivés de plantes***

III.1. Historique .....41  
 III.2. Définition .....41  
 III.3. Les plantes et leurs dérivés pour prévenir et traiter les cancers .....41  
 III.4. Activités anti-vasculaire des composés d'origine végétale.....42  
 III.5. Description des plantes étudiées.....42  
     III.5.1. Ail.....42  
         III.5.1.1. Description .....42  
         III.5.1.2. Compositions chimiques .....43  
         III.5.1.3. Classification .....44  
         III.5.1.4. Activités biologiques et pharmacologiques .....44  
     III.5.2. Oignon .....45  
         III.5.2.1. Description .....45  
         III.5.2.2. Composition chimique.....45  
         III.5.2.3. Classification .....45  
         III.5.2.4. Les propriétés pharmacologiques .....46  
     III.5.3. Piment rouge piquant (*Capsicum annuum*) .....46  
         III.5.3.1. Description .....46  
         III.5.3.2. Composition chimique.....46  
         III.5.3.3. Classification .....47  
         III.5.3.4. Les propriétés pharmacologiques .....47

***Études Expérimentales***

***Chapitre IV. Matériel et méthodes***

IV.1. Matériel et Méthodes.....51

IV.1.1. Test in ovo.....	51
IV.1.1.1. Collecte des œufs et incubation.....	51
IV.1.1.2. Préparation des membranes chorioallantoïdiennes .....	52
IV.1.2. Test ex ovo .....	53
IV.1.3. Préparation des substances testées .....	55
IV.1.3.1. Préparation de la Dexasone® 4mg/ml.....	55
IV.1.4. Origine du Matériel biologique (Végétal).....	56
IV.1.4.1. Préparation du jus brut de l’ail ( <i>Allium sativum</i> ) .....	56
IV.1.4.2. Préparation du jus brut de l’oignon ( <i>Allium cepa</i> ) .....	56
IV.1.4.3. Préparation de l’extrait brut du piment rouge ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	57
IV.1.5. Déroulement du test CAM ( <i>in ovo</i> ).....	57
IV.1.6. Déroulement du test CAM ( <i>ex ovo</i> ) .....	58
<b><i>Chapitre V. Résultats et discussion</i></b>	
V.1. Résultats et discussions .....	61
Conclusion.....	74
Références bibliographiques .....	77
Annexes	

*Liste des abréviations*

<b>CE :</b>	cellule endothéliale
<b>PECs:</b>	cellule endothéliale progénitrice
<b>VEGF :</b>	Vascular Endothelial growth factor
<b>eNO:</b>	l'oxyde nitrique endothelial
<b>PGI<sub>2</sub> :</b>	prostacycline I <sub>2</sub>
<b>EDHF:</b>	facteur hyperpolarisant endothélial
<b>PDGF:</b>	Facteur de croissance dérivé des plaquettes
<b>PDGF-B:</b>	Facteur de croissance dérivé des plaquettes
<b>PDGFR :</b>	Rceptor Facteur de croissance dérivé des plaquettes
<b>FGF :</b>	Fibroblast growth factor
<b>MMP :</b>	Métalloprotéinases matricielles
<b>Ang :</b>	Angiopoietin
<b>Tie :</b>	Tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor homology
<b>HIF :</b>	Hypoxia iductible factor
<b>HIF-1<math>\beta</math>:</b>	Hypoxia iductible factor1 $\beta$
<b>HIF-1<math>\alpha</math>:</b>	Hypoxia iductible factor1 $\alpha$
<b>ADN:</b>	Acide désoxy ribonucléique
<b>VEGFR :</b>	Vascular Endothelial growth factor receptor
<b>VEGFR -1:</b>	Vascular Endothelial growth factor receptor -1
<b>VEGFR -2:</b>	Vascular Endothelial growth factor receptor -2
<b>VEGFR -3:</b>	Vascular Endothelial growth factor receptor -3
<b>PlGF :</b>	Placental growth factor
<b>FLT-3:</b>	Fms_related tyrosine kinase-3
<b>FGFR:</b>	Fibroblast growth factor receptor
<b>b-fGF:</b>	Basic Fibroblast growth factor

<b>TGF- <math>\beta</math> :</b>	Transforming growth factor
<b>HGF:</b>	Hepatocyte growth factor
<b>ATP:</b>	Adenosine triphosphate
<b>PF-4 :</b>	facteur plaquettaire-4
<b>EGF:</b>	Epidermal growth factor
<b>TEM :</b>	Transition épithélio-mésenchymateuse
<b>TNF-<math>\alpha</math>:</b>	tumor necrosis factor- $\alpha$
<b>c-KIT:</b>	Stem cell growth factor recepto
<b>RAF:</b>	Rapidly Accelerated Fibrosarcoma
<b>RET:</b>	receptor tyrosine kinase
<b>RCC :</b>	carcinome rénal avancé
<b>GIST :</b>	tumeurs stromales gastro-intestinales
<b>CSF-1R:</b>	récepteur du facteur 1 de stimulation des colonies
<b>CAM :</b>	membrane chorioallantoïdienne
<b>MV:</b>	membrane vitelline
<b>ECM:</b>	matrice extracellulaire
<b>CO<sub>2</sub> :</b>	Carbon dioxide
<b>IRM/ PET:</b>	émission de positrons
<b>VDT :</b>	thérapie de dévascularisation tumorale
<b>HUVECs :</b>	Human Umbilical Vein Endothelial Cells

*Liste des tableaux*

<b>Tableau 01</b> : Tableau récapitulatif des caractéristiques et rôle du vaisseau sanguin .....	7
<b>Tableau 02</b> :Classification de l'ail commun .....	44
<b>Tableau 03</b> : Classification de L'oignon .....	45
<b>Tableau 04</b> :Classification du piment .....	47

*Liste des figures*

<b>Figure 01</b> : Organisation schématique du système vasculaire .....	6
<b>Figure 02</b> :Structure des vaisseaux sanguins. A (Cleaver & coll, 2003), B .....	8
<b>Figure 03</b> :vaisseau lymphatique mature.....	9
<b>Figure 04</b> :Progéniteurs vasculaires chez l'embryon et l'adulte .....	10
<b>Figure 05</b> :Les trois types d'endothélium : continu, fenêtré et discontinu. La largeur des flèches vertes indique schématiquement le flux de solutés et de molécules .....	12
<b>Figure 06</b> :Angiogenèse par bourgeonnement : sélection des cellules de front (Adams & Alitalo, 2007). .....	13
<b>Figure 07</b> :Croissance et guidage des cellules.....	14
<b>Figure 08</b> :Organisation des cellules endothéliales au cours de l'angiogenèse (Gerhardt et al, 2003).....	14
<b>Figure 09</b> :Fusion de bourgeons et formation d'une lumière .....	15
<b>Figure 10</b> :Perfusion et maturation.....	16
<b>Figure 11</b> :Angiogenèse par intussusception coupe transversale d'un vaisseau .....	17
<b>Figure 12</b> :La régulation de HIF-1 $\alpha$ dans les conditions d'hypoxie et de normoxie .....	18
<b>Figure 13</b> :Récepteurs des VEGFs et fonctions biologiques associées.....	19
<b>Figure 14</b> :Implication du FGF-2 dans les différentes phases de l'angiogenèse.....	20
<b>Figure 15</b> :Structure et fonction biologique de HGF .....	21
<b>Figure 16</b> :Représentation schématique des effets de la thrombospondine sur les cellules endothéliales.....	21
<b>Figure 17</b> :Switch angiogénique.....	23
<b>Figure 18</b> :L'angiogenèse tumorale et le rôle des différents facteurs au cours du processus .....	24
<b>Figure 19</b> :Les étapes du processus métastatique.....	25
<b>Figure 20</b> :Comparaison de l'aspect de vaisseaux sanguins normaux et tumoraux.....	26
<b>Figure 21</b> :Interactions entre la tumeur et son environnement.....	27
<b>Figure 22</b> :Les inhibiteurs du VEGF ou de ces récepteurs.....	29
<b>Figure 23</b> :Schéma de la structure de l'œuf .....	32
<b>Figure 24</b> :Structure de la coquille de l'œuf.....	33
<b>Figure 25</b> :L'embryon de poulet et sa membrane chorioallantoïdienne. (A) Schéma de la structure générale d'un embryon de poulet âgé de 5 jours dans l'œuf avec les trois couches tissulaires de la CAM. (B) Coupe semi-fine de la CAM d'un embryon de poulet de 12 jours	

montrant l'épithélium chorionique (ch), le mésoderme vascularisé (m) et l'épithélium allantoïdien (al). (C) Embryon de poulet de 5 jours photographié <i>in ovo</i> .....	35
<b>Figure 26</b> : Développement de la membrane chorioallantoïque (CAM) à différents stades : (A) couverture initiale ED 5, (B) couverture partielle ED 8(C), ED 12, (D)ED 18 couverture complet de l'embryon de poulet. ....	36
<b>Figure 27</b> :Présentation de l'Ail.....	43
<b>Figure 28</b> : Désinfection des œufs.....	51
<b>Figure 29</b> :Marquage des œufs.....	51
<b>Figure 30</b> :Incubation des œufs.....	52
<b>Figure 31</b> :Mirage pour vérifier la fécondité des œufs.....	52
<b>Figure 32</b> : Détermination de la chambre à air.....	53
<b>Figure 33</b> : Prélèvement de l'Albumen .....	53
<b>Figure 34</b> :réincubation des oufes <i>in ovo</i> .....	53
<b>Figure 35</b> :recouvrir les œufs .....	53
<b>Figure 36</b> : Préparation d'un système de culture d'embryon de poulet <i>ex ovo</i> .....	54
<b>Figure 37</b> :dexaméthasone.....	55
<b>Figure 38</b> :préparation de Dexasone 4mg/ml.....	55
<b>Figure 39</b> :Préparation du jus de l'ail ( <i>Allium sativum</i> ) .....	56
<b>Figure 40</b> :préparation du jus de l'oignon ( <i>Allium cepa</i> ) .....	56
<b>Figure 41</b> :préparation de la décoction du piment rouge piquant ( <i>Capsicum annuum</i> ) .....	57
<b>Figure 42</b> :Application de 5µl des solutions préparées sur la CAM. ....	57
<b>Figure 43</b> :application de l'extrait brut de l'ail ( <i>Allium sativum</i> ).....	58
<b>Figure 44</b> :application de l'extrait brut de L'ongio ( <i>Allium cepa</i> ).....	59
<b>Figure 45</b> :application de l'extrait brut de piment rouge ( <i>Capsicum annuum</i> ).....	59
<b>Figure 46</b> : Vaisseaux du sac vitellin sous stéréomicroscope à 20X.....	61
<b>Figure 47</b> : Vaisseaux sanguins de la CAM sous stéréomicroscope 40X.....	61
<b>Figure 48</b> : CAM Témoin à J8, culture <i>ex ovo</i> . Photo améliorée.....	62
<b>Figure 49</b> : CAM Témoin à J14, <i>in ovo</i> .....	62
<b>Figure 50</b> : Observation des vaisseaux primaires, secondaires et tertiaires sous stéréomicroscope 20X. ....	63
<b>Figure 51</b> : Vascularisation normale de la CAM .....	63
<b>Figure 52</b> : Dexamethasone à J12f (effet antiangiogénique) .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<b>Figure 53</b> : Aspect d'un embryon témoin, <i>ex ovo</i> , à J8, et ses annexes extra-embryonnaires : CAM, amnios et sac vitellin .....	65



<b>Figure 54</b> :Effets du jus brut de l’ail et ses dilutions sur la CAM, <i>ex ovo</i> , à J8.....	65
<b>Figure 55</b> :Effets du jus brut de l’ail sur la CAM appliqué, <i>in ovo</i> , à J8. ....	65
<b>Figure 56</b> :Effet de l’extrait brut de l’ail sur la CAM appliqué, <i>in ovo</i> , à J8, observation sous stéréomicroscope 20X (à gauche) et 40X (à droite).....	66
<b>Figure 57</b> :Témoin à J 8 .....	67
<b>Figure 58</b> :Action anti-vasculaire, perturbatrice des vaisseaux par le jus brut de l’oignon .....	68
<b>Figure 59</b> :Sites d’application <i>in ovo</i> et <i>ex ovo</i> .....	69
<b>Figure 60</b> :(A) Action de la décoction du piment rouge ( <i>C. annuum</i> ) sur le réseau vasculaire et le chorion e la CAM à J12, (B) Action de la décoction du piment rouge ( <i>C. annuum</i> ) sur le réseau vasculaire et le chorion e la CAM à J12, CAM traité par le piment à J12 stéréomicroscope 20X, (C)CAM témoin à J8 sétréomicroscope 20X, (D)CAM traité par le piment rouge à J12 sétréomicroscope 160X .....	70
<b>Figure 61</b> : Embryon mort <i>ex ovo</i> .....	71
<b>Figure 62</b> : Embryon mort <i>in ovo</i> .....	71
<b>Figure 63</b> : Embryon (CAM) infecté.....	72

# *Introduction*

## **Introduction**

Le cancer est reconnu comme la deuxième cause principale de morbidité et de mortalité à l'échelle mondiale (Organisation Mondiale de la Santé[OMS], 2020). En 2020, cette maladie a été diagnostiquée chez 19,3 millions d'individus, entraînant une mortalité estimée à 10 millions de cas (OMS, 2022). Les projections indiquent une augmentation de 47% du nombre de nouveaux cas, atteignant 28,4 millions en 2040 (Centre international de recherche sur le cancer [CIRC], 2020). En Algérie, avec une population estimée à 43 851 043 d'habitants, on a enregistré 58 418 nouveaux cas de cancer. Pour l'année 2020 uniquement, le nombre de décès attribuables à tous types de cancers a été évalué à 32 802 (CIRC, 2021).

En effet, diverses approches sont utilisées pour le traitement du cancer, y compris la chirurgie, la radiothérapie, la chimiothérapie et l'immunothérapie (Institut National du Cancer, 2019). Chaque méthode possède ses propres inconvénients et ses limites, nécessitant une amélioration des stratégies thérapeutiques.

En 1971, Judah Folkman a révolutionné la compréhension du cancer en liant la croissance tumorale à l'angiogenèse, le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins. Contrairement à l'idée précédente que la prolifération cellulaire excessive était la seule cause des tumeurs, Folkman a démontré que la croissance d'une tumeur solide nécessite un réseau vasculaire adéquat pour soutenir les cellules cancéreuses (Folkman, 1971a). Ce réseau peut se développer en détournant des vaisseaux existants ou en formant de nouveaux vaisseaux tumoraux. Cette découverte a fait de l'angiogenèse une cible prometteuse pour le traitement du cancer (Figg & Folkman, 2008). Folkman a proposé que la destruction des vaisseaux qui alimentent la tumeur pourrait stabiliser la tumeur et potentiellement arrêter la croissance des cellules cancéreuses (Folkman, 1971b). Ainsi, l'inhibition de la néoangiogenèse dans les processus cancéreux et métastatiques est devenue un domaine de recherche clé en oncologie (Bikfalvi, 2017 ; Ribatti, 2014).

Les thérapies anti-vasculaires sont des traitements anticancéreux qui ciblent l'arbre vasculaire, privant ainsi les cellules tumorales d'oxygène et de nutriments. Ces thérapies se divisent en deux catégories principales : la thérapie anti-angiogénique, qui cible la néovascularisation à partir de vaisseaux préexistants, et la thérapie de perturbation vasculaire qui détruit le système circulatoire mature (Lopes-Coelho et al., 2021).

La première approche repose sur deux principes distincts. D'une part, il est possible de cibler les médiateurs moléculaires qui gouvernent le processus angiogénique, avec le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) comme chef de file. Ceci a conduit à la mise sur le marché du premier médicament antiangiogénique, l'Avastin® et ses biosimilaires. D'autre part, le Sorafenib et ses homologues bloquent l'angiogénèse tumorale par inhibition des récepteurs tyrosine kinase du VEGFR1, VEGFR2 et VEGFR3 (Wilhelm et al., 2006).

La thérapie de perturbation vasculaire (Vascular Disrupting Therapy, VDT), qui représente le deuxième volet de la thérapie anti-vasculaire, fait appel soit à de petites molécules, soit à des agents biologiques. Les VDT à petites molécules sont des médicaments qui perturbent le cytosquelette ou les mitochondries des cellules endothéliales, provoquant leur détachement de la membrane basale ou leur apoptose. Ils incluent les médicaments qui déstabilisent les microtubules, comme le phosphate de disodium de combretastatine A-4, ZD6126, AVE8062 et Oxi 4503, ainsi que le flavonoïde, DMXAA (Thorpe, 2004). Les VDT biologiques (*ligand-based*) sont des agents qui se lient sélectivement aux marqueurs endothéliaux tumoraux et induisent des dommages vasculaires par divers mécanismes, tels que la cytotoxicité médiée par le système immunitaire ou l'administration de toxines. Basés sur des ligands, qui utilisent un ligand ciblé pour délivrer des toxines, des procoagulants ou des effecteurs pro-apoptotiques aux vaisseaux sanguins liés aux tumeurs (Hasani & Leighl, 2011).

La thérapie anti-angiogénique qui a suscité de larges espoirs, fait face à des limitations significatives qui impactent son utilité clinique. Le coût de ces thérapies est une préoccupation majeure, car elles sont souvent prohibitivement chères, limitant l'accès pour de nombreux patients (Oguntade et al., 2021). De plus, le profil de toxicité des agents anti-angiogéniques, qui comprend des complications cardiovasculaires, peut être un obstacle à leur utilisation à long terme (Van Nguyen et al., 2024). La résistance des tumeurs pose également un défi significatif ; malgré les réponses initiales, de nombreuses tumeurs développent finalement une résistance à ces thérapies, nécessitant l'exploration de traitements combinés ou de nouvelles stratégies thérapeutiques (Fischer & Alsina-Sanchis, 2024).

Plusieurs alternatives ont été suggérées pour surmonter les limitations de la thérapie anti-vasculaire. Parmi celles-ci, certains chercheurs se sont concentrés sur la réorientation des médicaments, c'est-à-dire, explorer le potentiel anti-angiogénique des médicaments déjà utilisés en clinique pour d'autres indications (Zarei & Ghasemi, 2024). Cependant, il est toujours

possible de se tourner vers la nature pour puiser dans la richesse de la flore nationale sous-exploitée.

Effectivement, parmi les quelques 250 000 espèces de plantes existantes, plus d'un millier ont été identifiées pour leurs propriétés anticancéreuses notables, comme l'oignon, l'ail (Mukherjee et al., 2001) et le piment rouge piquant (Ivan et al., 2024). Ces plantes présentent un potentiel considérable pour le développement de nouvelles thérapies anticancéreuses antiangiogéniques.

En effet, l'oignon, l'ail et le piment rouge, qui ont été utilisés comme conservateurs alimentaires, condiments et plantes médicinales pendant des siècles, sont reconnus pour leurs propriétés biologiques. Ces propriétés sont attribuées aux composés actifs présents dans les produits de leurs métabolites secondaires. Ces composés sont largement utilisés en thérapeutique comme agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, et surtout antioxydants (Bourgaud et al., 2001; Mondal et al., 2024). Ils ont été prescrits pour traiter diverses maladies, y compris le cancer, les troubles digestifs (gastriques et intestinaux), les problèmes du système urinaire, les maladies cardiovasculaires et les affections des voies respiratoires (Eddouks et al., 2007). Ces plantes continuent d'être une source précieuse de recherche pour le développement de nouvelles thérapies.

De nombreuses études suggèrent que l'efficacité de certaines plantes dans la lutte contre le cancer pourrait être en partie due à leurs propriétés anti-angiogéniques (Arul & Kothai, 2020; Majnooni et al., 2023; Nouroz et al., 2015). Cependant, il est important de souligner que parmi ces études, certaines n'ont pas utilisé l'essai sur les vaisseaux de la membrane chorioallantoïdienne du poulet (CAM Assay) comme méthode d'expérimentation. De plus, c'est la première fois que l'on envisage d'utiliser ces plantes dans ce modèle expérimental en tant qu'agents de perturbation vasculaire (VDA). Cette nouvelle approche pourrait ouvrir de nouvelles voies dans la recherche sur le traitement du cancer.

Dans cette étude, nous proposons d'explorer le potentiel anti-vasculaire (anti-angiogénique et perturbateur des vaisseaux) des plantes, à la fois *in ovo* et *ex ovo*, sur la membrane chorioallantoïdienne du poulet (CAM). Pour ce faire, nous avons sélectionné trois plantes : l'ail rouge (*Allium sativum*), le piment rouge piquant (*Capsicum annuum*) et l'oignon (*Allium cepa*).

Cette étude se décline en deux volets principaux :

1. Une synthèse bibliographique des connaissances actuelles dans le domaine de la biologie de l'angiogenèse, des thérapies antiangiogéniques, de la biologie de la membrane chorioallantoïdienne du poulet (CAM) et de ses applications, ainsi que de la phytothérapie.
2. Une exploration, *in ovo* et *ex ovo*, du potentiel antivasculaire du jus d'ail (*Allium sativum*), du suc d'oignon (*Allium cepa*) et de la décoction de piment rouge piquant (*Capsicum annuum*).

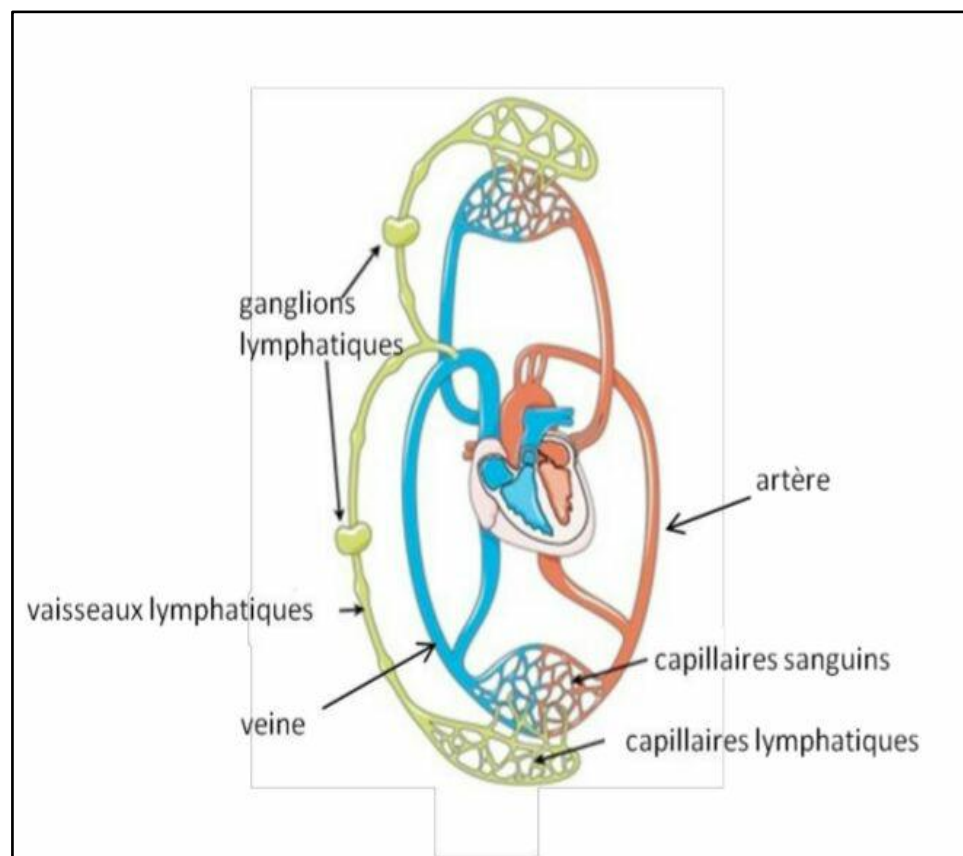
# *Chapitre I.*

## *Systeme vasculaire et progression tumorale*

## I.1. Généralités sur le système vasculaire

Le système vasculaire se forme par vasculogénèse (formation de vaisseaux de novo) et angiogénèse (formation de vaisseaux à partir de vaisseaux préexistants). En fait, le système cardiovasculaire est le premier système d'organes fonctionnel à se développer dans l'embryon des vertébrés et à fournir des nutriments et de l'oxygène à tous les tissus. Le développement vasculaire nécessite des processus tels que la formation de vaisseaux, le modelage, l'élagage, le remodelage et la maturation (Chae et al, 2004).

La complexité de l'organisation des vaisseaux au sein du système cardiovasculaire commence par la reconnaissance qu'il existe essentiellement deux composants dans le système circulatoire : le système cardiovasculaire et le système lymphatique (figure 01). Dans le sens le plus large, le système cardiovasculaire peut être considéré comme composé du cœur, des vaisseaux et du sang (et de tous les composants cellulaires dans le sang), tandis que le système circulatoire lymphatique est composé de microvaisseaux lymphatiques (capillaires) et de vaisseaux lymphatiques plus grands (Pugsley & Tabrizchi, 2000). Voir (figure 01).



**Figure 01** : Organisation schématique du système vasculaire (Castan, 2014).



### I.1.1. Structure des vaisseaux sanguins

Le réseau vasculaire sanguin est composé de trois types de vaisseaux sanguins : les artères, les veines et les capillaires (voir figure 2 et tableau 1).

#### I.1.1.1. Les artères

Les gros vaisseaux sanguins partent du cœur et se divisent en artérioles pour distribuer le sang aux organes et tissus. L'aorte et ses branches sont des artères élastiques qui supportent les variations de pression dues aux battements cardiaques. Les artères musculaires, moins extensibles, régulent le flux sanguin vers les organes. Les artérioles, de très petit diamètre, ajustent l'irrigation sanguine aux besoins des capillaires (Kadi, 2008).

#### I.1.1.2. Les veines

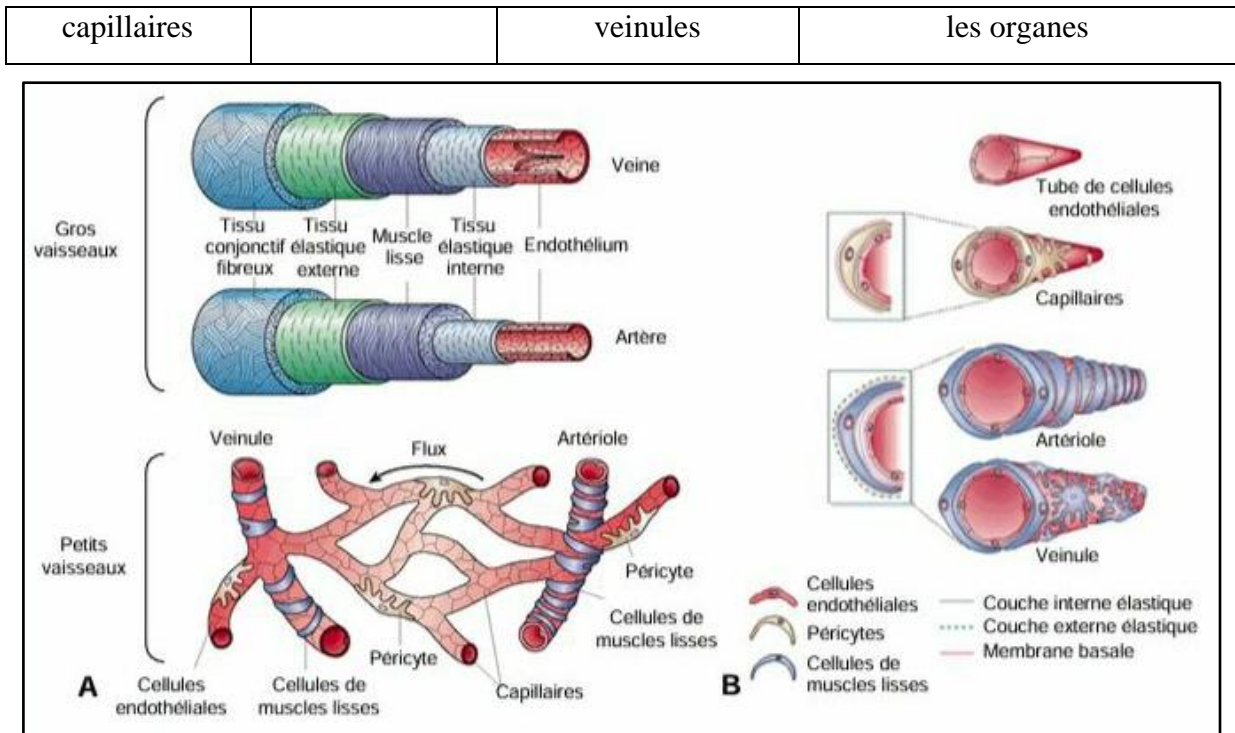
Les veines ont une paroi fine et extensible et contrairement aux artères, elles sont recouvertes par peu de cellules de muscle lisses. Les veines comportent également des valves constituées de tissu conjonctif et de cellules endothéliales qui orientent le flux sanguin et permettent le retour veineux des organes vers le cœur (Cleaver & Melton, 2003).

#### I.1.1.3. Les capillaires

Sont les plus petits vaisseaux sanguins et leurs parois, extrêmement minces, ne sont formées que de cellules endothéliales. Les capillaires n'ont donc qu'une tunique interne. Dans certains cas, une seule cellule endothéliale constitue l'entière circonférence de la paroi. Les capillaires mesurent en moyenne 1mm de longueur et leurs calibre moyen n'est que de 8 à 10  $\mu\text{m}$  (Marieb, 1999).

**Tableau 01 :**Tableau récapitulatif des caractéristiques et rôle du vaisseau sanguin (Khoukha & Djouher, 2015).

Nature du vaisseau	Pression sanguine	Sens de la circulation du sang	Rôle du vaisseau
Artère	Forte	Cœur vers organe	Transport du sang enrichi en dioxygène et en nutriment
Veine	Plutôt réduite	Organe vers coeur	Transport du sang chargé en dioxyde de carbone
Réseau de	Très faible	Relient artérioles et	Zone d'échange entre le sang et

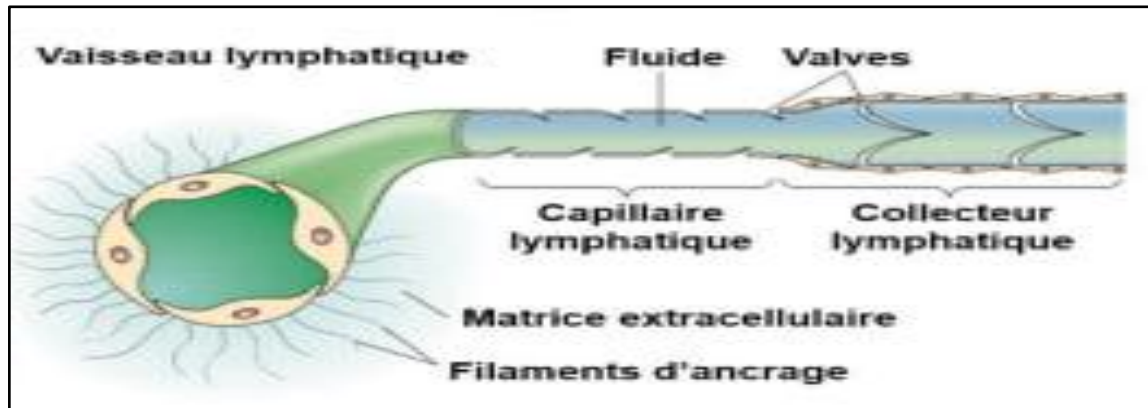


**Figure 02 :**Structure des vaisseaux sanguins. A (Cleaver & coll, 2003), B (Jain, 2003).

**I.1.2. Systèmelymphatique :**

Le système lymphatique est formé de vaisseaux qui drainent les liquides interstitiels dans tout l’organisme. La circulation de la lymphe dans les vaisseaux lymphatiques est unidirectionnelle : des tissus vers les ganglions lymphatiques puis les veines.est composé d’un réseau de capillaires fins non-fenestrés qui drainent la lymphe, liquide riche en protéines (Ndiaye & Pagès, 2019).

Le système lymphatique permet le retour du fluide extracellulaire et des protéines vers la circulation sanguine ainsi que la coordination de la réponse immunitaire (Ouafik & Martin, 2010). Il possède un mur vasculaire beaucoup plus perméable que celui du réseau sanguin, ce qui en fait une voie privilégiée pour la dissémination métastatique (Morfoisse et al, 2014) voire (figure 03)



**Figure 03** :vaisseau lymphatique mature (Jain, 2003).

## I.2. La formation du système vasculaire

Le fonctionnement normal d'un tissu dépend de l'apport en oxygène et en nutriments par les vaisseaux sanguins. La compréhension des mécanismes impliqués dans la formation du système vasculaire est donc devenue un objectif majeur au cours de ces dernières années. Pendant l'embryogenèse, la formation des vaisseaux se produit en deux étapes, la vasculogenèse et l'angiogenèse. La vasculogenèse correspond à l'apparition des vaisseaux primaires formant un réseau vasculaire immature. Puis ce réseau se ramifie et se stabilise lors de l'angiogenèse. À l'âge adulte, de nouveaux vaisseaux se développent également par ce processus angiogénique (Siliciano et al,2003).

### I.2.1. Vasculogenèse embryonnaire et adultes

Le développement du système circulatoire commence peu de temps après la gastrulation concomitante avec la formation des somites. Le processus de formation des vaisseaux à ce stade précoce du développement est appelé vasculogenèse, terme proposé par Risau et ses collègues en 1988 (Risau et al, 1988). La vasculogenèse est alors décrite comme étant le processus par lequel de nouveaux vaisseaux sanguins se forment par une différenciation à partir du mésoderme, de cellules souches (hémangioblaste et angioblaste) en CE (cellules endothéliales) matures qui conduit à la formation d'un réseau vasculaire primitif. Des études antérieures sur la vasculogenèse ont conclu que la formation de vaisseaux sanguins se produit à la fois en intra- et extra-embryonnaire. Le mésoderme embryonnaire, les sites extra-embryonnaires du sac vitellin, l'allantoïde et le placenta ont été identifiés comme les principales sources de cellules progénitrices qui participent à la vasculogenèse (Caprioli et al., 2001).

Le terme hémangioblaste a été donné à l'ensemble des cellules qui forment les îlots sanguins qui donnent finalement naissance à la fois aux CE et aux cellules hématopoïétiques. La

découverte des cellules progénitrices circulantes, les PECs, dans la moelle osseuse et le sang périphérique adulte a remis en question la théorie selon laquelle la vasculogénèse se limitait au stade embryonnaire (Asahara et al ,1997). L'équipe d'Asahara a en effet, démontré que de nouveaux vaisseaux sanguins pouvaient se former chez l'adulte, non seulement grâce à la germination des CE matures (angiogénèse) mais aussi par la différenciation des PECs, indépendamment du système vasculaire préexistant (vasculogénèse adulte).

Un nombre croissant d'études rapporte également la participation du processus de vasculogénèse à la vascularisation des tumeurs. Le recrutement de PECs dérivés de la moelle osseuse et leur intégration fonctionnelle dans les vaisseaux tumoraux ont été rapportés. La mobilisation des PECs est déclenchée par l'augmentation des niveaux circulatoires de plusieurs facteurs tels que le VEGF et le SDF-1 qui sont libérés par les tumeurs. Ces facteurs activent les PECs qui passent d'un état quiescent à un état pro-angiogénique afin de participer à la formation des vaisseaux tumoraux ( Janic & Arbab ,2010) voire (figure 4).

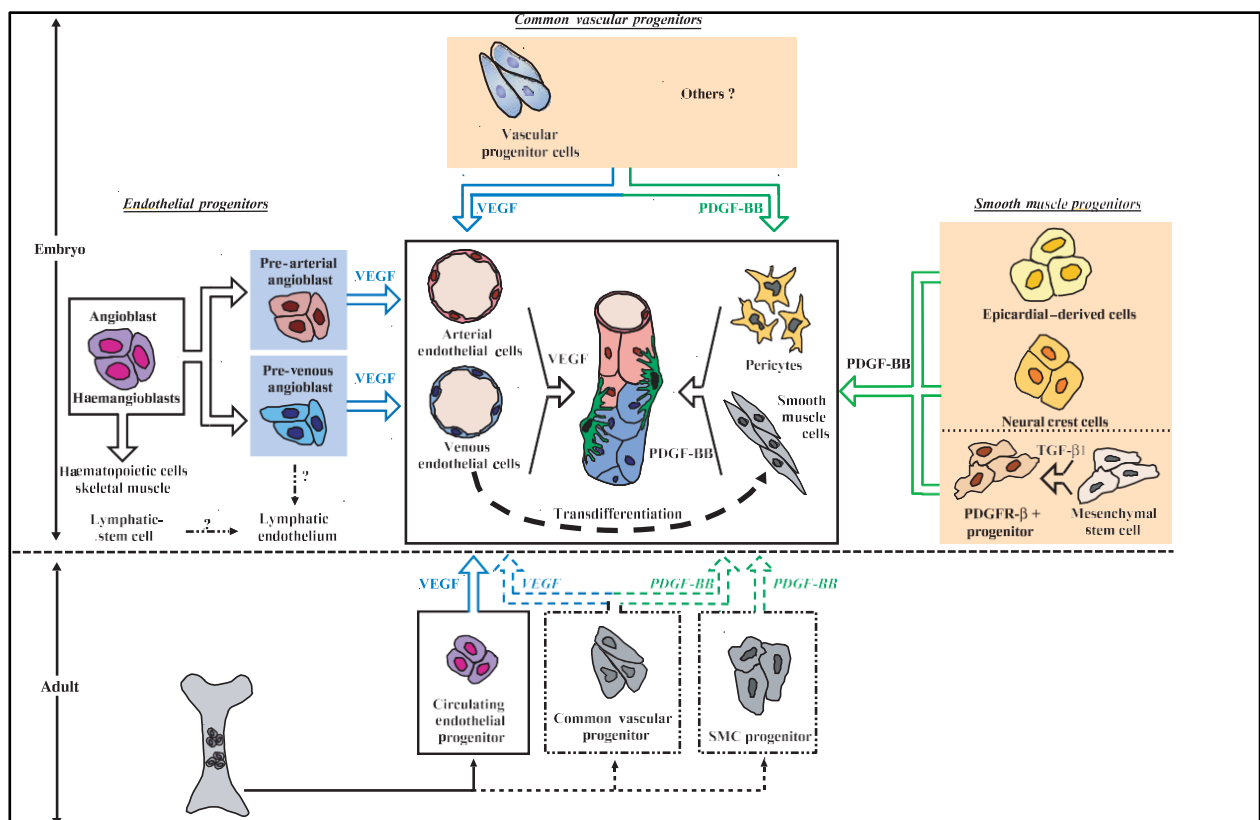


Figure 04 :Progénéiteurs vasculaires chez l'embryon et l'adulte (Carmeliet, 2004).

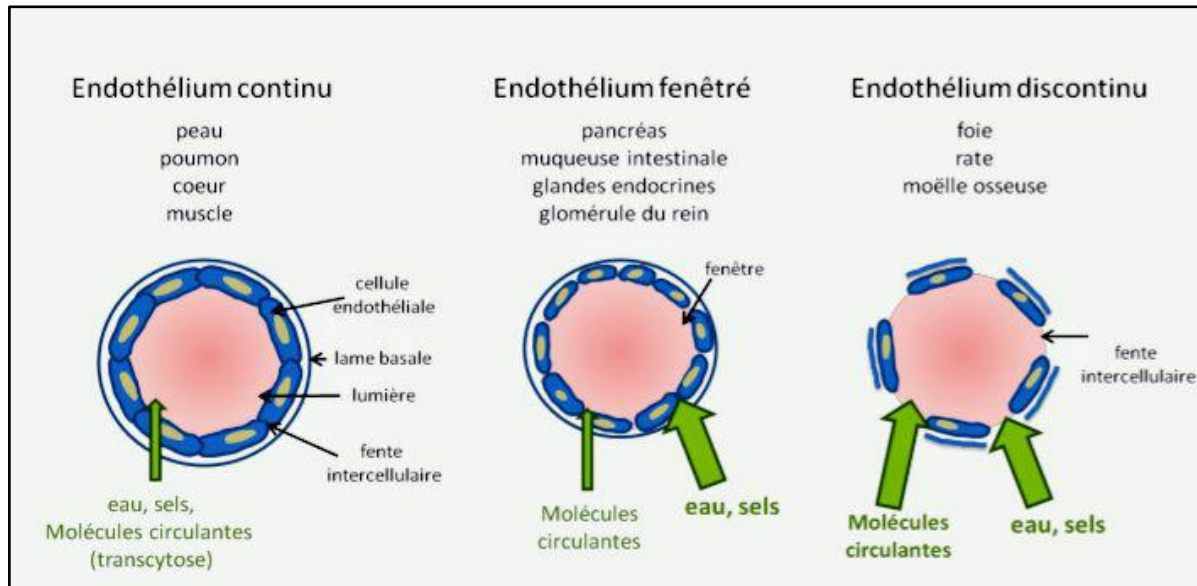
## **I.2.2. L'angiogenèse**

### **I.2.2.1. La cellule endothéliale**

Les cellules endothéliales (CE) sont des cellules hautement spécialisées formant la couche interne des vaisseaux sanguins et tapissant tout le système circulatoire lymphatiques et sanguins (Wang, 2018). Ces cellules constituent l'endothélium vasculaire, la paroi la plus interne des vaisseaux sanguins en contact direct avec le flux sanguin. Dans les vaisseaux sanguins, les cellules endothéliales sont aplaties, allongées dans le sens du flux sanguin, et constituent une monocouche jointive : l'endothélium (Aird, 2007). Elles sont en interaction avec les péricytes et la matrice basale, elles contrôlent finement l'infiltration des protéines plasmatiques et les échanges entre le compartiment sanguin et les tissus environnants reposent sur l'ouverture et la fermeture des jonctions cellule-cellule (Azzi & Gavard, 2014).

### **I.2.2.2. L'endothélium**

L'endothélium vasculaire est une fine couche cellulaire recouvrant l'intérieur de tous les vaisseaux sanguins à l'interface entre le sang et les tissus. On peut le considérer comme un organe ayant des propriétés autocrines, paracrines et endocrines (Lerman & Burnett, 1992). Il a un rôle dans l'équilibre de la pression, la rigidité et la perfusion artérielle. Il intervient également dans le maintien de l'équilibre entre les forces thrombotiques et fibrinolytiques. L'endothélium régule aussi localement les phénomènes inflammatoires et l'agrégation plaquettaire au niveau des vaisseaux (Esper et al, 2007). Les principaux médiateurs vasodilatateurs libérés par l'endothélium sont l'oxyde nitrique endothelial (eNO), la prostacycline I2 (PGI2) et le facteur hyperpolarisant endothélial (EDHF). On peut distinguer trois types différents d'endothélium en fonction du lit vasculaire, différant dans leur fenestration : continu, fenêtré et discontinu (ou sinusoidal) (Aird, 2007) voir (figure 05).



**Figure 05 :** Les trois types d'endothélium : continu, fenêtré et discontinu. La largeur des flèches vertes indique schématiquement le flux de solutés et de molécules (Aird, 2007).

### I.2.2.3. Les mécanismes de l'angiogenèse

L'angiogenèse est un phénomène par lequel les organismes multicellulaires vont recruter de nouveaux vaisseaux sanguins (néovaisseaux) à partir des vaisseaux préexistants pour leur permettre un apport en nutriment et surtout en oxygène et assurer leur croissance et/ou leur survie. Ce processus est régulé par une balance entre des molécules favorisant l'angiogenèse appelées pro-angiogéniques (VEGF, PDGF, FGF...) et des molécules la limitant appelées anti-angiogéniques (angiostatine, thrombospondine) (Méjean & Lebret, 2008).

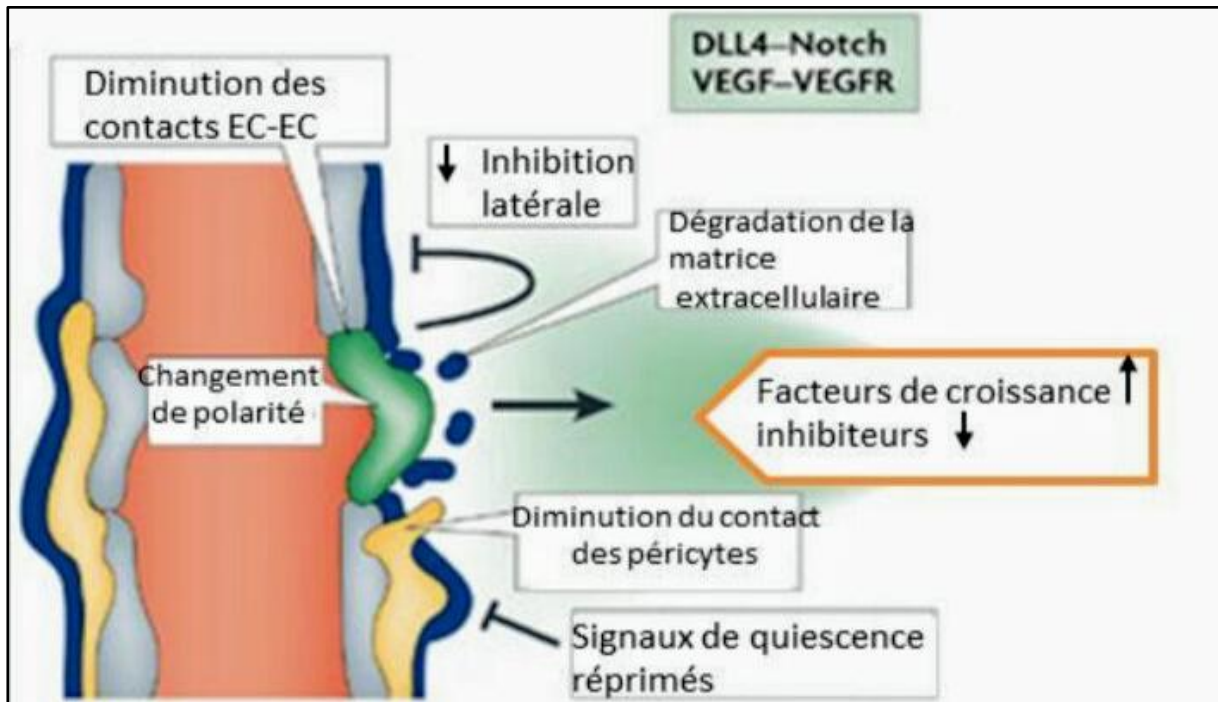
L'angiogenèse n'est normalement observée que dans des conditions ou au sein de mécanismes physiologiques strictement régulés comme la réparation tissulaire, le cycle menstruel, la grossesse ou pour répondre à des besoins particuliers en oxygène et en nutriments (Lemaire et al, 2020).

Trois mécanismes fondamentaux ont été identifiés pour l'angiogenèse : l'angiogenèse par bourgeonnement, l'intussusception et la co-optation. Les mécanismes moléculaires de ces différentes modes d'angiogenèse sont complexes, puisqu'ils mettent en jeu des signaux autocrines et paracrines (Lavielle, 2009).

#### 2.2.3.1. L'angiogenèse par bourgeonnement

- **Bourgeonnement des cellules endothéliales**

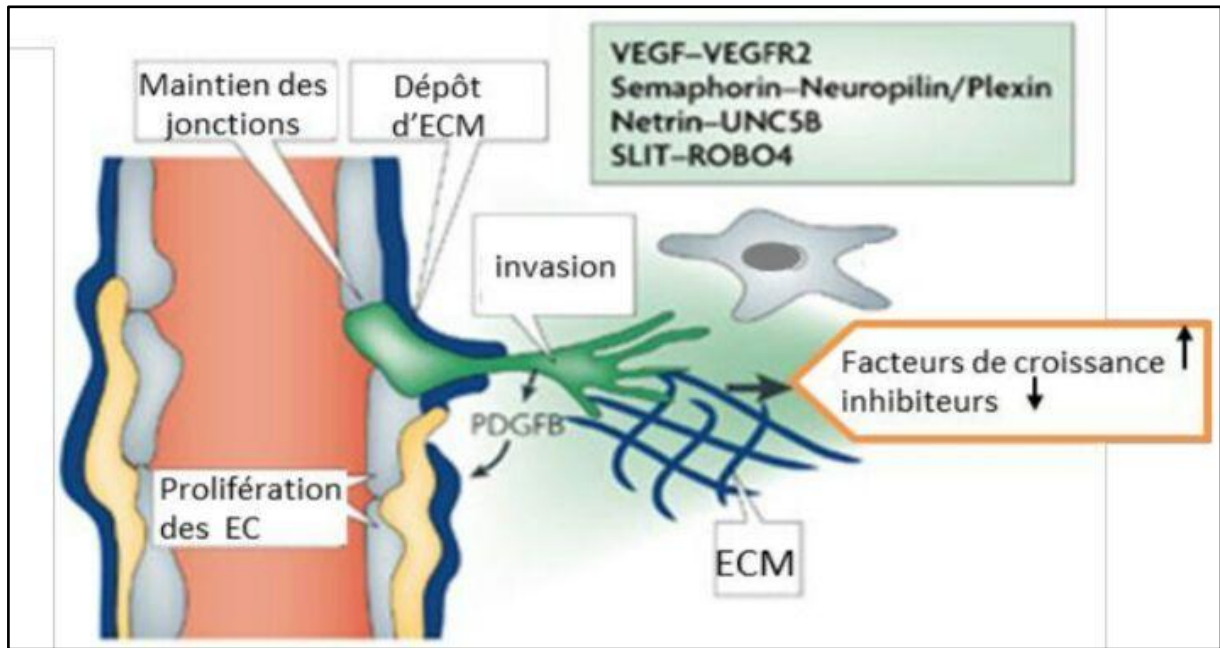
La première étape de l'angiogenèse correspond à l'activation et à la sélection de la cellule endothéliale de front (Treppe & Gavard, 2015). Cette cellule est connectée aux autres CE qui vont former le nouveau vaisseau. Le processus angiogénique est initié par la destruction locale de la membrane basale du vaisseau et la dissociation des péricytes qui augmente ainsi la perméabilité vasculaire. Cette étape est régulée par le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), le monoxyde d'azote (NO), les MMP (métalloprotéine) et le système Ang/Tie voire (figure 06), et favorise la migration de la cellule de front vers le stimulus angiogénique (Gerhardt et al, 2003).



**Figure 06 :** Angiogenèse par bourgeonnement : sélection des cellules de front (Adams & Alitalo, 2007).

#### □ Croissance et guidage des bourgeons

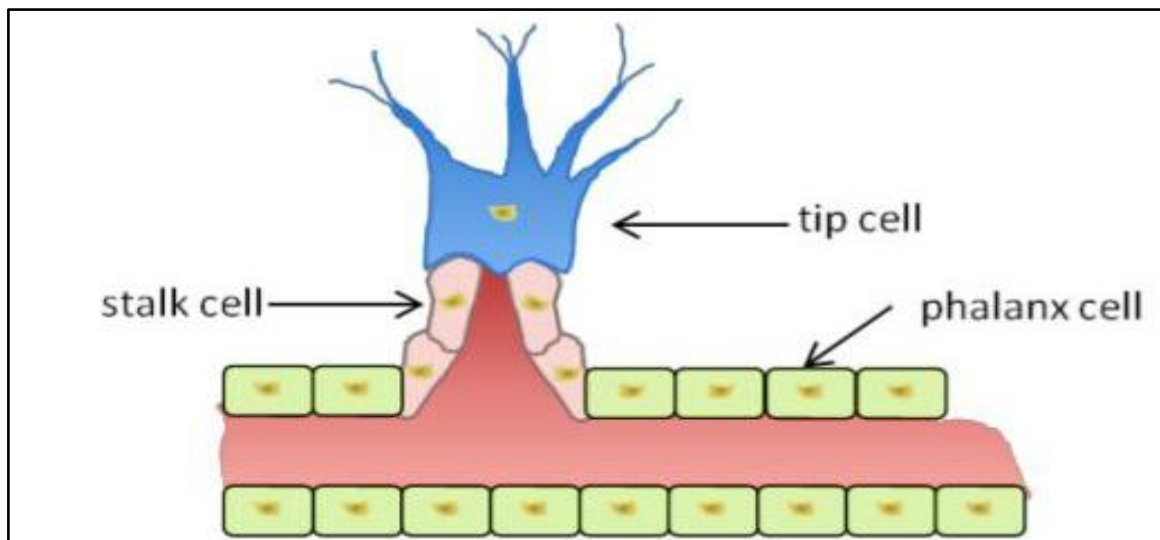
À la suite de l'activation et de sa sélection, la cellule de front bourgeonne à partir du vaisseau et acquiert de nombreuses protrusions membranaires de type filopodes qui sont hautement dynamiques (Treppe & Gavard, 2015). La dégradation de la matrice extracellulaire par les MMP permet aux CE de soutien de se détacher de la membrane basale, de migrer derrière la cellule endothéliale de front et d'envahir l'espace extravasculaire voire (figure 07). Cette dégradation permet également la libération de facteurs de croissance pro-angiogènes emprisonnés dans la matrice, grâce à quoi, les CE prolifèrent et migrent en tandem tout en s'organisant en structures tubulaires tridimensionnelles dotés d'une lumière (Gerhardt et al, 2003).



**Figure 07 :** Croissance et guidage des cellules (Adams & Alitalo, 2007).

EC: cellule endothéliale; ECM: matrice extracellulaire.

Les cellules endothéliales de front prolifèrent peu Les de soutien au contraire, prolifèrent de manière importante et permettent la croissance et l'élongation du bourgeon endothélial (Gerhardt et al, 2003). Voire (figure08).

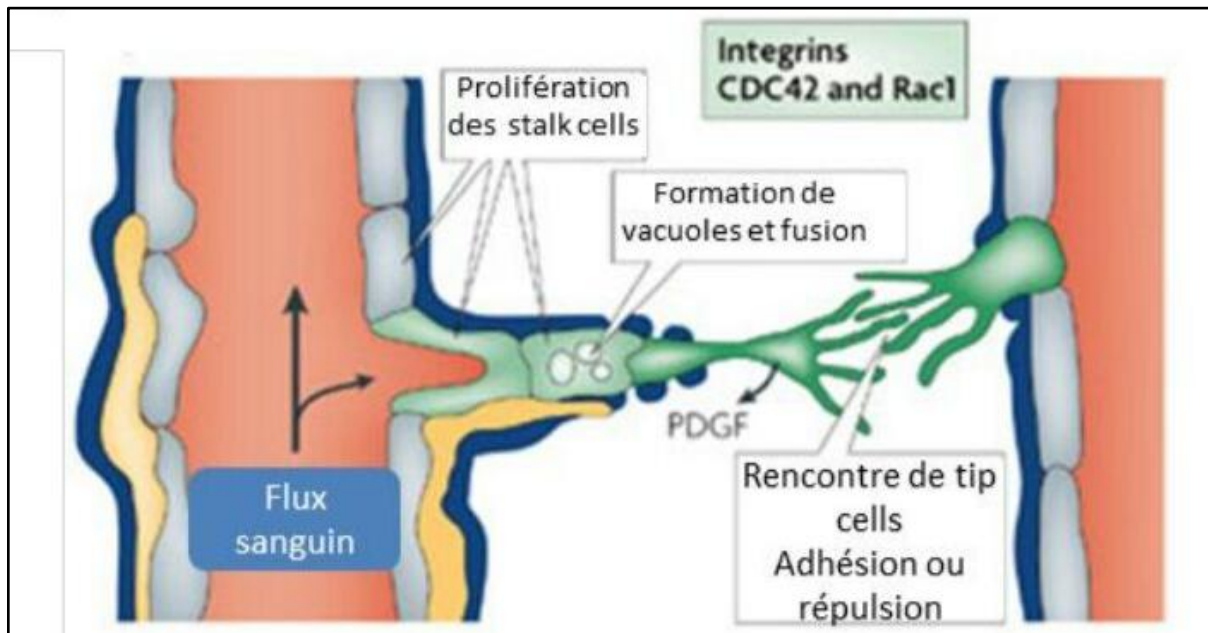


**Figure 08 :** Organisation des cellules endothéliales au cours de l'angiogenèse (Gerhardt et al, 2003).

➤ **Fusion de bourgeons et formation d'une lumière**



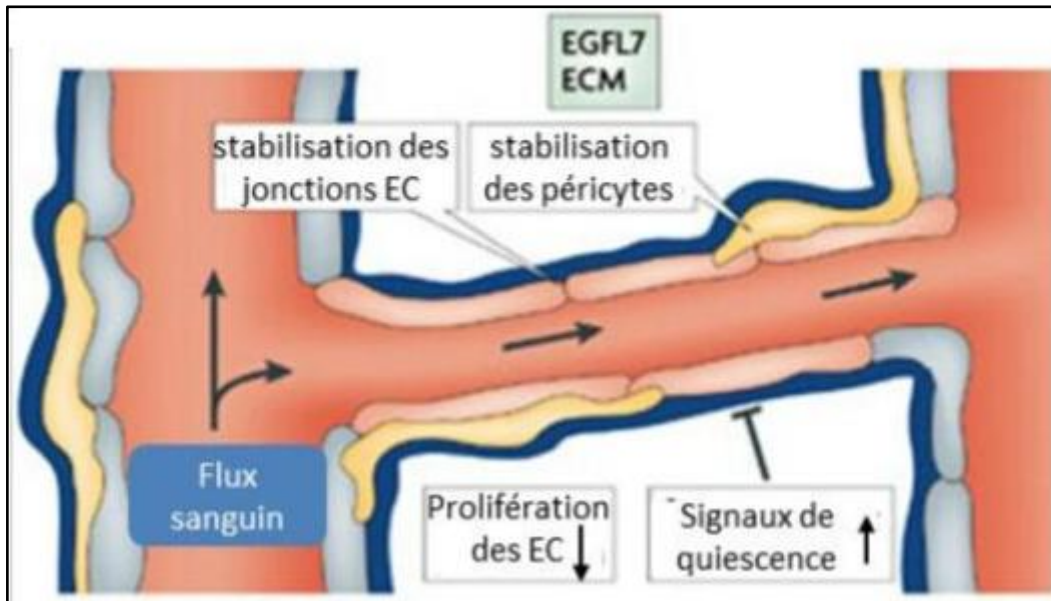
Une fois la phase d'élongation terminée, les cellules de soutien ont comme rôle important la formation de la lumière vasculaire. Contrairement aux cellules de front, les cellules de soutien vont conserver leur polarisation baso-apicale et permettre la construction d'une lumière continue (Siekman et al, 2008 ; Hellstrom et al ,2007). Lorsque deux cellules de front entrent en contact au travers de leurs filopodes, les deux bourgeons vasculaires fusionnent par anastomose et forment un vaisseau connecté ( Treps & Gavard, 2015 ),voir (figure09).



**Figure 09 :** Fusion de bourgeons et formation d'une lumière (Adams & Alitalo, 2007) .

### ➤ La maturation

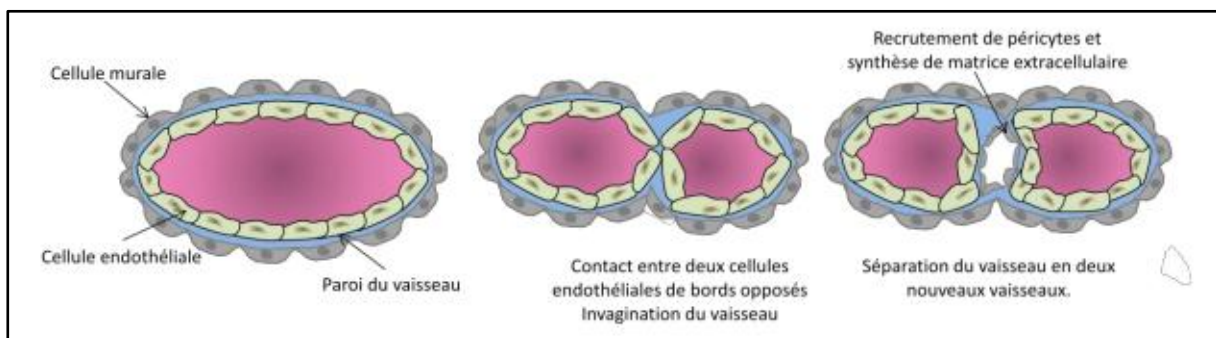
Cette étape est essentielle pour le bon fonctionnement du vaisseau. La stabilisation de la paroi vasculaire, par la synthèse d'une membrane basale et par le recrutement de péricytes, Au cours de ce processus, les cellules endothéliales stoppent leur migration et leur prolifération et commencent à synthétiser de la membrane basale (Almagro et al, 2010). est l'étape finale de l'angiogenèse qui conduit à la formation d'un nouveau réseau vasculaire fonctionne (Carmeliet, 2000). En effet, un défaut de stabilisation peut conduire à l'apoptose des cellules endothéliales et à la régression du néovaisseau voir (figure 10).



**Figure 10** :Perfusion et maturation (Adams & Alitalo, 2007).

### 2.2.3.2. Angiogenèse par intussusception

À la différence de l'angiogenèse bourgeonnante, l'angiogenèse par intussusception ne nécessite pas une prolifération importante des cellules endothéliales mais plutôt un réarrangement des structures préformées. L'intussusception est un processus angiogénique au cours duquel un vaisseau existant peut se scinder en deux vaisseaux par compartimentation. Ce processus est initié par une invagination de la paroi du capillaire à l'intérieur de la lumière et aboutit à la création d'une zone de contact entre les deux parois opposées du capillaire. Ce contact entraîne une réorganisation des jonctions entre les cellules endothéliales et la formation d'une séparation interstitielle qui est rapidement envahie par des péricytes ou des myofibroblastes. Ces cellules péri-capillaires vont alors synthétiser une matrice extracellulaire permettant d'augmenter la séparation entre les deux vaisseaux fils (Djonov et al, 2003), Voir (figure11).



**Figure 11** :Angiogenèse par intussusception coupe transversale d'un vaisseau (Carmeliet & Jain, 2011) .

### 2.2.3.3. L'Angiogenèse par cooptation

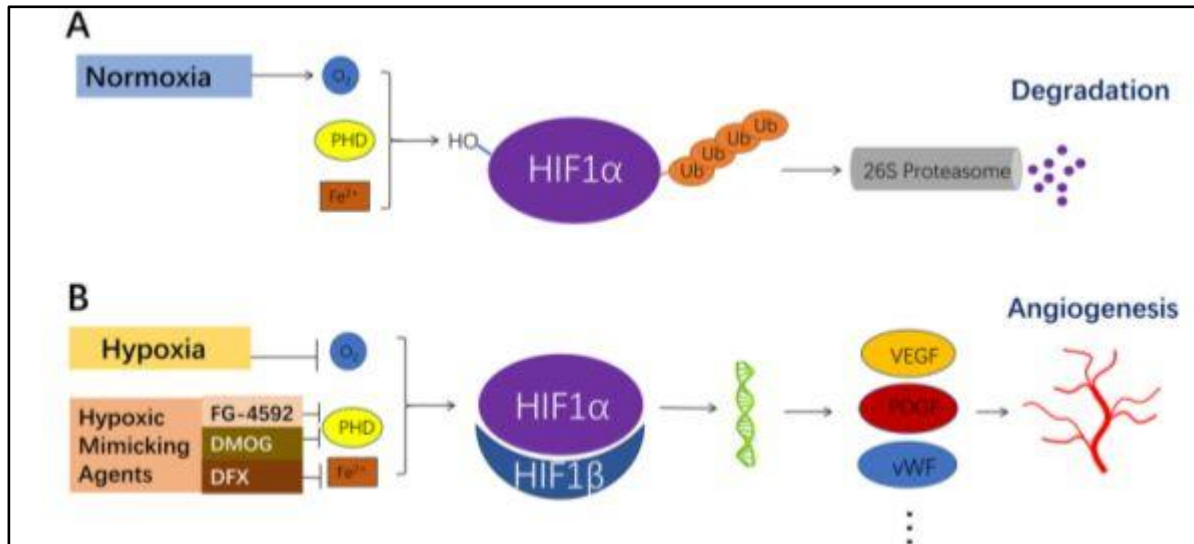
La cooptation vasculaire est un processus où les cellules cancéreuses utilisent les vaisseaux sanguins existants pour infiltrer et coloniser des régions cibles sans créer de nouveaux vaisseaux. Ce phénomène, observé dans diverses tumeurs, facilite la résistance aux thérapies anti-angiogéniques traditionnelles en permettant aux cellules cancéreuses de satisfaire leurs besoins métaboliques. Il joue un rôle crucial dans la métastase, particulièrement dans les tissus hautement vascularisés comme le cerveau, les poumons et le foie (Delgado-Bellido et al., 2023; Donnem et al., 2013).

## I.2.3. Les principaux acteurs impliqués dans la formation de nouveaux vaisseaux

### I.2.3.1. L'hypoxie et le système HIF

L'homéostasie de l'oxygène chez les mammifères est rigoureusement régulée pour garantir un apport suffisant à tous les tissus de l'organisme. Parfois, l'apport en oxygène ne répond pas à la demande, entraînant un stress hypoxique (Bracken et al., 2003). La réponse cellulaire à ce stress implique principalement le facteur de transcription HIF (Semenza, 2003).

HIF est un facteur de transcription hétérodimérique composé de deux sous-unités : une sous-unité constitutivement active appelée HIF-1 $\beta$  et une sous-unité sensible à l'oxygène appelée HIF-1 $\alpha$ . En conditions normoxiques, HIF-1 $\alpha$  est rapidement dégradé après sa synthèse. En revanche, l'hypoxie induit son accumulation et sa dimérisation avec HIF-1 $\beta$ , permettant la liaison à l'ADN et l'activation de nombreux gènes impliqués dans la régulation de l'angiogenèse (Kelly et al., 2003). Ce phénomène peut se produire dans des conditions physiologiques, comme lors d'une blessure ou en haute altitude, ainsi que dans des conditions pathologiques, telles que le développement d'une tumeur (Bracken et al., 2003), voir figure 12.



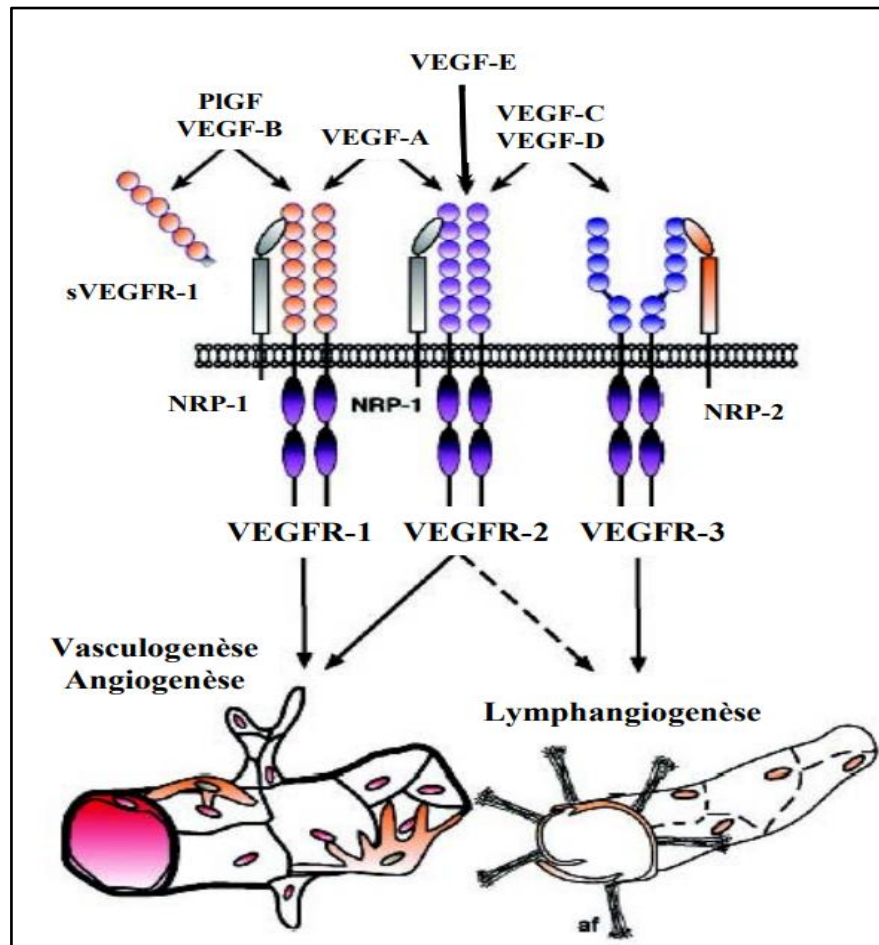
**Figure 12 :**La régulation de HIF-1 $\alpha$  dans les conditions d'hypoxie et de normoxie (Zhou et al,2019).

### I.2.3.2. Activateur de l'angiogénèse

#### ➤ Le système VEGF/VEGFR

Le VEGF (ou VEGF-A) a été identifié comme le premier facteur pro-angiogénique (Shaw et al., 2024).

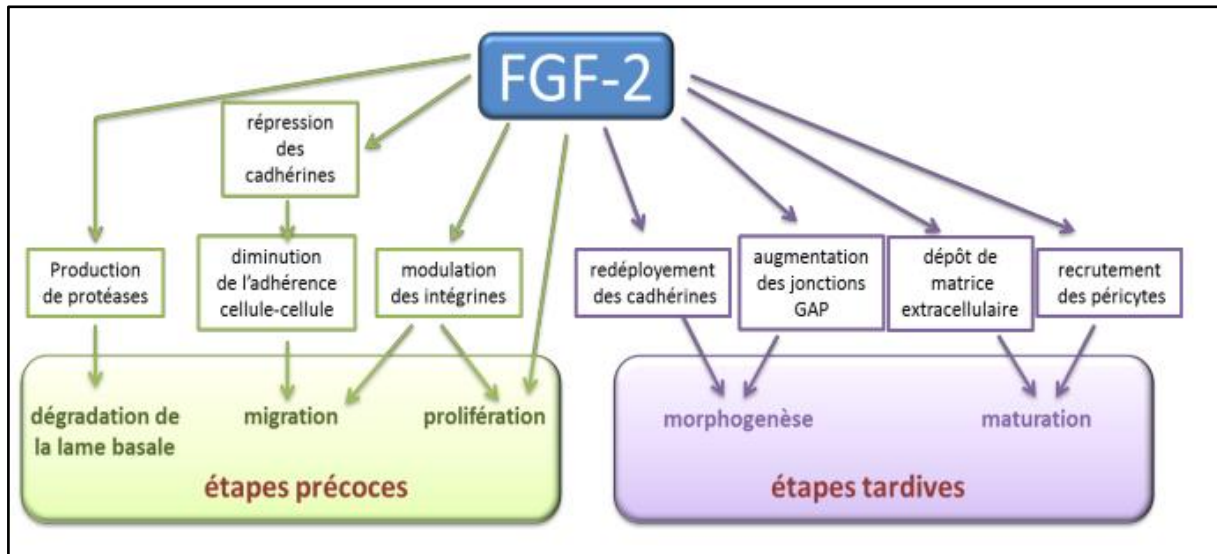
Activé par le système HIF, le VEGF joue un rôle central dans l'angiogénèse et la vasculogénèse, agissant généralement par voie paracrine sur les cellules endothéliales voisines. La famille des VEGF comprend plusieurs glycoprotéines solubles : VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D et PlGF (Carmeliet et al., 2001). Les cellules endothéliales possèdent deux récepteurs spécifiques pour le VEGF, VEGFR-1 (ou Flt-1) et VEGFR-2 (ou Flk-1), qui sont des récepteurs à tyrosine kinase modulant des réponses différentes. VEGFR-2 est le principal médiateur de la survie et de la mitose des cellules endothéliales, de l'angiogénèse et de la perméabilité vasculaire, tandis que le rôle de VEGFR-1 La modulation de la signalisation de VEGFR2 : VEGFR1 peut moduler la signalisation de VEGFR2. En tant que récepteur leurre, VEGFR1 séquestre le VEGF et empêche sa liaison à VEGFR2, un rôle crucial pendant le développement embryonnaire. VEGFR1 stimule également l'angiogénèse et augmente la perméabilité vasculaire. De plus, VEGFR1, exprimé dans divers types de cellules, régule la chimiotaxie de ces cellules, y compris les cellules endothéliales (Munikumar et al,2024). Un troisième récepteur, VEGFR-3 (ou FLT-3), est principalement associé au système lymphatique (Ferrara et al., 2003), voir figure 13.



**Figure 13 :** Récepteurs des VEGFs et fonctions biologiques associées ( Jussila & Alitalo, 2002).

### ➤ Le système FGF/FGFR

Les FGFs (Fibroblast Growth Factors) forment une famille de plus de vingt facteurs de croissance fixant l'héparine, agissant sur divers types cellulaires (Staiger et al., 2017). Ils jouent un rôle crucial dans de nombreuses réponses cellulaires, tant durant le développement embryonnaire qu'à l'âge adulte, en favorisant la prolifération et la différenciation cellulaire, ainsi que l'angiogenèse (Beenken & Mohammadi, 2009). Le b-FGF (basic Fibroblast Growth Factor, PM : 18 kDa) est particulièrement actif dans l'angiogenèse, étant principalement synthétisé par les fibroblastes, les macrophages, les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses (Staiger et al., 2017). Les FGF1-FGF10 et FGF16-FGF23 se lient à cinq récepteurs (FGFR1-5) à activité tyrosine kinase, composés d'un domaine extracellulaire, transmembranaire et cytoplasmique (Beenken & Mohammadi, 2009), voire (figure 14).



**Figure 14 :** Implication du FGF-2 dans les différentes phases de l'angiogenèse (Presta et al., 2005)

#### ➤ Le système PDGF/PDGFR

Le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) joue un rôle crucial dans la maturation des parois vasculaires. Initialement purifié à partir des plaquettes, le PDGF est également présent dans de nombreux autres types cellulaires, y compris les cellules endothéliales. La famille des PDGF comprend quatre isoformes (PDGF-A, B, C et D) qui peuvent former des homodimères ou des hétérodimères. Les récepteurs du PDGF se présentent également sous forme de dimères composés de sous-unités  $\alpha$  et/ou  $\beta$  (Papetti & Herman, 2002). Les cellules endothéliales quiescentes produisent et sécrètent le PDGF-BB en réponse à l'action de l'angiopoïétine-1 sur Tie-2, afin de recruter les péricytes pour maintenir la structure des capillaires. Cette sécrétion se poursuit également après la formation des néovaisseaux (Roswall et al., 2018).

#### ➤ Le système HGF (Hepatocyte Growth Factor)

Le HGF (figure 15) est produit par les cellules stromales et stimule la prolifération des cellules épithéliales, la motilité, la morphogénèse et l'angiogenèse dans divers organes via la phosphorylation de la tyrosine de son récepteur HGF a été découvert à l'origine comme mitogène d'hépatocytes de rat adulte alors que HGF a un effet cytotoxique sur certaines cellules tumorales, telles qu'hématome (Nakamura & Mizumo, 2010), voire (figure 15)

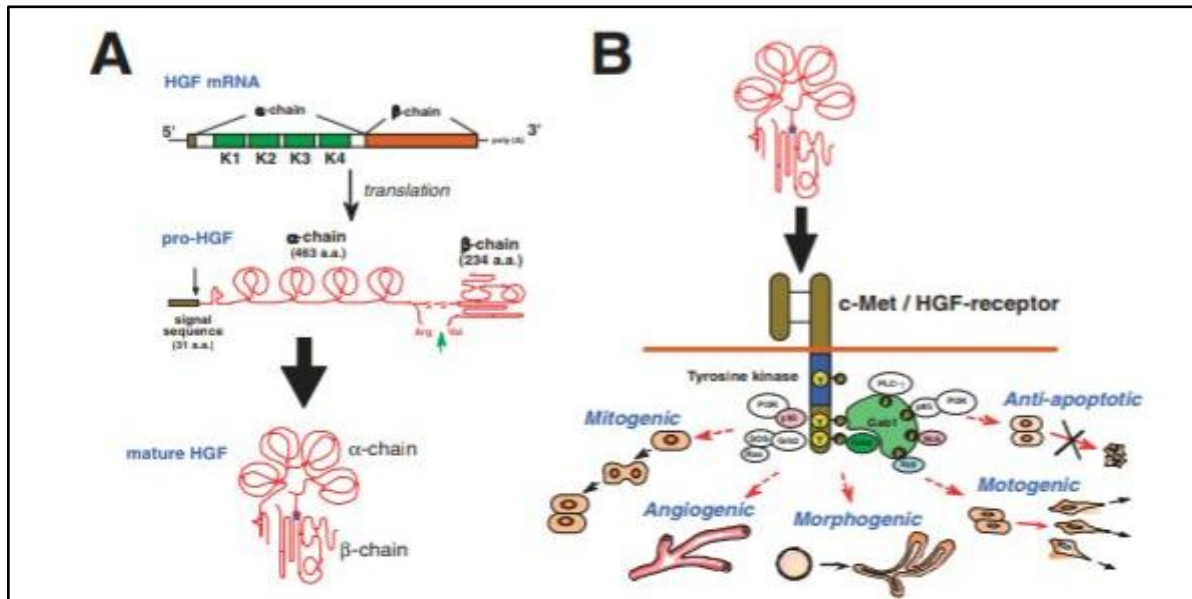


Figure 15 :Structure et fonction biologique de HGF((Nakamura & Mizumo, 2010).

### I.2.3.3. Les inhibiteurs

#### ➤ Thrombospondine-1

La thrombospondine-1 est une glycoprotéine produite par de nombreuses cellules, sans clivage préalable. Principalement stockée dans les plaquettes en complexe avec le TGF-β, elle se trouve également dans la matrice extracellulaire. Elle inhibe directement le VEGF-A165, le b-FGF et les MMP-9 en se liant à eux (Ren, 2006). La thrombospondine-1 stabilise les vaisseaux néoformés en bloquant leur migration et en facilitant la réorganisation de la lame basale (Iruela-Arispe et al., 2004), voire (figure 16).

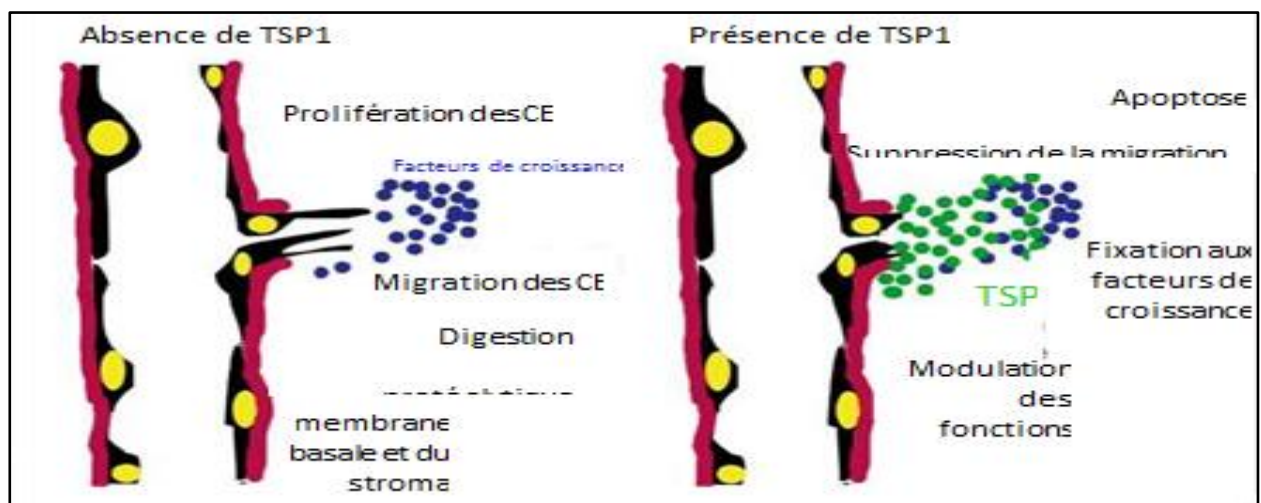


Figure 16 :Représentation schématique des effets de la thrombospondine sur les cellules endothéliales (Ren, 2006).

- **L'angiostatine**

L'angiostatine, ou angiostatin, est une protéine de 56 kDa issue du clivage du plasminogène par diverses métalloprotéases matricielles. Elle agit principalement sur les cellules endothéliales en se liant à plusieurs cibles membranaires. L'angiostatine inhibe la prolifération des cellules endothéliales induite par le b-FGF via les kinases cycline-dépendantes (cdk 5) et bloque la migration cellulaire en se fixant aux intégrines  $\alpha\beta3$ . Elle induit également l'apoptose des cellules par diverses voies intracellulaires (ATP, caspases, etc.) et empêche le développement des métastases. De plus, l'angiostatine stimule l'expression des molécules d'adhésion ICAM-1 et E-sélectine ( Bikfalvi, 1997).

- **L'endostatine**

L'endostatine est un inhibiteur de 20 kDa correspondant au fragment C-terminal du collagène de type XVIII. Elle peut être libérée de la matrice extracellulaire par protéolyse ou exposée à la cellule endothéliale par un agencement adéquat de la membrane basale (Nyberg, 2008). L'endostatine est un inhibiteur naturel de l'angiogenèse et de la croissance tumorale, identifié dans les cellules endothéliales (Bikfalvi, 2006).

- **Facteur plaquettaire-4**

Le facteur plaquettaire-4 (PF-4) est un polypeptide de 7 kDa qui se présente sous forme de tétramères. Il inhibe la prolifération et la migration des cellules endothéliales, réduisant ainsi l'angiogenèse par son activité anti-héparine, par interaction directe avec le b-FGF ou le VEGF-A, et par activation des récepteurs inhibiteurs membranaires endothéliaux (Fontaine, 2017). De plus, il empêche l'activation des récepteurs aux FGF en inhibant leur liaison et leur dimérisation (Perollet et al., 1998)

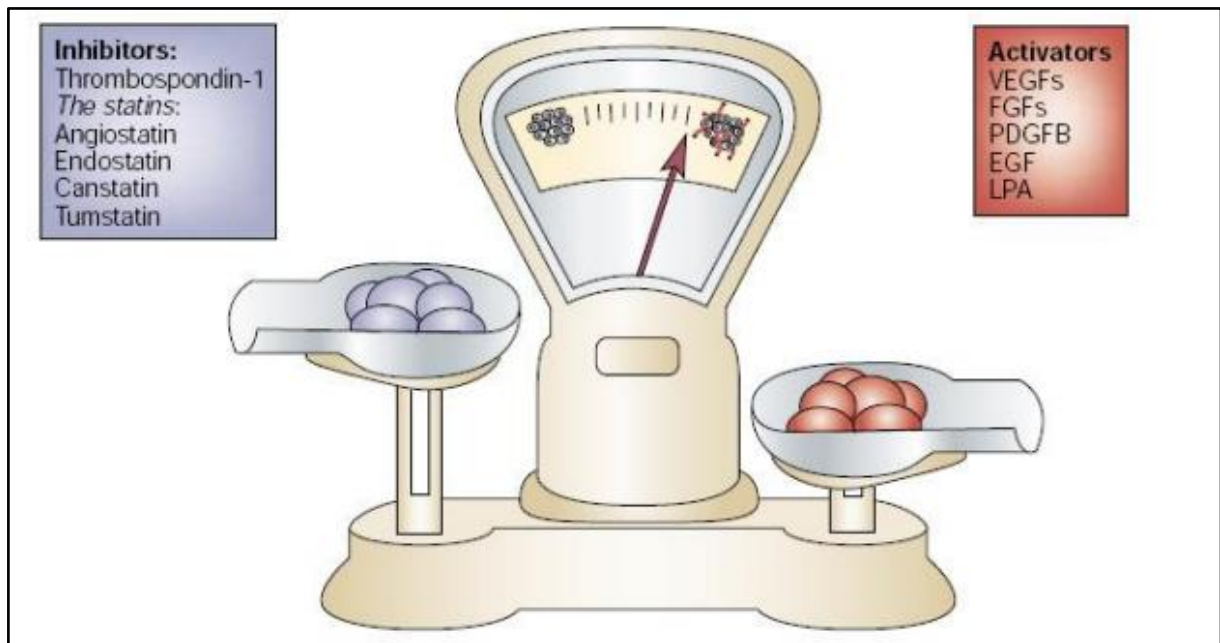
#### **I.2.4. Angiogenèse tumoral**

L'angiogenèse tumorale est un processus essentiel pour la croissance des tumeurs, permettant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins pour répondre à leurs besoins métaboliques. Elle se caractérise par une organisation vasculaire désordonnée et une perméabilité élevée.

Le "switch angiogénique" est un aspect clé de l'angiogenèse tumorale, représentant un équilibre délicat entre l'activation et l'inhibition de l'angiogenèse. Lorsque cet équilibre est perturbé, cela entraîne la prolifération, la migration et l'organisation des cellules vasculaires en vaisseaux fonctionnels (Ravaud, 2007). La croissance tumorale aboutit à la formation d'un



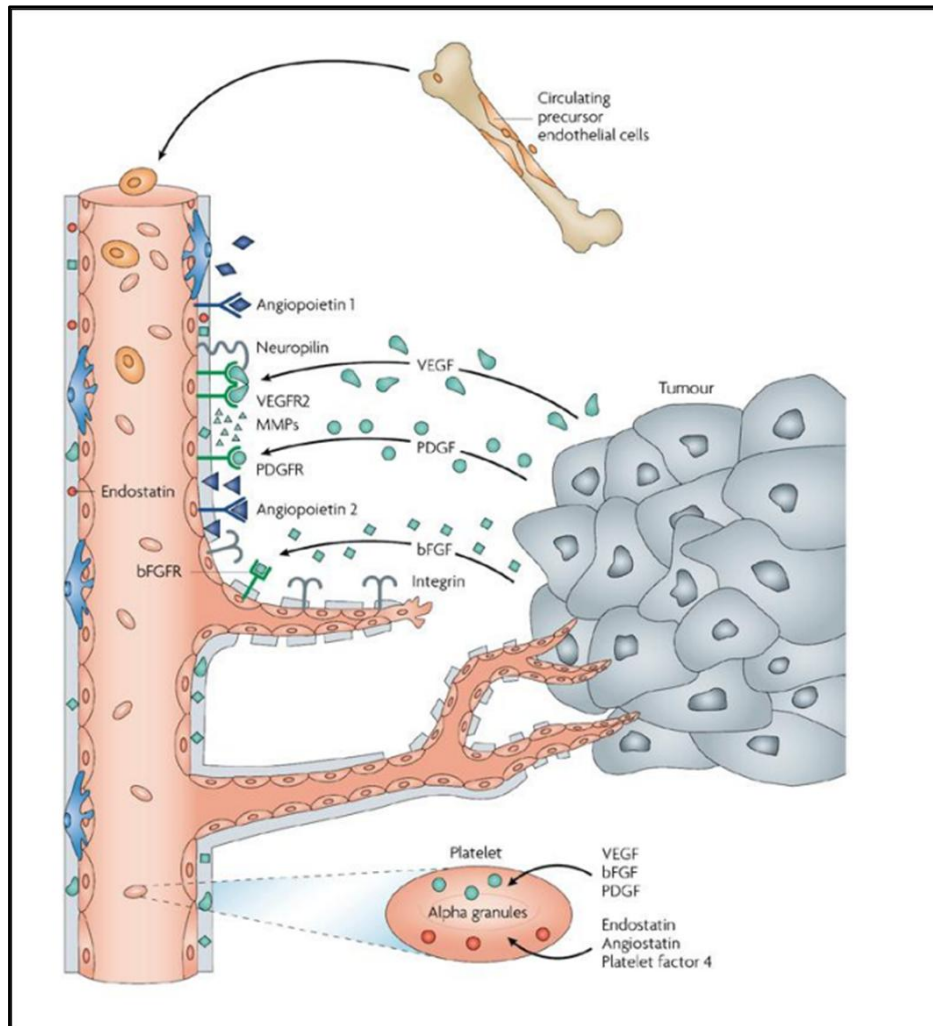
réseau vasculaire innovant, essentiel pour fournir à la tumeur oxygène, nutriments, facteurs de croissance et enzymes protéolytiques, tout en facilitant la propagation des cellules tumorales dans l'organisme hôte (Nashimoto et al., 2020), voir (figure 17).



**Figure 17** :Switch angiogénique(Bergers et al. 2003).

Il est important de noter que plusieurs types de cellules sont impliqués dans ce processus, y compris les cellules endothéliales, les péricytes et les cellules musculaires. De plus, de nombreux facteurs moléculaires favorisant ou inhibant l'angiogenèse ont été identifiés." (Ravaud, 2007).

Les vaisseaux tumoraux se forment par divers mécanismes, dont le bourgeonnement (ou sprouting), l'intussusception, ou l'intégration de précurseurs endothéliaux provenant de la moelle osseuse. De multiples molécules sont impliquées dans ces processus (Farnsworth, 2014), voire (figure 18)



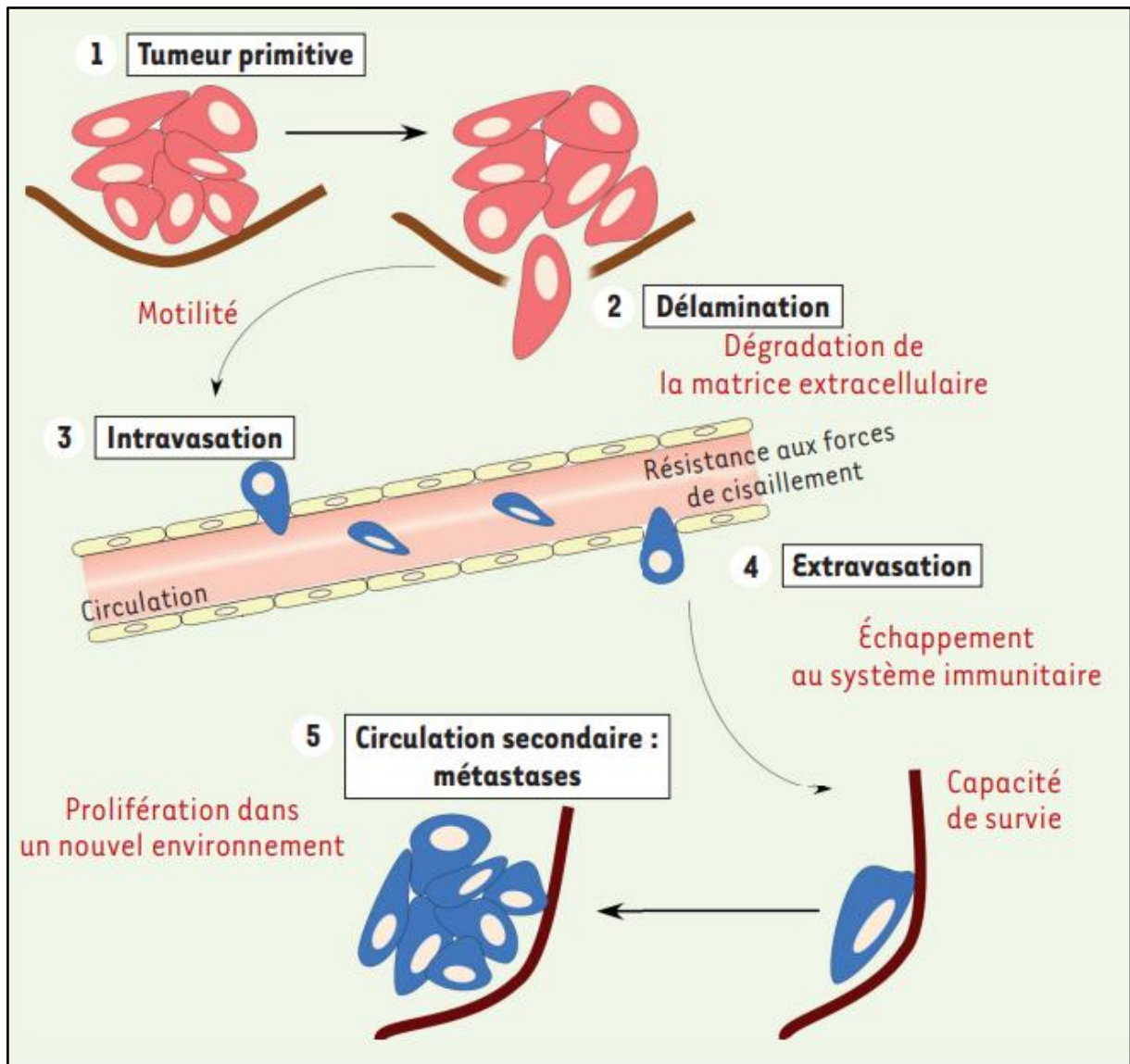
**Figure 18 :** L'angiogenèse tumorale et le rôle des différents facteurs au cours du processus. (Folkman, 2007).

### I.2.5. Le rôle de l'angiogenèse dans la progression tumorale et le métastase

L'angiogenèse joue un rôle crucial dans la dissémination et l'établissement des métastases tumorales. Elle est indispensable pour permettre aux cellules tumorales de s'échapper dans la circulation sanguine et de former des colonies métastatiques dans des sites secondaires (Bielenberg & Zetter, 2015).

Le développement des métastases à distance de la tumeur primitive est un processus complexe et structuré, appelé cascade métastatique. Il comprend plusieurs étapes : la délamination (détachement des cellules cancéreuses de la tumeur primitive), l'intravasation (entrée dans la circulation sanguine ou lymphatique), le voyage (déplacement à travers le corps), l'extravasation (sortie des vaisseaux), la colonisation (installation dans un nouvel organe) et la prolifération (multiplication en tumeurs secondaires). Chaque étape nécessite des caractéristiques

spécifiques, telles que la dégradation de la matrice extracellulaire, la motilité, la résistance aux forces de cisaillement, l'échappement au système immunitaire et la survie dans un nouvel environnement (Hubert & Abastado, 2014), voire (figure 19).

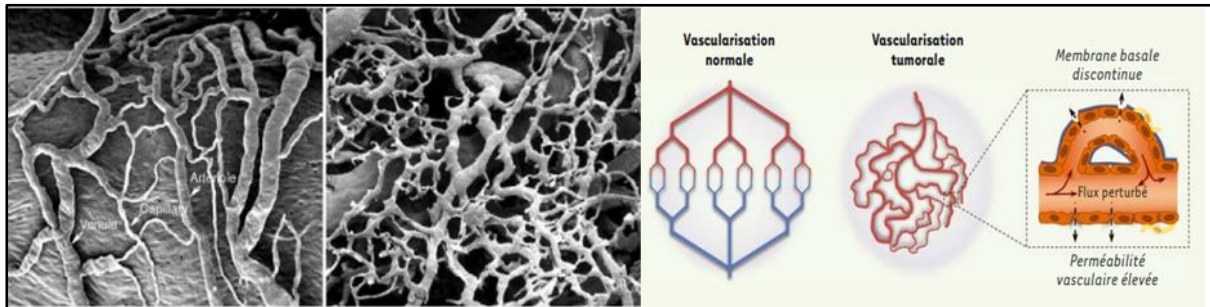


**Figure 19** : Les étapes du processus métastatique. (Hubert & Abastado, 2014).

### I.2.6. Les caractéristiques des vaisseaux tumoraux

Les vaisseaux qui alimentent les tumeurs présentent des caractéristiques structurales et fonctionnelles distinctes de celles des vaisseaux normaux (voir Figure 8). Leur architecture est souvent désorganisée et leurs ramifications irrégulières. Les parois de ces vaisseaux sont bordées de cellules endothéliales parfois fenêtrées, reposant sur une membrane basale souvent incomplète ou dissociée. Les péricytes, essentiels à la régulation du flux sanguin, sont rares voire absents. Cela entraîne une augmentation de la perméabilité vasculaire et l'extravasation des

hématies. De plus, les réseaux capillaires tumoraux manquent constamment de sphincters précapillaires (Scoazec, 2000), voir (Figure 20).



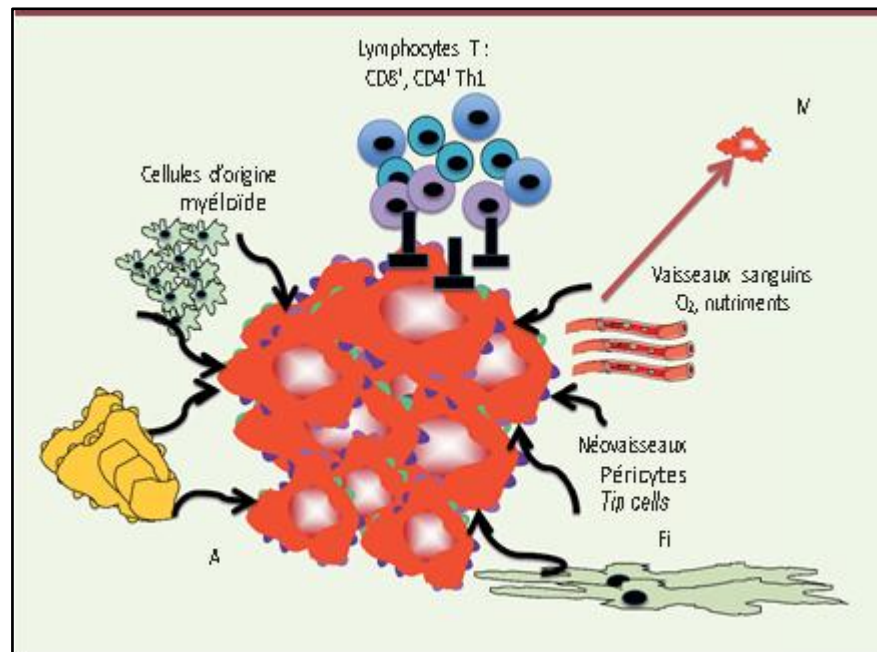
**Figure 20** : Comparaison de l'aspect de vaisseaux sanguins normaux et tumoraux (McDonald & Choyke, 2003).

### I.2.7. Interaction tumeurs microenvironnement

Les propriétés métastatiques, notamment la capacité migratoire, ne sont pas uniquement des caractéristiques intrinsèques des cellules tumorales, mais peuvent également être induites par le microenvironnement. Les macrophages, granulocytes et cellules myéloïdes suppressives (G-MDSC) sécrètent des facteurs tels que le TGF- $\beta$ , l'HGF et l'EGF, capables d'induire la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) des cellules cancéreuses in vitro (Hubert & Abastado, 2014).

Le microenvironnement tumoral, très hétérogène et variable selon l'organe, évolue avec le cancer et l'invasion tumorale. Il est désormais établi que le cancer résulte non seulement d'événements oncogénétiques, mais aussi de l'influence significative du microenvironnement sur l'évolution de la maladie. La progression et l'impact clinique d'une tumeur dépendent des interactions dynamiques entre les cellules malignes et leur microenvironnement (Fridman & Sautès-Fridman, 2014).

Dans la circulation sanguine, les plaquettes recouvrent les cellules tumorales circulantes, augmentant leur résistance aux forces de cisaillement et facilitant leur survie. Les macrophages périvasculaires favorisent l'extravasation et l'intravasation des cellules tumorales. Certains monocytes et macrophages créent une niche protectrice dans l'organe métastatique, favorisant la survie des cellules tumorales dans un environnement hostile. La tumeur primaire sécrète des facteurs pro-inflammatoires (protéine S100-A8/9, TNF $\alpha$ ) qui contribuent au développement de niches métastatiques dans l'organe cible. L'inflammation de l'organe cible, comme le poumon, la gencive ou les os, peut accélérer l'apparition de métastases (Hubert & Abastado, 2014), voir (figure 21).



**Figure 21 :** Interactions entre la tumeur et son environnement (Fridman & Sautès-Fridman, 2014).

### I.2.8. Thérapie anti angiogénique

L'angiogenèse tumorale, introduite par le Dr Folkman dans les années 1970, a conduit à des avancées majeures en médecine, notamment le développement de thérapies anti-angiogéniques. En 2004, l'approbation du bevacizumab (Avastin®), un anticorps monoclonal ciblant le VEGF, a marqué une étape importante (Garcia, 2020). Le VEGF et ses récepteurs restent des cibles clés pour de nouvelles thérapies. Cependant, ces traitements ont rapidement montré des cas de résistance, limitant les bénéfices en termes de survie globale à moins de six mois et présentant des risques d'effets secondaires (Jain et al., 2014).

#### I.2.8.1. Inhibiteurs de la signalisation VEGF/VEGFR (Bevacizumab)

Le Bevacizumab, ou Avastin®, est un anticorps monoclonal humanisé qui se lie au facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), empêchant ainsi le VEGF de se fixer à son récepteur et bloquant la cascade de signalisation responsable de l'angiogenèse. Premier inhibiteur de l'angiogenèse approuvé comme traitement anticancéreux (Garcia, 2020), le bevacizumab réduit la croissance des microvaisseaux tumoraux, limite l'approvisionnement en sang des tissus tumoraux, diminue la pression interstitielle, augmente la perméabilité vasculaire, améliore la diffusion des agents de chimiothérapie et favorise l'apoptose des cellules endothéliales tumorales (Yadav et al., 2015).

### I.2.8.2. Inhibiteurs de Tyrosine Kinase (Sorafenib)

#### ➤ Sorafénib

Le Sorafénib, ou Nexavar®, est une petite molécule qui inhibe plusieurs kinases impliquées dans la prolifération et l'angiogenèse tumorales, notamment Raf, MEK/ERK, qui contrôlent la division et la prolifération des cellules (Rini, 2006).

Sorafénib bloque les voies de signalisation intracellulaire activées par les récepteurs transmembranaires, ciblant principalement la voie de signalisation induite par les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFRs). Depuis son introduction en 2005, Sorafénib a été utilisé pour cibler principalement les récepteurs VEGFR2 et PDGFR, mais il a également montré une efficacité contre d'autres récepteurs tels que c-KIT, FLT3 et RET. Ces récepteurs, présents sur les cellules souches hématopoïétiques et les leucocytes, peuvent favoriser la progression tumorale lorsqu'ils sont activés (Pottier et al., 2020).

#### ➤ Sunitinib

Le Sunitinib, ou Sutent® (SU-11248), est un inhibiteur de tyrosine kinase à cibles multiples administré par voie orale, doté d'activités antitumorales et antiangiogéniques. Il a été approuvé comme traitement de première ligne pour les patients atteints de carcinome rénal avancé (RCC) et pour le traitement des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) (Tourneau, 2007). Le Sunitinib inhibe au moins huit récepteurs protéines-tyrosine kinases, notamment les récepteurs 1-3 du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFR1-VEGFR3), les récepteurs du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR $\alpha$  et PDGFR $\beta$ ), le récepteur du facteur des cellules souches (Kit), Flt-3 et le récepteur du facteur 1 de stimulation des colonies (CSF-1R) (Roskoski, 2007).

#### ➤ Le pazopanib

Le Pazopanib (Votrient®) est un inhibiteur de multi-kinases administré par voie orale, ciblant principalement les récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR-1, -2 et -3), les récepteurs du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGFR- $\alpha$  et - $\beta$ ), et le récepteur du facteur de cellules souches c-kit. Il inhibe l'angiogenèse induite par la combinaison du VEGF et du facteur de croissance des fibroblastes basique. Bien que développé pour traiter diverses tumeurs, le pazopanib est actuellement approuvé dans de nombreux pays pour le traitement du sarcome des tissus mous avancé et du carcinome à cellules rénales (Miyamoto, 2018), voire (figure22)

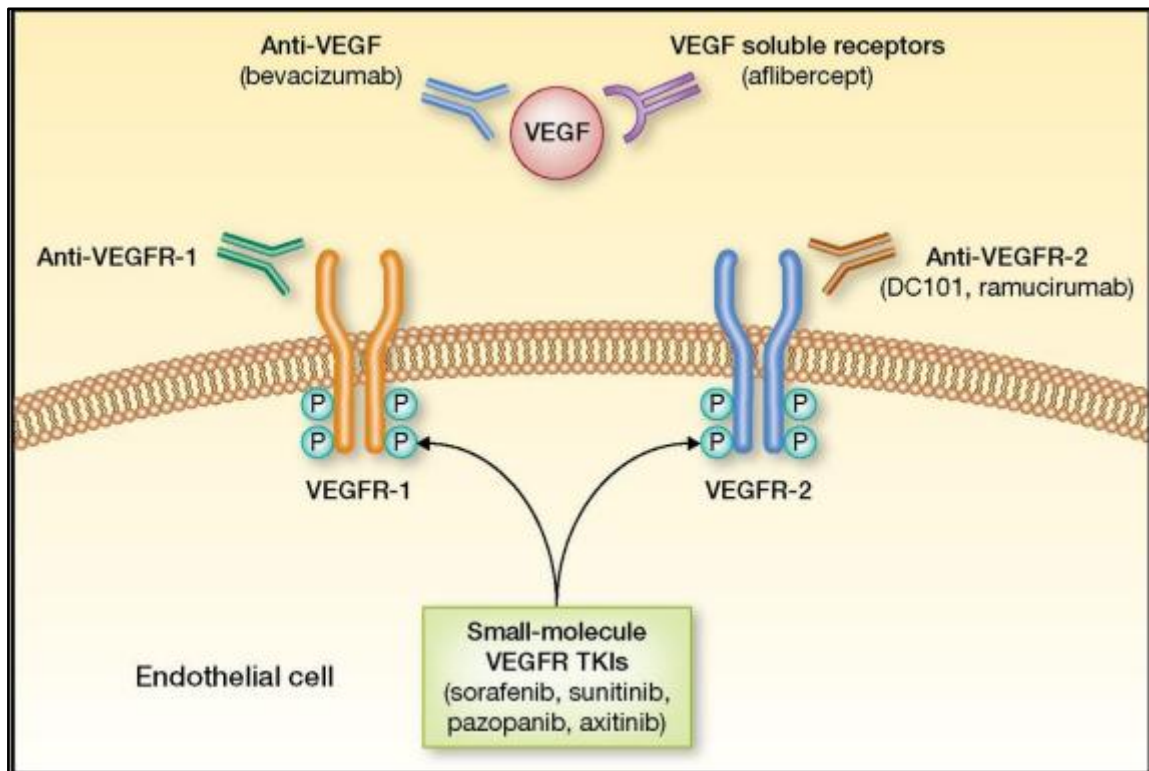


Figure 22 :Les inhibiteurs du VEGF ou de ces récepteurs (Poupard, 2017).

## *Chapitre II.*

*L'expérimentation sur la membrane  
chorioallantoïdienne(CAM Assay)*



## II.1. Historique de l'expérimentation sur la membrane chorioallantoïdienne (CAM)

L'expérimentation sur les vaisseaux sanguins de la CAM (CAM Assay), a été largement utilisée dans divers domaines tels que la toxicologie (Acharya et al., 2024 ; Kue et al., 2015) et la pharmacologie (Wang et al., 2024), et pour étudier la croissance tumorale (Pawlikowska et al., 2020), car le système L'immunocompétent du poussin n'est pas complètement développé et les conditions de rejet n'ont pas encore été établie (Mast & Goddeeris, 1999). En 1911, Rous et Murphy ont démontré que la croissance du sarcome de poulet de Rous transplanté sur la CAM de l'embryon du poulet était néoplasique (Rous & Murphy, 1911). En 1913, Murphy a observé que les tumeurs de souris et de rats implantées sur la membrane chorioallantoïque (CAM) du poussin pouvaient être entretenues par des passages successifs d'un œuf à l'autre. Il a décrit les effets de ces transplantations sur la CAM et l'embryon de poussin. De plus, Murphy a constaté que, bien que les tissus de rat ne se développent pas chez les poulets adultes, ils prospèrent sur la CAM jusqu'au 18e jour de développement embryonnaire. Cette découverte a souligné l'utilité de la CAM comme modèle pour l'étude de la croissance tumorale et de l'angiogenèse (Murphy, 1913).

Le test de la membrane chorioallantoïque (CAM) a été perfectionné par l'ablation d'un carré de la coquille pour exposer la surface de la CAM. Willier, en 1924, a introduit l'utilisation d'embryons de 9 jours pour la greffe de tissu et a sélectionné le point de jonction de deux ou plusieurs gros vaisseaux sanguins comme site de greffe optimal (Willier, 1924). Burnet, en 1933, a innové en créant un espace d'air artificiel au-dessus de la CAM pour faciliter la greffe de tissus. Karnofsky a étudié le comportement des cellules et tissus tumoraux de poulet, de souris et d'homme sur la CAM, évaluant la croissance tumorale, les caractéristiques histologiques, et les effets du passage continu dans des œufs sur la croissance tumorale, ainsi que la viabilité après retransplantation dans l'hôte d'origine et les impacts sur l'embryon de poulet (Karnofsky et al., 1952). Harris a implanté différents échantillons de tumeurs humaines sur la CAM, évaluant la présence de métastases dans l'embryon après 10 jours et testant l'effet inhibiteur des chimiothérapies sur leur croissance (Harris, 1958). Kaufman a observé les changements dans la CAM adjacente au site d'implantation de la tumeur, notant une prolifération de fibroblastes, une kératinisation et une stratification de l'épithélium chorioallantoïque (Kaufman, 1956).

## II.2. Structure et composition de l'œuf

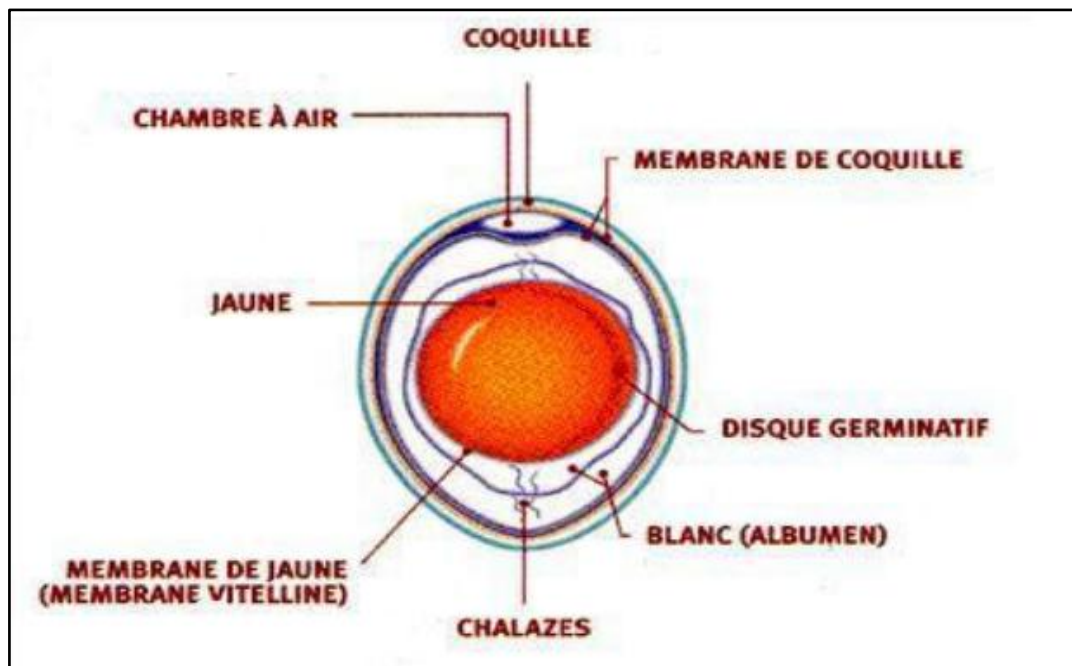
Après l'oviposition, l'œuf est composé de plusieurs éléments distincts :

- Une enveloppe externe, communément appelée **coquille**.

- Juste en dessous de la coquille, il y a **deux membranes coquillaires**.
- Enfin, à l'intérieur de l'œuf, on trouve le **blanc** et le **jaune d'œuf**.

Ces éléments constituent ensemble la structure complexe et fonctionnelle de l'œuf. Chaque composant joue un rôle crucial dans la protection et le développement de l'embryon

(Sauveur, 1988), voire (figure 23).



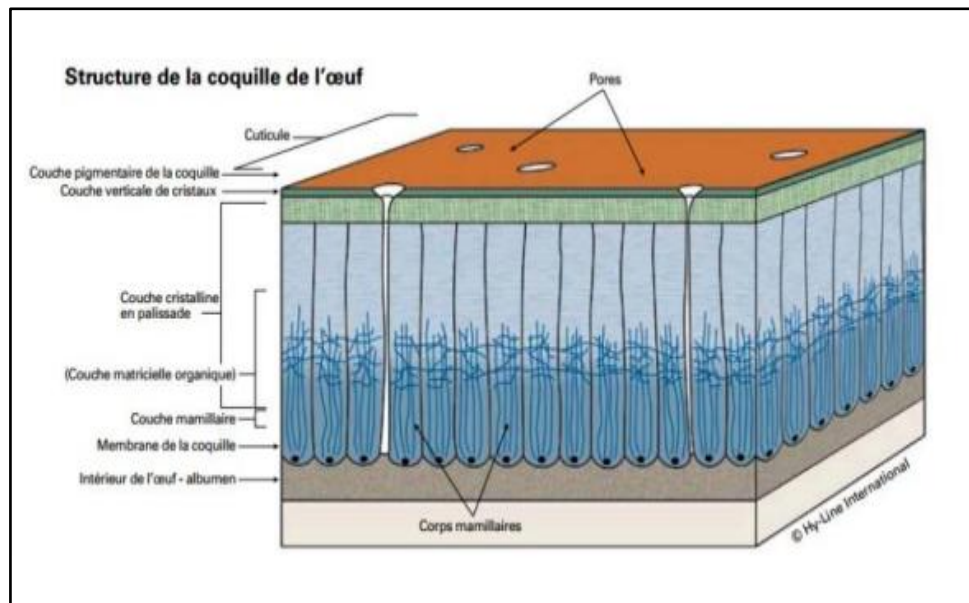
**Figure 23 :** Schéma de la structure de l'œuf (Sauveur, 1988).

#### ➤ La cuticule

C'est la dernière couche extérieure de la coquille, elle est constituée de matière organique. À la surface de la cuticule, il existe des pores qui permettent l'échange de gaz (oxygène à l'intérieur de l'œuf, CO<sub>2</sub> à l'extérieur) et la perte en eau depuis l'intérieur de l'œuf et empêche ainsi la pénétration des bactéries à l'intérieur de l'œuf (Nau & Lavoisier, 2010).

#### ➤ La coquille

La coquille agit comme un emballage naturel, composé de 1.6 % d'eau, 95.1% de minéraux et 3.3 % de matière organique (Nau & Lavoisier, 2010). Facilitant le transport de son contenu fluide nutritif et le protégeant d'une pénétration de bactéries pathogènes (Mertens et al., 2011), voire (figure 24).



**Figure 24** : Structure de la coquille de l'œuf (Hy-Lin international, 2017).

### ➤ Les membranes coquillières

Les membranes coquillières, composantes cruciales de la structure de l'œuf de poule, sont au nombre de deux et exclusivement composées de substances organiques. La membrane coquillière interne, d'une épaisseur approximative de 20  $\mu\text{m}$ , est en contact immédiat avec le blanc d'œuf. Elle assure non seulement la protection de l'œuf mais contribue également de manière significative à la minéralisation de la coquille. La membrane coquillière externe, nettement plus épaisse, affiche une épaisseur d'environ 50  $\mu\text{m}$ . Constituant la première barrière face au milieu extérieur, elle joue un rôle déterminant dans le processus de minéralisation de la coquille, qui s'initie à partir de cette couche (Nau & Lavoisier, 2010).

### ➤ L'albumen ou blanc de l'œuf

L'albumen, ou le blanc d'œuf, est principalement constitué d'eau (88%), avec une teneur significative en protéines (10,6%) et une petite quantité de glucides (0,9%). Il contient aussi des minéraux (0,5%) et une quantité limitée de vitamines hydrosolubles, spécifiquement du groupe B (Guerin-Dubiard, 2010). En ce qui concerne les protéines spécifiques présentes dans l'albumen, l'ovalbumine est la plus abondante, représentant 54% des protéines. D'autres protéines notables comprennent l'ovotransferrine (13%), l'ovomucoïde (11%), le lysozyme (3,5%) et l'ovomucine (1,5 à 3,5%) (Li-Chan & Nakai, 1989).

➤ **La membrane vitelline**

La membrane vitelline (MV) de l'œuf de poule est une structure protéique sans cellules, positionnée entre le blanc et le jaune de l'œuf. Elle est formée de deux strates de protéines : une couche interne, produite dans l'ovaire pendant la folliculogénèse et en contact avec le jaune, et une couche externe, libérée dans l'oviducte après l'ovulation du follicule mature et en contact avec le blanc. La MV joue un rôle crucial dans la fécondation et l'embryogénèse (Brégeon, 2018).

➤ **Vitellus ou jaune de l'œuf**

Le jaune est composé de 51% d'eau, de 30% de lipides, de 16% de protéines et de 0,6% de glucides. Il est également riche en phosphore, contient la plupart du fer de l'œuf et renferme des vitamines (la totalité des vitamines liposolubles et un certain nombre de vitamines hydrosolubles) (Guerin-Dubiard et al., 2010). La teinte du jaune est directement influencée par le régime alimentaire de la poule (Nau & Lavoisier, 2010).

➤ **Chambre à air de l'œuf**

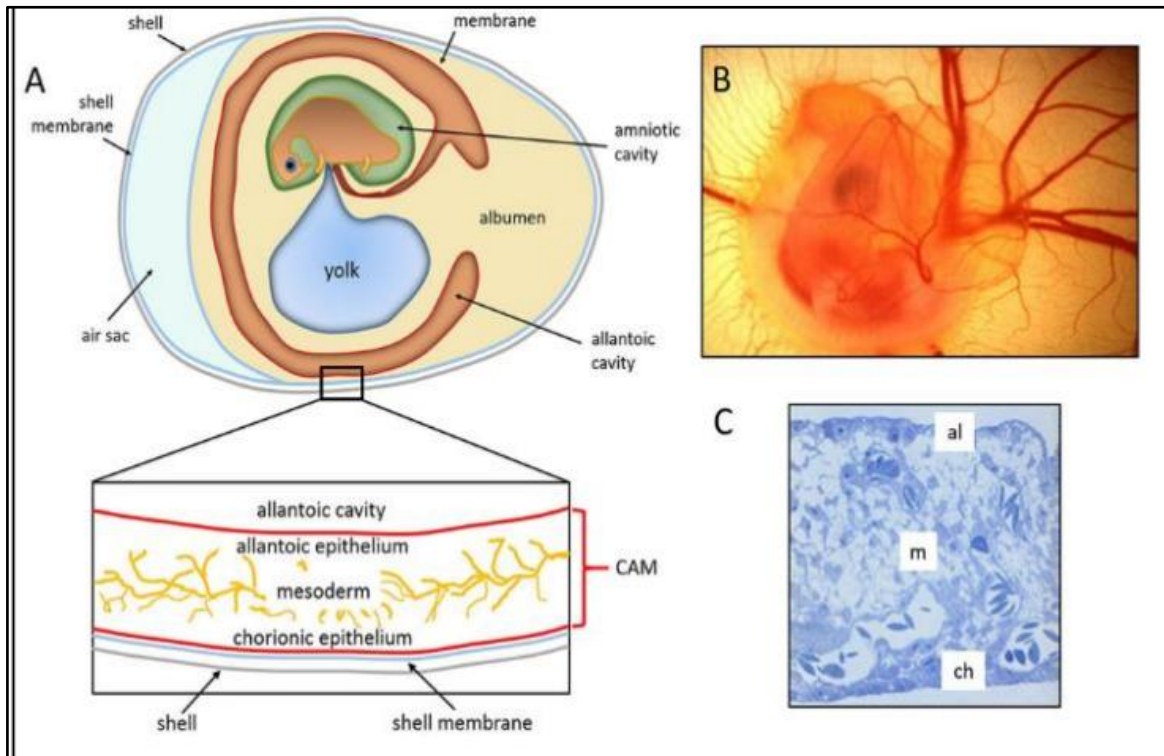
La chambre à air de l'œuf de poule n'existe pas au moment de la ponte, mais elle apparaît immédiatement après le refroidissement de l'œuf, entraînant une légère contraction de son contenu. Au fil du temps et en fonction des conditions de conservation, le volume de la chambre à air augmente. Cette chambre à air est délimitée par les membranes coquillières et se trouve à l'intérieur de la coquille de l'œuf (Musabimana KagajuF, 2005).

### **II.3. Structure et développement de la CAM**

La CAM est une membrane bicouche résultant de la fusion du chorion et de l'allantoïde. Elle est caractérisée par son immunodéficiences naturelle et sa haute vascularisation, ce qui en fait un modèle idéal pour l'implantation tumorale (Li et al., 2015). et l'étude de l'angiogénèse (Ribatti, 2022). Le réseau vasculaire de la CAM est intégré à la circulation embryonnaire via le pédoncule allantoïdien, permettant ainsi une interaction directe avec l'embryon (Maibier et al., 2016).

Elle se compose d'un épithélium multicouche avec l'ectoderme à l'interface avec l'air, le mésoderme (ou stroma) au centre, et l'endoderme en contact avec le sac allantoïdien (Rutllant & Khamas, 2024). La CAM est également riche en protéines de la matrice extracellulaire (ECM), telles que la fibronectine, la laminine, le collagène de type I et l'intégrine  $\alpha\beta_3$ . Ces protéines sont cruciales pour reproduire l'environnement physiologique des cellules cancéreuses et

facilitent donc l'étude des interactions entre les tumeurs et leur microenvironnement (Lokman, 2012) voire (figure 25).



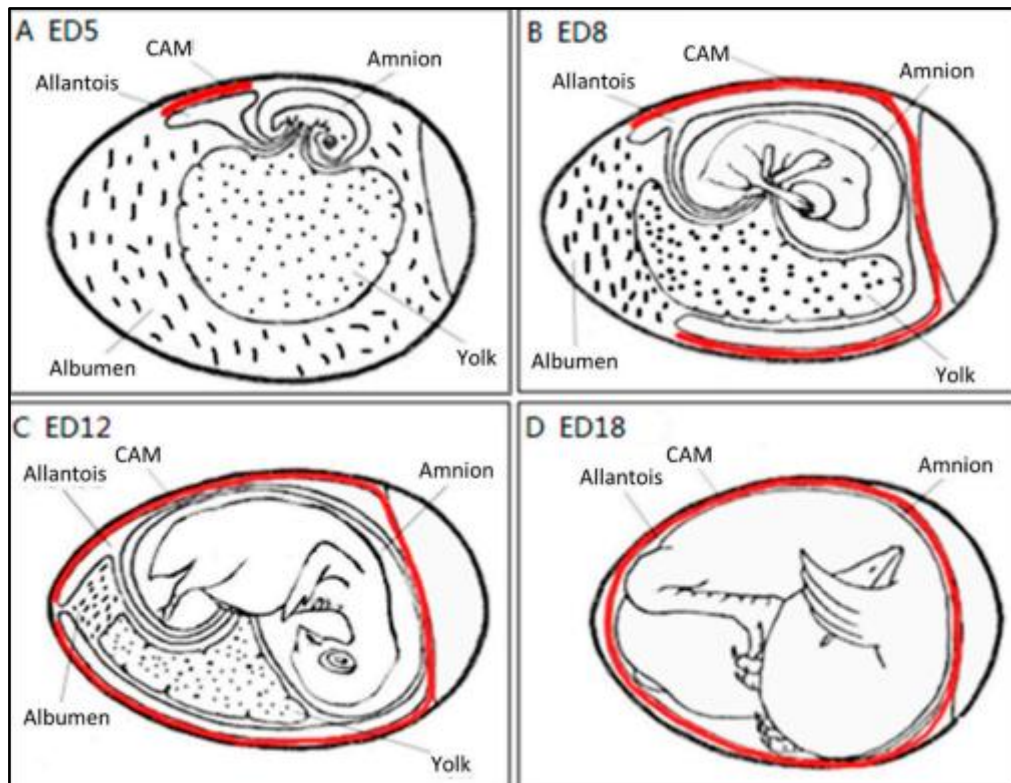
**Figure 25** :L'embryon de poulet et sa membrane chorioallantoïdienne.(A) Schéma de la structure générale d'un embryon de poulet âgé de 5 jours dans l'œuf avec les trois couches tissulaires de la CAM (Ribatti, 2014). (B) Coupe semi-fine de la CAM d'un embryon de poulet de 12 jours montrant l'épithélium chorionique (ch), le mésoderme vascularisé (m) et l'épithélium allantoïdien (al).(C) Embryon de poulet de 5 jours photographié *in ovo*(Ribatti, 2016).

#### II.4. Développement

Grâce à l'élargissement continu de la vésicule allantoïdienne, à environ 100 heures d'incubation, l'allantoïde commence à fusionner avec le chorion (Chen et al., 2021). A ce stade la CAM se compose de trois couches : l'ectoderme (provenant du chorion), le mésoderme et l'endoderme (provenant de l'allant). Chacune de ces couches remplit une fonction spécifique (Patiño-Morales et al., 2023).

La membrane allantoïdienne, issue du mésoderme, constitue le site primordial où s'initient les vaisseaux sanguins primitifs et la vascularisation. Dès le troisième jour d'incubation, ce processus débute, marqué par la fusion synergique de l'épithélium chorionique et de l'épithélium allantoïdien, aboutissant à la formation de la CAM double couche (Ribatti et al., 2021).

Au fur et à mesure que l'embryon de poussin se développe, la CAM s'épanouit parallèlement durant les 15 à 16 jours suivants, cette expansion continue jusqu'au 21e jour, point culminant où l'embryon rompt la coquille, signalant l'éclosion. voire (figure 26)



**Figure 26 :** Développement de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) (lignes rouges) à différents stades : (A) couverture initiale ED 5, (B) couverture partielle ED 8 (C), ED 12, (D) ED 18 couverture complet de l'embryon de poulet (Che et al , 2021) .

Il est important de souligner que la période jusqu'au 12e jour représente une phase d'accélération marquée dans la croissance de l'embryon et la vascularisation de la CAM, cette phase est caractérisée par une augmentation exponentielle de la densité vasculaire et une maturation accélérée des réseaux capillaires, essentiels pour répondre aux besoins croissants en oxygène et en nutriments de l'embryon en développement rapide (Kennedy et al., 2021).

## II.5. Les fonctions biologiques

Cette membrane extra-embryonnaire hautement vascularisée joue un rôle crucial dans l'échange de gaz et le transport des nutriments et des déchets pour l'embryon en développement chez les amniotes ovipares, tels que les oiseaux et les reptiles (Ribatti, 2017). Au cours de sa croissance, la CAM est sous-jacente à la membrane de la coquille interne, à ED 5, cette

membrane hautement vascularisée sert de système respiratoire à l'embryon et est seule responsable des échanges gazeux jusqu'à l'âge de 19 ED (Nowak-Sliwinska et al., 2014).

En outre, la CAM participe au transport du sodium et du chlorure depuis la cavité allantoïdienne, où les déchets urinaires sont déversés. Elle est également impliquée dans la mobilisation du calcium de la coquille pour initier la minéralisation osseuse, à un taux remarquable de 100 nmol de calcium par heure pour chaque cm<sup>2</sup> de surface de la CAM (Ribatti, 2016).

La couche mésodermique, riche en vaisseaux sanguins, permet la régulation de l'homéostasie acido-basique de l'embryon (Ribatti, 2017). L'épithélium allantoïque agit comme une barrière sélective, régulant l'absorption d'eau et d'électrolytes tout en protégeant l'embryon des substances nocives (Gabrielli & Accili, 2010).

## II.6. Les applications du test CAM

Le CAM est principalement utilisé dans la recherche pour évaluer les réponses angiogéniques, anti-angiogéniques ou toxiques aux médicaments, cellules, vésicules extracellulaires ou matériaux. Il permet également d'évaluer la biocompatibilité des matériaux, la croissance ou le traitement du cancer et l'application de xénogreffes pour la croissance des tissus (Deshmukh et al., 2023; Joniová & Wagnières, 2022; Chauhan et al., 2022).

Bien que le test CAM soit peu décrit dans la recherche en médecine vétérinaire, il a été utilisé dans la recherche sur l'oncologie féline et canine. Cela pourrait s'avérer essentiel pour tester des traitements contre l'ostéosarcome canin, comme l'ont démontré (Marshall et al., 2020).

Le membrane chorioallantoïque de poulet (CAM) s'est avéré particulièrement utile pour la transplantation de divers types de lignées cellulaires cancéreuses ou de tissus tumoraux afin d'étudier la formation des tumeurs, l'angiogénèse et les métastases. Le modèle CAM peut être utilisé pour le criblage de médicaments pour la thérapie anticancéreuse (Komatsu, 2019).

En outre, ce modèle peut également être utilisé pour étudier des processus pathologiques par simple exposition à des cytokines, des hormones ou des médicaments, ou par transplantation de tissus, de cellules isolées, d'organes ou de matériaux (Li, 2015).

## II.7. Les avantages et les inconvénients de l'expérimentation sur la CAM

Le modèle CAM présente de nombreux avantages par rapport à d'autres modèles *in vivo* utilisés pour étudier l'angiogénèse et la biologie vasculaire. L'avantage le plus important de ce modèle est son accessibilité et sa croissance rapide. Le CAM se développe en peu de temps d'une

petite membrane avasculaire en une structure qui couvre toute la surface interne de la de la coquille, avec un réseau vasculaire densément organisé. Ce processus se déroule sur une période de seulement 7 jours (jour 3-10). Permet un accès facile pour des manipulations chirurgicales dans l'œuf, telles que des transplantations tissulaires, l'implantation de cellules isolées ou de substrats chimiques autorisant la libération de facteurs humoraux spécifiques (Bernex & Barbara, 2012).

La facilité d'accès et la simplicité de manipulation du CAM pour les interventions et l'imagerie de la vascularisation ont suscité l'intérêt de nombreux chercheurs. Plus précisément, sa capacité à s'adapter à diverses modalités d'imagerie, allant de l'imagerie microscopique à l'imagerie par résonance magnétique et à la tomographie par émission de positrons (IRM et PET), est particulièrement appréciée (Li, 2015)

En raison de son immunodéficiences naturelle, l'embryon de poussin est capable d'accepter des greffes de divers tissus et espèces sans provoquer de réaction immunitaire. Cela offre une opportunité unique d'observer et d'analyser en temps réel les modifications morphologiques des cellules cancéreuses au sein de sa microcirculation. De plus, la simplicité d'utilisation et le faible coût de ce test renforcent son attractivité en tant qu'outil de recherche (Ribatti, 2014).

Un défi majeur dans l'étude des cellules tumorales réside dans leur incapacité à former des colonies macroscopiques discernables, principalement en raison de la période restreinte de 8 à 10 jours entre le développement tumoral et l'éclosion de l'embryon de poulet. Par ailleurs, bien que le système immunitaire de l'embryon soit immature, il est susceptible de déclencher des réactions inflammatoires non spécifiques (Ribatti, 2014). Cette limitation entrave également l'examen approfondi des interactions entre la tumeur et le système immunitaire (Ribatti, 2010).

➤ **Difficulté à distinguer la néovascularisation de la vasodilatation :**

Le CAM contient déjà un réseau vasculaire bien développé. Par conséquent, il peut être difficile de distinguer les nouveaux vaisseaux sanguins qui se développent dans le mésenchyme du CAM d'une densité vasculaire accrue due au réarrangement des vaisseaux existants (Schneider-Stock & Ribatti, 2021).

➤ **Risque de contamination :**

L'essai CAM présente de grandes chances de contamination, ce qui peut affecter la fiabilité des résultats (Bitesize Bio, n.d,2024).



Malgré les inconvénients, ce modèle constitue une alternative de choix qui permet aux chercheurs de mener leurs investigations tout en respectant les recommandations des trois R : réduction, raffinement, remplacement (Inserm, 2017).

## *Chapitre III.*

# *Phytothérapie et activité anti-vasculaire des produits dérivés de plantes*

### **III.1. Historique**

Il y a 60 000 ans, les êtres humains ont commencé à exploiter les vertus des plantes, et les chamans ont joué un rôle prépondérant dans la cueillette, l'apprentissage de leur utilisation et la transmission du savoir botanique à travers l'histoire. Les plantes servaient non seulement de base alimentaire, mais aussi dans le traitement de diverses pathologies et dans la quête d'une expérience spirituelle plus profonde (Létard et al, 2015).

Ensuite, les Grecs, notamment Hippocrate, Aristote, Théophraste, Galien et Dioscoride, ainsi que les Romains, ont transmis l'art de la phytothérapie en compilant un savoir-faire sur plus de 500 espèces de plantes médicinales (Hardy, n.d.).

En 529, le pape Grégoire le Grand interdit l'enseignement en France de la médecine par les plantes et ce n'est qu'aux alentours du début du IX<sup>e</sup> siècle que le Moyen-Orient, l'Afrique du nord et l'Espagne avec l'université de Cordoue ont repris l'enseignement de ces connaissances, puis Avicenne (980-1037) distilla les premières huiles essentielles (Létard et al., 2015).

Au début du dix-neuvième siècle, des composés tels que la morphine a été isolés de l'opium, la strychnine de la noix vomique et la quinine de l'écorce du quinquina (Guibert, 2023).

Aujourd'hui, plusieurs civilisations, dont les chinoises, ayurvédiques, arabes, tibétaines et indiennes, continuent de s'appuyer sur ces systèmes thérapeutiques traditionnels qui sont souvent moins coûteux (Leung, 2017).

### **III.2. Définition**

La phytothérapie, également appelée phytopharmacologie ou herboristerie, est une pratique médicale qui utilise des plantes et leurs extraits pour prévenir et soigner diverses affections. Cette méthode thérapeutique emploie différentes parties des plantes, telles que les feuilles, les fleurs et les racines, et se concentre sur l'étude des propriétés des plantes, les mécanismes d'action des remèdes à base de plantes, ainsi que leurs interactions avec les médicaments conventionnels. Les composés actifs tels que les glycosides cardiaques et les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans l'efficacité de ces traitements (Makarska-Białokoz, 2020 ; Létard et al., 2015).

### **III.3. Les plantes et leurs dérivés pour prévenir et traiter les cancers**

Parmi les 250 000 espèces de plantes existantes, plus d'un millier ont été identifiées pour leurs propriétés anticancéreuses notables. Des composés tels que les polyphénols du thé, la

curcumine, les flavonoïdes et les terpénoïdes sont parmi les agents actifs reconnus pour leur potentiel thérapeutique dans la lutte contre le cancer (Mukherjee et al., 2001; Wang et al., 2015).

La chimiothérapie moderne emploie divers composés végétaux aux propriétés cytotoxiques et anti-vasculaires. Ces substances agissent par de multiples mécanismes, notamment l'inhibition de la croissance des cellules cancéreuses, l'induction de l'apoptose et les dommages à l'ADN (Lichota & Gwozdziński, 2018).

#### **III.4. Activités anti-vasculaire des composés d'origine végétale**

Les médicaments anti-vasculaires dérivés de plantes ciblent le réseau vasculaire anormal des tumeurs. Des composés tels que le phosphate de combretastatine A-4 (CA-4-P) et l'OXi4503 perturbent les vaisseaux sanguins établis des tumeurs, entraînant une mort cellulaire tumorale nécrotique étendue (Kretzschmann & Fürst, 2014). En plus, Les flavonoïdes, par exemple, sont connus pour leurs propriétés anti-angiogéniques, inhibant diverses étapes du processus de l'angiogenèse, essentielles à la croissance et à la métastase des tumeurs (Wei & Zhang, 2024). Plusieurs composés d'origine végétale ont démontré une activité anti-angiogénique significative. Ces composés naturels offrent une voie prometteuse pour le développement de traitements contre le cancer moins toxiques et plus accessibles (Li et al, 2021). (Voir Annexe).

#### **III.5. Description des plantes étudiées**

L'oignon, l'ail et le piment rouge piquant utilisés depuis des siècles comme conservateurs alimentaires et plantes médicinales, sont reconnus pour leurs activités biologiques. Ces activités sont souvent attribuées aux principes actifs présents dans les produits de leurs métabolites secondaires. Ces derniers sont largement employés en thérapeutique en tant qu'agents préventifs anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, mais surtout antioxydants (Bourgaud et al., 2001).

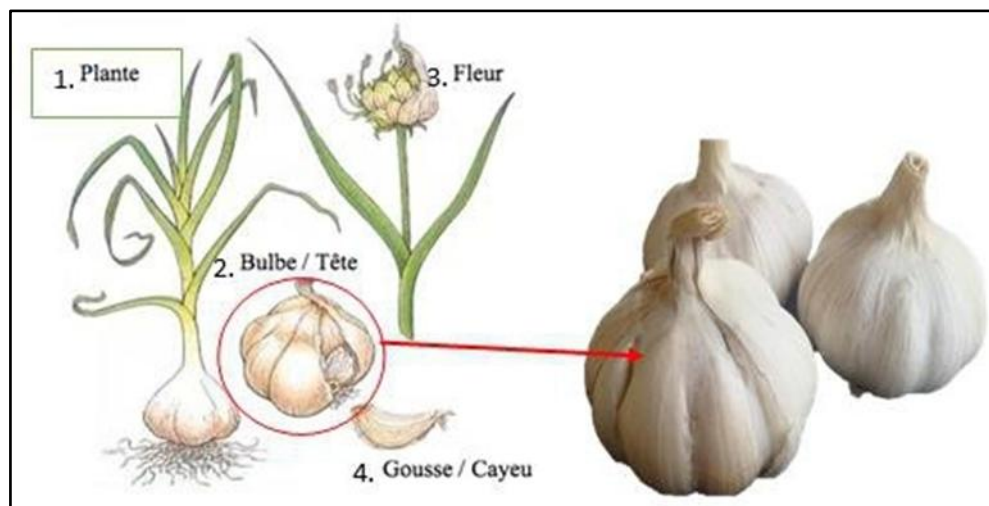
En outre, ils sont également utilisés dans le traitement de diverses maladies. Parmi celles-ci, on compte les troubles digestifs (gastriques et intestinaux), les problèmes du système urinaire, les maladies cardio-vasculaires et les affections des voies respiratoires, entre autres (Ivan et al., 2024; Eddouks et al., 2007).

##### **III.5.1. Ail**

###### **III.5.1.1. Description**

C'est une herbe robuste, dressée et pérenne, atteignant une hauteur de 60 cm, caractérisée par un bulbe central. Ce dernier est couvert d'écailles situées à l'aisselle. Le bulbe est composé

d'un certain nombre de caïeux ou de gousses, enveloppés dans une peau qui ressemble à du papier. Les feuilles, longues, plates et lisses, présentent une lame de forme cylindrique, creuse, linéaire, plate et solide, se terminant en sommet aigu (apex acuminé). L'inflorescence est sphérique, ornée de fleurs aux couleurs vives, blanches ou rose-violacées, portées par des pédoncules grêles (Gambogou et al ,2019),voire(figure 27)



**Figure 27 :**Présentation de l'Ail (Gambogou et al ,2019).

### III.5.1.2. Compositions chimiques

L'ail est une plante exceptionnellement saine et nutritive, reconnue pour ses nombreuses propriétés médicinales. Il est couramment utilisé non seulement pour prévenir diverses maladies, mais aussi pour les traiter. Sa composition est assez unique : il contient en moyenne 65% d'eau, ce qui est nettement moins que la plupart des légumes frais qui en contiennent plus de 85%. De plus, l'ail est riche en glucides (27,5%), en protéines (2%) et en fibres (4,7%). Il est également doté de principes actifs importants, comme les composants soufrés (Gambogou et al, 2018).

En outre, l'ail est une excellente source de vitamines A, B et C. Il est également riche en oligo-éléments essentiels tels que le sélénium, le cuivre, le fer et le magnésium. Enfin, il contient des acides aminés, des composants clés de notre alimentation (Gambogou et al,2018).

## III.5.1.3. Classification

Tableau 02 : Classification de l'ail commun (Lambinon et al., 2004). Voir tableau

Règne	Plante
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Liliopsides</i>
Sous- classe	<i>Liliidae</i>
Ordre	<i>Liliales</i>
Famille	<i>Alliaceae</i>
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium Sativum L</i>

## III.5.1.4. Activités biologiques et pharmacologiques

L'ail (*A.sativum*) est reconnu pour ses multiples propriétés thérapeutiques. Il a des effets antihyperlipidémiant, antihypertensif et anticoagulant. L'allicine, un composé de l'ail, et ses métabolites ont la capacité d'inhiber la prolifération de certaines cellules humaines en laboratoire. L'ajoène, un autre composé de l'ail, a des propriétés anti-thrombotiques et antimicrobiennes (Gambogou et al., 2019).

L'ail a été identifié comme un agent potentiel de prévention du cancer grâce à diverses études épidémiologiques, cliniques et de laboratoire. Les composants chimiques de l'ail, présents dans sa poudre et son huile, ont un effet antibactérien significatif sur *Helicobacter pylori*, ce qui pourrait justifier son rôle protecteur présumé contre le cancer de l'estomac. Les composés organosulfurés de l'ail, responsables de ses propriétés chimio-préventives, modulent l'activité de plusieurs enzymes métaboliques, activant ou détoxifiant les agents cancérigènes et inhibant la formation de divers adduits d'ADN dans les tissus cibles. Le disulfure de diallyle, en particulier, a démontré une forte activité chimio-préventive contre les cancers du côlon, du poumon et de la peau (Farhat et al., 2021).

Les propriétés anti-angiogéniques de l'huile d'ail (*Allium sativum*) ont été explorées en étudiant leur effet sur les membranes chorioallantoïques (CAM) des embryons aviaires. Les résultats ont démontré que l'huile de l'ail réduit de manière significative le nombre de microvaisseaux dans les CAM des embryons de poulet, et ce de manière dose-dépendante (Obaid, 2024).

### III.5.2. Oignon

#### III.5.2.1. Description

L'oignon (*Allium cepa*) se caractérise par une tige très courte et aplatie, d'où émergent alternativement les feuilles de l'extérieur vers l'intérieur. Cela forme deux rangées superposées, avec des limbes possédant une cavité interne. En fonction du cultivar et de la date de semis, l'oignon produit entre 12 et 20 feuilles presque cylindriques. L'épi court de l'oignon sur le plateau présente des feuilles dans la partie supérieure et des racines dans la partie inférieure. Ces racines sont nombreuses, de couleur blanche et présentent peu de ramifications (DABIRE, 2016).

#### III.5.2.2. Composition chimique

L'oignon est riche en divers nutriments et composés, y compris l'eau, les glucides, les protéines, la lectine, les graisses, les vitamines, les minéraux, les flavonoïdes, les composés organosulfurés et phénoliques. La qualité de ces constituants est influencée par le génotype de l'oignon, l'environnement et les pratiques agronomiques. De plus, l'oignon est une source d'acides aminés libres qui contribuent à son contenu en azote (Marefati et al., 2021).

#### III.5.2.3. Classification

**Tableau 03** :Classification de L'oignon (Hanelt, 1990).

Classe	Monocotylédones
Superorder	Liliiflorae
Order	Asparagales
Famille	Alliaceae
Genre	Allium
Sous genre	Rhizirideum, Allium et Melanocrommum
L'espèce	<i>Allium cepa</i>

#### III.5.2.4. Les propriétés pharmacologiques

L'*Allium cepa* possède un large éventail de propriétés pharmacologiques, notamment ; les effets antibactériens et antifongiques (Shrestha et al., 2016). Effets antioxydants, effets anti – inflammatoires (Marefati et al., 2021). Ces composants jouent un rôle crucial dans la lutte contre diverses infections bactériennes et fongiques (Shrestha et al., 2016).

Des recherches récentes ont montré que les nanovesicules dérivées de l'oignon peuvent avoir des effets anti-prolifératifs sur des lignées cellulaires cancéreuses telles que HeLa et PC-3 (Sharma, Sinha & Singh, 2024). Le jus d'oignon violet a inhibé la prolifération cellulaire in vitro pour les cellules cancéreuses du poumon (A549) et du côlon (Yıkmiş et al., 2024).

L'effet anti-angiogénique du contenu en flavonoïdes de la peau d'oignon (*Allium cepa L. var. ascalonicum*) a été examiné en utilisant le test de la membrane chorioallantoïque (CAM) chez le poussin. Le contenu en flavonoïdes a démontré une inhibition de la prolifération des vaisseaux sanguins dans la CAM (Castor et al., 2014).

#### III.5.3. Piment rouge piquant (*Capsicum annuum*)

##### III.5.3.1. Description

Le *Capsicum annuum*, communément appelé piment ou poivron, originaire d'Amérique du Nord méridionale et d'Amérique du Sud septentrionale. Cette espèce est très diversifiée, avec une large gamme de tailles, de formes et de couleurs de fruits, et elle est cultivée dans le monde entier à la fois pour sa valeur culinaire et ornementale (MacBryde, 2006). La plante est un arbuste annuel ou vivace, atteignant généralement de 0,5 à 1,5 mètre de hauteur, avec des feuilles ovales à lancéolées et à bord lisse. Les fleurs sont solitaires et apparaissent dans les aisselles des feuilles, avec une corolle blanche sans taches. Le fruit du *C. annuum* est une baie qui peut varier considérablement en couleur, passant du vert lorsqu'il est immature au rouge, au jaune ou à l'orange à maturité, selon le cultivar. L'espèce est connue pour sa teneur en capsaïcine, responsable de la saveur piquante de ses fruits (Hill et al., 2013).

##### III.5.3.2. Composition chimique

Le fruit du *Capsicum annuum* est connu pour contenir une variété d'alkaloïdes, les plus importants étant les capsaïcinoïdes, avec la capsaïcine comme composant principal (Kurkin et al., 2011). Ces capsaïcinoïdes sont responsables du caractère piquant des fruits du poivron et ont été utilisés dans diverses applications thérapeutiques. De plus, les propriétés thérapeutiques du poivron sont attribuées à une gamme d'autres phytochimiques, y compris des flavonoïdes comme



la cosmosiine (Kurkin et al., 2011). En outre, une analyse complète d'un extrait hydro-éthanolique sec de *Capsicum annuum* a révélé la présence de 79 constituants phénoliques bioactifs, soulignant le profil phénolique riche du poivron qui contribue à son activité antioxydante (Ivan et al., 2024).

### III.5.3.3. Classification

**Tableau 04** :Classification du piment(MacBryde, 2006).

Placement Taxonomique	Nom Scientifique
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Capsicum
Espèce	annuum

### III.5.3.4. Les propriétés pharmacologiques

Le *Capsicum annuum* possède un profil pharmacologique riche attribué à sa composition chimique complexe. Il est connu pour ses effets cardio-protecteurs, protégeant potentiellement le système cardiovasculaire en influençant des facteurs tels que la pression artérielle et les niveaux de cholestérol. De plus, il peut avoir des propriétés antilithogènes qui pourraient prévenir la formation de calculs biliaires, un avantage qui complète son influence hypocholestérolémiant, qui aide également à maintenir l'intégrité des érythrocytes. Les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques de cette plante la rendent pertinente pour des conditions telles que l'arthrite et la neuropathie diabétique, offrant un soulagement de la douleur et une réduction de l'inflammation. Son influence thermogénique est une autre caractéristique notable, contribuant à la dépense énergétique et aidant potentiellement dans la gestion du poids. En outre, la capsaïcine favorise la santé gastro-intestinale en stimulant la santé de la muqueuse gastrique, en améliorant la sécrétion de mucus et en prévenant les ulcères gastriques. Le potentiel chimio-préventif de ses composés a

également été suggéré dans des études sur des lignées cellulaires, indiquant une possibilité de prévenir certains types de cancer (Srinivasan, 2015).

Les capsaïcinoïdes, en particulier la capsaïcine, ont montré qu'ils inhibent l'angiogenèse, entravant ainsi la prolifération et l'invasion des cellules endothéliales. Elle peut supprimer l'angiogenèse induite par le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) dans divers modèles expérimentaux. De plus, les capsinoïdes non piquants tels que le capsiate et le dihydrocapsiate présentent également des effets inhibiteurs sur l'angiogenèse induite par le VEGF et les fonctions des cellules endothéliales (Friedman et al., 2019).

# *Études Expérimentales*

## *Chapitre IV.*

### *Matériel et méthodes*

Cette recherche a été menée au sein de l'animalerie de l'Institut des Sciences de la Nature et de la Vie, qui est affilié au Centre Universitaire Abd El Hafidh BOUSSOUF à Mila.

Notre étude s'est concentrée sur l'évaluation de l'effet anti-vasculaire des jus bruts de l'ail (*Allium sativum*) et de l'oignon (*Allium cepa*), ainsi que de la décoction du piment rouge piquant (*Capsicum annum*). Nous avons choisi d'utiliser un test *in ovo* et *ex ovo*, qui consiste à évaluer la croissance des vaisseaux sanguins dans la membrane chorioallantoïque (CAM) de l'embryon de poulet, également connu sous le nom de test CAM (CAM Assay).

#### IV.1. Matériel et Méthodes

##### IV.1.1. Test *in ovo*

##### IV.1.1.1. Collecte des œufs et incubation

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

Pour réduire la contamination provenant de la surface, les œufs ont été soigneusement désinfectés à l'aide d'éthanol à 70%. Ils ont ensuite été séchés à l'air libre. Par la suite, chaque œuf a été marqué avec un numéro distinct, ainsi que la date et l'heure précises de l'incubation.



**Figure 28** : Désinfection des œufs

**Figure 29** : Marquage des œufs

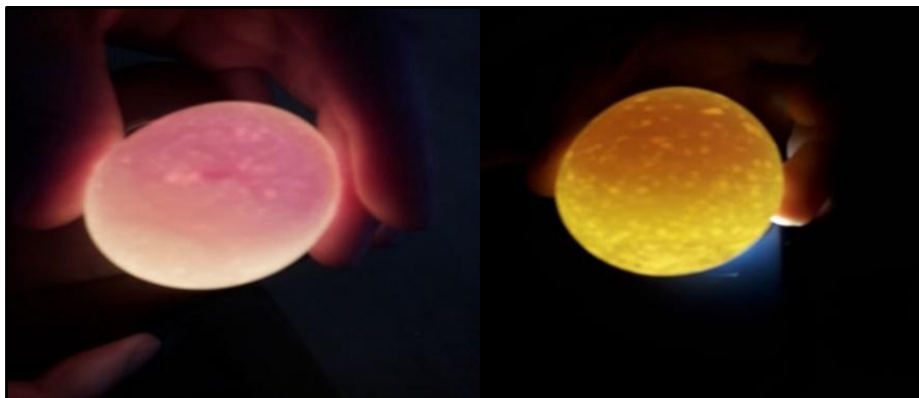
Nous avons placé les œufs dans un incubateur (WQ01) préalablement réglé à une température de 37,5 °C et une humidité relative de 65%. Il est crucial de maintenir ces conditions constantes pendant une durée de 72 heures. Il est également recommandé d'éviter de manipuler ou de tourner les œufs pendant les premières 48 heures. Pour assurer le maintien de ces conditions optimales, une surveillance régulière et rigoureuse de la quantité d'eau présente dans l'incubateur ainsi que de la température ambiante est impérative



**Figure 30** :Incubation des œufs

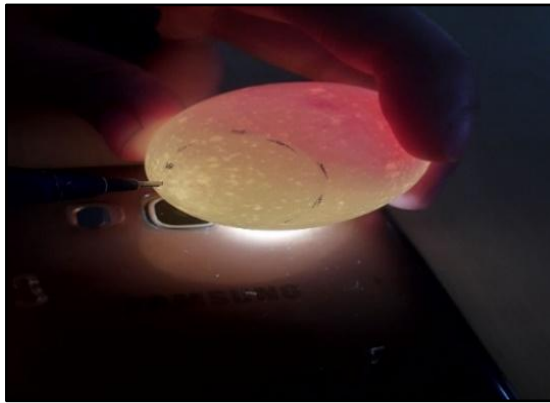
#### IV.1.1.2. Préparation des membranes chorioallantoïdiennes

Au troisième jour d'incubation (E3), nous avons procédé à un mirage des œufs. Le mirage est une technique avicole qui permet à la fois de localiser la chambre à air et d'identifier les œufs non viables afin de les éliminer. Cette méthode consiste à examiner un œuf de quelques jours placé devant une source lumineuse intense. Cela permet de distinguer les signes distinctifs du développement embryonnaire, tels que les filaments, communément appelés 'araignées', qui constituent le futur réseau veineux. Si ces filaments ne sont pas visibles, cela indique que l'œuf n'est pas viable et doit être retiré de l'incubateur.



**Figure 31** :Mirage pour vérifier la fécondité des œufs

Par la suite, nous localisons précisément l'emplacement de la chambre à air et du fœtus. Ensuite, nous perçons délicatement les coquilles des œufs au point le plus pointu à l'aide d'une aiguille de calibre 22Gx1 1/4" (0,70x30mm). Nous prélevons ensuite avec soin 7 ml d'albumen, en veillant à ne pas toucher le jaune d'œuf.



**Figure 32** :Détermination de la chambre à air



**Figure 33** :Prélèvement de l'Albumen

Le prélèvement de l'albumen entraîne la création d'un sac d'air artificiel. Ce phénomène provoque la séparation de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de la coquille de l'œuf. Par la suite, une portion d'environ 3 cm de la surface de la coquille est soigneusement découpée, puis recouverte avec du ruban adhésif transparent pour prévenir toute contamination et la deshydratation. L'embryon sous-jacent, la CAM et les vaisseaux sont alors révélés. Les œufs sont ensuite remis dans l'incubateur jusqu'au jour choisi pour l'application des traitements ou du témoin.



**Figure 34** :réincubation des oufes *in ovo*



**Figure 35** :recouvrir les œufs

#### IV.1.2. Test *ex ovo*

Au début, nous suivons les mêmes étapes de collecte et d'incubation des œufs, en respectant exactement les mêmes recommandations que pour le test *in ovo*. Après 4 jours d'incubation (E4), nous retirons les œufs de l'incubateur et stérilisons la surface avec de l'éthanol à 70 %. Ensuite, nous positionnons les œufs horizontalement pendant 1 à 2 minutes pour assurer un bon positionnement de l'embryon (vers le haut de l'œuf). Nous remplissons

ensuite  $\frac{3}{4}$  de gobelets ou de boîtes en plastique (stérilisés) avec de l'eau stérile, puis nous coupons environ 20 cm de film alimentaire. Nous fixons ce film sur le dessus de la tasse en plaçant un élastique autour, puis nous coupons l'excédent de film. À l'aide d'un bord tranchant (comme le bord d'un seau en métal ou d'un bécher en verre), nous tapotons doucement l'œuf jusqu'à ce qu'il y ait une petite fracture sur la face inférieure de l'œuf, en gardant à l'esprit que l'embryon est positionné sur le dessus. Nous plaçons ensuite nos pouces sur les côtés opposés et séparons les coques horizontalement, laissant glisser doucement le jaune avec l'embryon ainsi que l'albumen sur le film alimentaire, en essayant de ne pas percer le sac vitellin. Si le transfert est effectué correctement, l'embryon doit déjà être positionné sur le dessus. Si ce n'est pas le cas, nous utilisons un objet stérile non tranchant (par exemple, la pointe émoussée de ciseaux courbés fermés) et caressons le jaune de manière à ce que l'embryon se tourne vers le haut. Nous plaçons une boîte de Pétri stérile sur la coupelle pour sceller l'embryon et plaçons la culture dans l'incubateur réglé à 37,5°C et à une humidité d'environ 60%. Au 7ème jour embryonnaire, nous dispersons les morceaux de coquille d'œuf écrasés à la périphérie de l'embryon comme source de calcium pour le développement et la maturation des os.



**Figure 36** :Préparation d'un système de culture d'embryon de poulet *ex ovo*



### IV.1.3. Préparation des substances testées

#### IV.1.3.1. Préparation de la Dexasone® 4mg/ml

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



Figure 37 :dexaméthasone

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



Figure 38 :préparation de Dexasone 4mg/ml

#### IV.1.4. Origine du Matériel biologique (Végétal)

L'ail (*Allium sativum*) et l'oignon (*Allium cepa*) ont été achetés auprès du marché des fruits et des légumes à l'état frais. Le piment rouge piquant a été fourni par un herboriste à l'état sec.

##### IV.1.4.1. Préparation du jus brut de l'ail (*Allium sativum*)

Juste avant l'application sur la CAM, le jus de l'ail (*Allium sativum*) a été obtenu par broyage d'une quantité suffisante d'ail. Ensuite, on procède à la filtration du broyat à travers le papier filtre pour obtenir un suc homogène. Ce dernier qui représente le jus brut (solution mère). Une série de dilution a été préparée selon les facteurs de dilution suivants : (préparation mère),  $\frac{1}{2}$  ;  $\frac{1}{4}$  ;  $\frac{1}{6}$  ;  $\frac{1}{8}$  ;  $\frac{1}{10}$ .



Figure 39 :Préparation du jus de l'ail (*Allium sativum*)

##### IV.1.4.2. Préparation du jus brut de l'oignon (*Allium cepa*)

Le jus brut de l'oignon (*Allium cepa*) a été obtenu en broyant une quantité suffisante d'oignon. Ensuite, le broyat a été filtré à travers un papier filtre pour obtenir un liquide homogène.

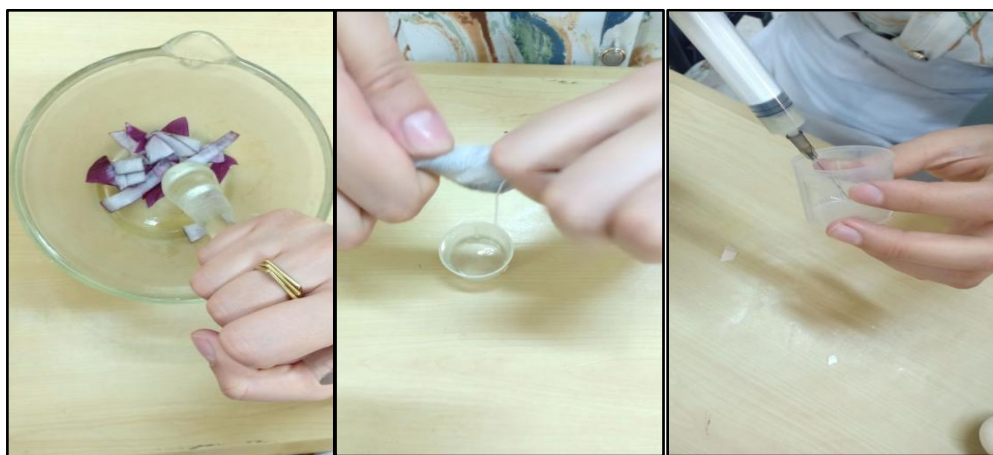


Figure 40 :préparation du jus de l'oignon (*Allium cepa*)

#### IV.1.4.3. Préparation de l'extrait brut du piment rouge (*Capsicum annuum*)

Après avoir soigneusement lavé le piment rouge, nous l'avons séché sous le soleil, puis nous l'avons moulu et tamisé pour obtenir une poudre très fine. Dans l'étape suivante, nous avons dissous 5 g de cette poudre fine dans 50 ml d'eau distillée, laissant le mélange pendant 20 minutes à l'eau bouillante. Par la suite, nous avons filtré le liquide à l'aide d'un papier filtre. La décoction obtenue constitue la solution mère. À partir de cette dernière, nous avons préparé une série de dilutions : la solution mère,  $\frac{1}{2}$  ;  $\frac{1}{4}$  ;  $\frac{1}{6}$  ;  $\frac{1}{8}$  ;  $\frac{1}{10}$ .



Figure 41 :préparation de la décoction du piment rouge piquant (*Capsicum annuum*)

#### IV.1.5. Déroulement du test CAM (*in ovo*)



Figure 42 :Application de 5µl des solutions préparées sur la CAM.

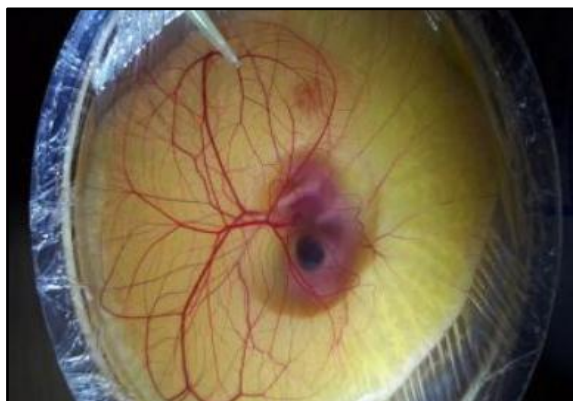
Au huitième jour d'incubation (E8), les œufs préparés au préalable ont été répartis en six groupes distincts. Le premier groupe est un groupe témoin qui n'a reçu aucun traitement. Le deuxième groupe, un autre témoin négatif, a reçu 5µl d'eau physiologique et le troisième groupe témoin positif recevant 2µg de Dexaméthasone. Les trois groupes expérimentaux ont reçu, à l'aide d'une micropipette, 5µl de différentes solutions d'ail (solution mère et ses dilutions), de solutions d'oignon (solution mère et ses dilutions), et de solutions de piment rouge (solution mère et ses dilutions).

Il est important de noter qu'un lot supplémentaire a été incubé dès le premier jour (J0), mais a été laissé intact, c'est-à-dire sans ouvrir la coquille. Ce lot nous permet de vérifier le bon fonctionnement de l'incubateur, comme en témoigne l'éclosion des œufs supplémentaires.

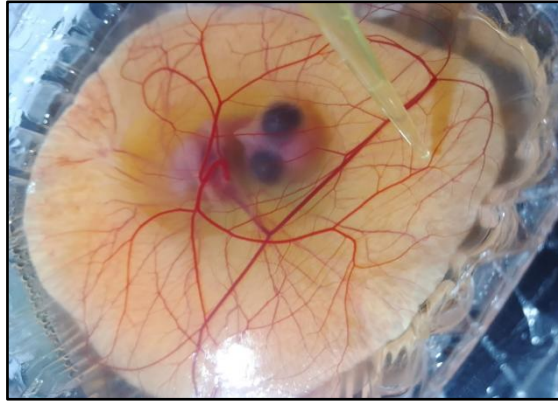
Dans toutes les expérimentations, le produit à tester est déposé directement sur la membrane chorioallantoïdienne (CAM). Les réactions possibles sont ensuite observées immédiatement. Toute apparition d'hémorragie, coagulation, déformation des vaisseaux sanguins, mort de l'embryon, etc., est soigneusement notée. De plus, il est crucial d'enregistrer le temps écoulé avant l'apparition de toute réaction.

#### IV.1.6. Déroulement du test CAM (*ex ovo*)

Au huitième jour de l'incubation (E8), les gobelets/boîtes sont retirés. Nous répétons la même procédure que celle adoptée lors du test CAM *in ovo*. Cependant, dans ce cas, étant donné qu'une grande surface du CAM est exposée, nous avons appliqué 5µl de chaque produit végétal et toutes ses dilutions préparées sur le même CAM à l'aide d'une micropipette. Par la suite, nous observons immédiatement les réactions possibles. Nous notons l'apparition de toute hémorragie, coagulation, déformation des vaisseaux sanguins, mort de l'embryon, etc. De plus, il est important de chronométrer le temps écoulé avant l'observation d'une réaction quelconque.



**Figure 43 :** Application du jus brut de l'ail (*Allium sativum*).



**Figure 44 :** Application du jus brut de l'oignon (*Allium cepa*)



**Figure 45 :** Application de la décoction du piment rouge (*Capsicum annuum*).

## *Chapitre V.*

### *Résultats et discussion*

### V.1. Résultats et discussions

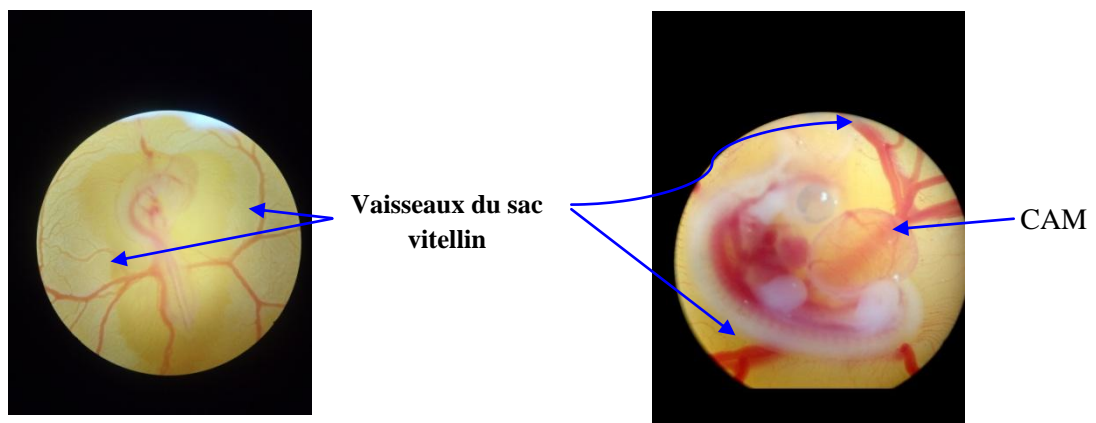
Cette étude préliminaire vise principalement à évaluer le potentiel irritant des jus bruts de l'ail (*Allium sativum*), l'oignon (*Allium cepa*) et la décoction du piment rouge (*Capsicum annuum*). Elle s'inscrit dans une logique de recherche de nouvelles biomolécules d'origine biologique pouvant posséder des propriétés anti-vasculaires.

Le modèle expérimental choisi pour mener ce travail consiste en l'utilisation des vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon de poulet. Ce modèle est couramment utilisé dans l'étude *in vivo* de l'angiogenèse et de l'anti-angiogenèse en raison de sa simplicité, de son coût modeste, de la reproductibilité des résultats, de l'absence de contraintes éthiques et de l'immaturité immunitaire (Ribatti et al., 2001).

Nous avons étudié le développement embryonnaire du poulet, tant *in ovo* qu'*ex ovo*, en utilisant des méthodes d'observation macroscopiques (à l'œil nu et avec la caméra du smartphone Realme C21Y) et microscopiques (avec un stéréomicroscope OPTIKA 20X et 40X).

Ces observations ont abouti aux constatations suivantes :

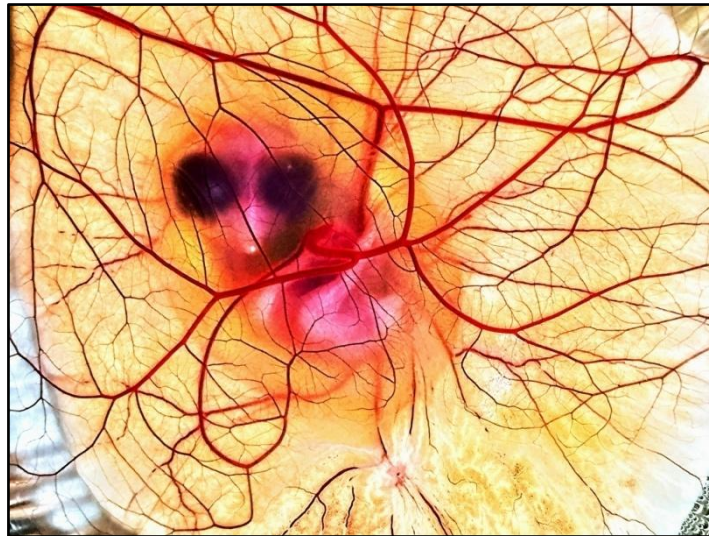
1- Le système circulatoire de l'embryon et de ses structures annexes commence à fonctionner dès le troisième jour d'incubation. Les premiers vaisseaux à se manifester sont ceux du sac vitellin, suivis de près par ceux de la membrane chorioallantoïque (CAM), qui deviennent discernables à partir du quatrième jour d'incubation.



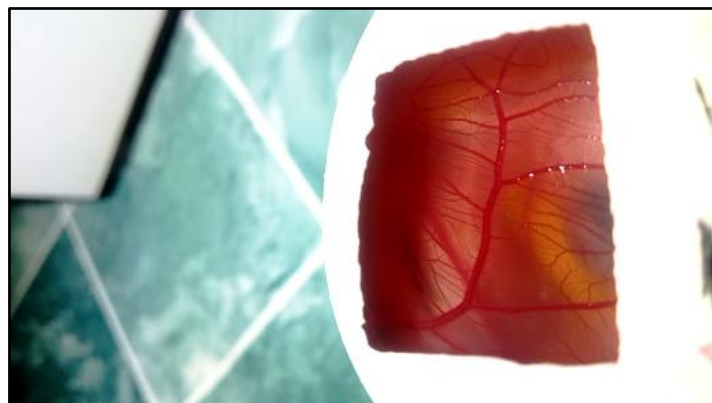
**Figure 46** :Vaisseaux du sac vitellin sous stéréomicroscope à 20X

**Figure 47** :Vaisseaux sanguins de la CAM sous stéréomicroscope 40X

2- La membrane chorioallantoïque (CAM) constitue une structure extra-embryonnaire remarquablement vascularisée, caractérisée par une croissance accélérée. Effectivement, dès le huitième jour d'incubation, elle s'étend pour couvrir intégralement la surface interne observable à travers la fenêtre réalisée sur la coquille. Au cours de cette phase, l'expansion vasculaire de la CAM s'intensifie de manière exponentielle, comme illustré dans la figure . À l'approche du quatorzième jour, la CAM se déploie pour envelopper complètement l'embryon ainsi que ses structures annexes, telles que l'amnios et la vésicule vitelline.



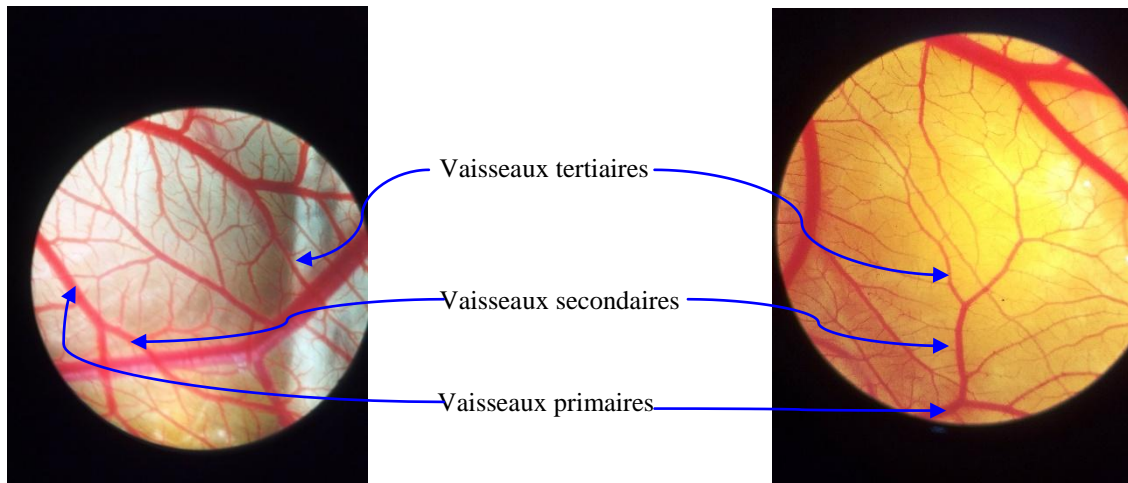
**Figure 48** :CAM Témoin à J8, culture *ex ovo*. Photo améliorée



**Figure 49** :CAM Témoin à J14, *in ovo*



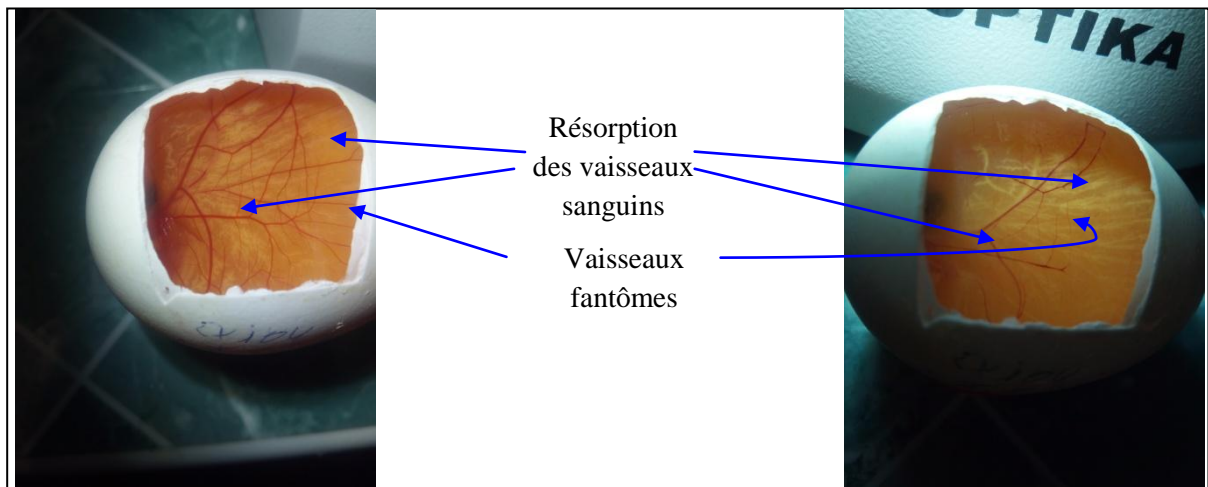
3- La vascularisation de la membrane chorioallantoïque (CAM) se manifeste de manière impressionnante au sein du tissu mésenchymateux, situé juste en dessous de l'épithélium ectodermique. Cette organisation suit un schéma hiérarchique distinct, où l'on peut observer des vaisseaux primaires formant des configurations en 'Y'. Ces derniers constituent le point de départ pour la divergence des vaisseaux sanguins secondaires et tertiaires, permettant ainsi une étude détaillée de l'angiogenèse et du développement vasculaire (figure).



**Figure 50 :** Observation des vaisseaux primaires, secondaires et tertiaires sous stéréomicroscope

4- Il est possible de distinguer différents niveaux d'action des traitements appliqués sur la vascularisation allantoïdienne qu'on classe d'une manière sommaire en :

➤ **Effet Anti-angiogénique de la Dexaméthasone (témoin positif)**



**Figure 51 :** Vascularisation normale de la CAM

**Figure 52 :** Dexaméthasone à J12f (effet antiangiogénique)

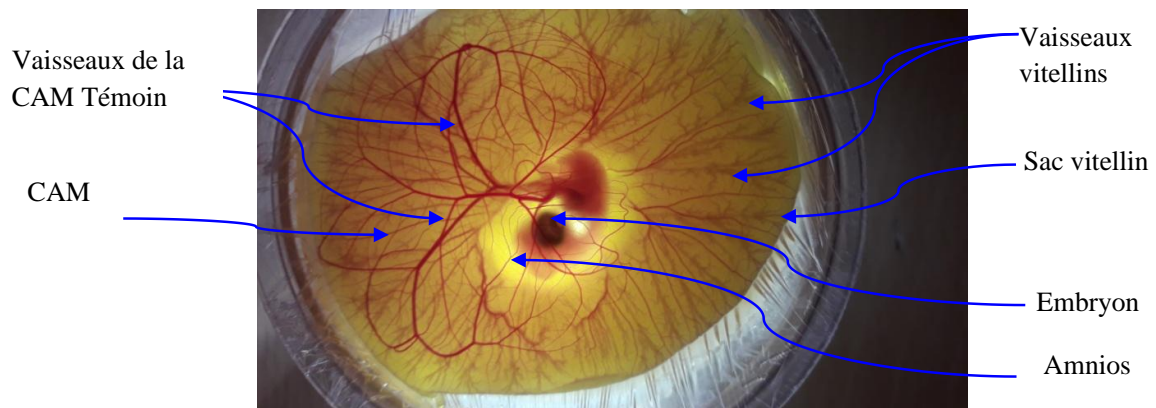
Selon nos données non publiées, l'administration de la Dexaméthasone à une dose de 2 µg réduit de 99 % la vascularisation de la membrane chorioallantoïdienne de l'embryon de poulet par rapport au témoin négatif (recevant uniquement de l'eau physiologique). L'effet de la Dexaméthasone est clair, puissant et statistiquement très significatif ( $p < 0,0001$ ). La Dexaméthasone est un corticostéroïde surrénalien synthétique aux propriétés anti-inflammatoires puissantes. En plus de se lier à des récepteurs stéroïdiens nucléaires spécifiques, la Dexaméthasone interfère également avec l'activation du NF-kB et les voies apoptotiques (NCI04, 2024).

En clinique, la Dexaméthasone a été étudiée pour son utilisation comme traitement antiangiogénique en combinaison avec d'autres agents chimiothérapeutiques (Zhao et al., 2024). En ophtalmologie, ce corticostéroïde reste une référence dans le traitement des affections oculaires liées à l'angiogenèse (Yin et al., 2024).

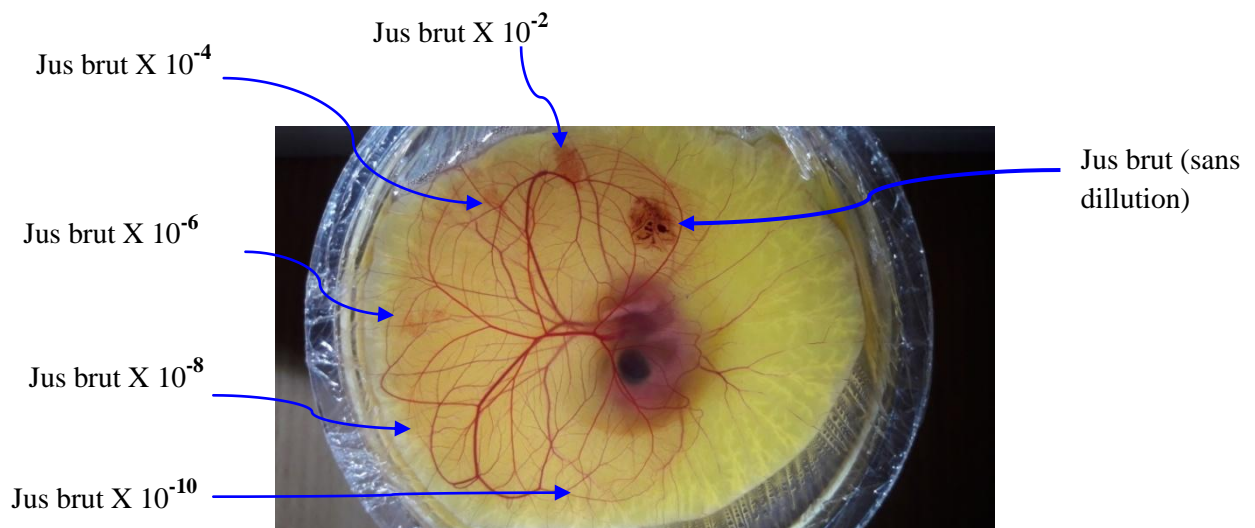
Nos résultats, bien que préliminaires, confirment en partie les observations déjà établies. En effet, nous nous sommes basés sur les travaux de l'équipe de Folkman (1987) pour déterminer la dose testée. Selon ces auteurs, la Dexaméthasone exerce son effet angiostatique à des doses très faibles (1/25ème) comparées à celles de l'hydrocortisone. Ils démontrent ainsi que l'effet antiangiogénique est indépendant de l'effet anti-inflammatoire.

On pense que l'inhibition de la néovascularisation par la dexaméthasone est due à la répression de l'expression du VEGF (Fischer, 2001). Des études suggèrent que l'augmentation de la voie de la gluconéogenèse dans un modèle cellulaire murin pourrait expliquer l'action antiangiogénique de la dexaméthasone (Shang et al., 2016).

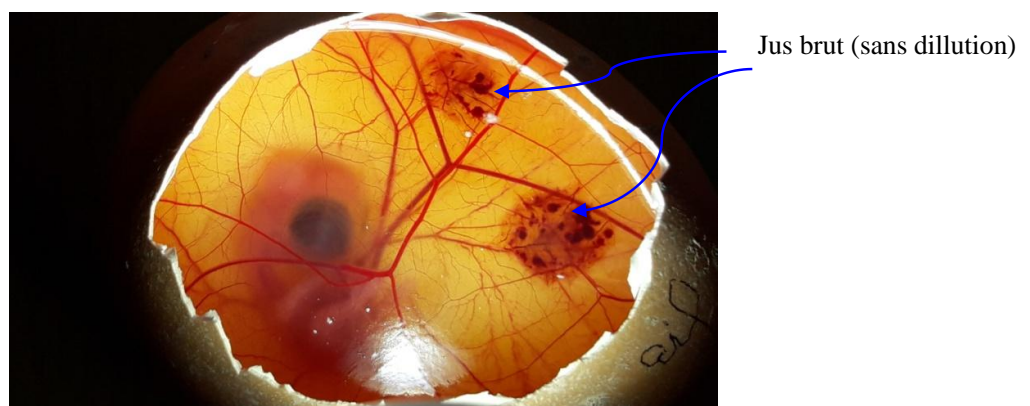
➤ L'extrait brut de l'ail, *Allium sativum*, *in ovo* et *ex ovo*



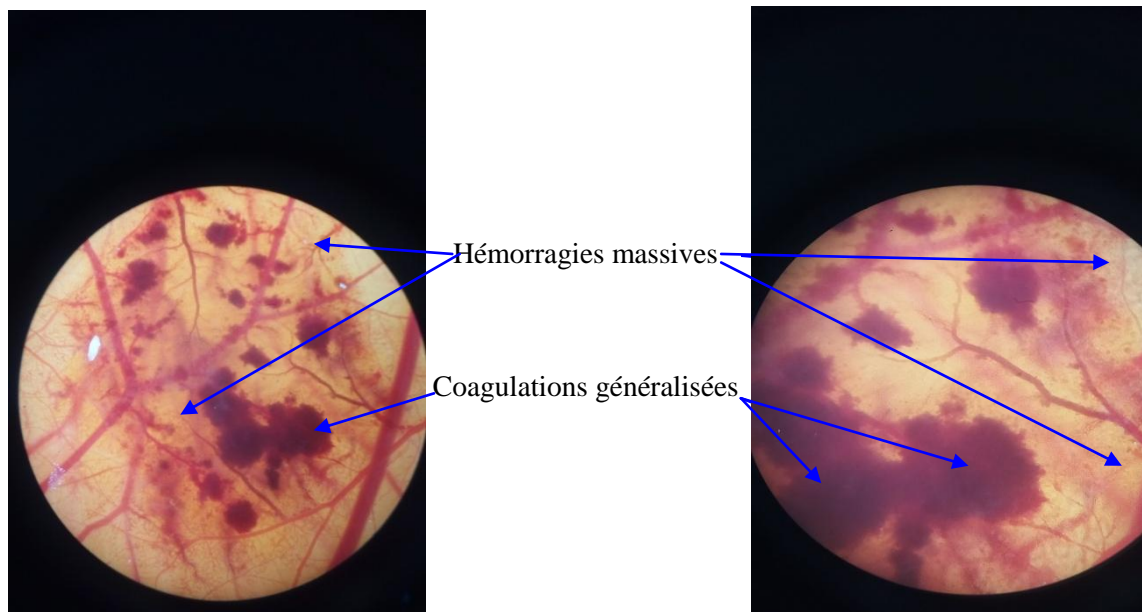
**Figure 53 :** Aspect d'un embryon témoin, *ex ovo*, à J8, et ses annexes extra-embryonnaires : CAM, amnios et sac vitellin



**Figure 54 :** Effets du jus brut de l'ail et ses dilutions sur la CAM, *ex ovo*, à J8.



**Figure 55 :** Effets du jus brut de l'ail sur la CAM appliqué, *in ovo*, à J8.

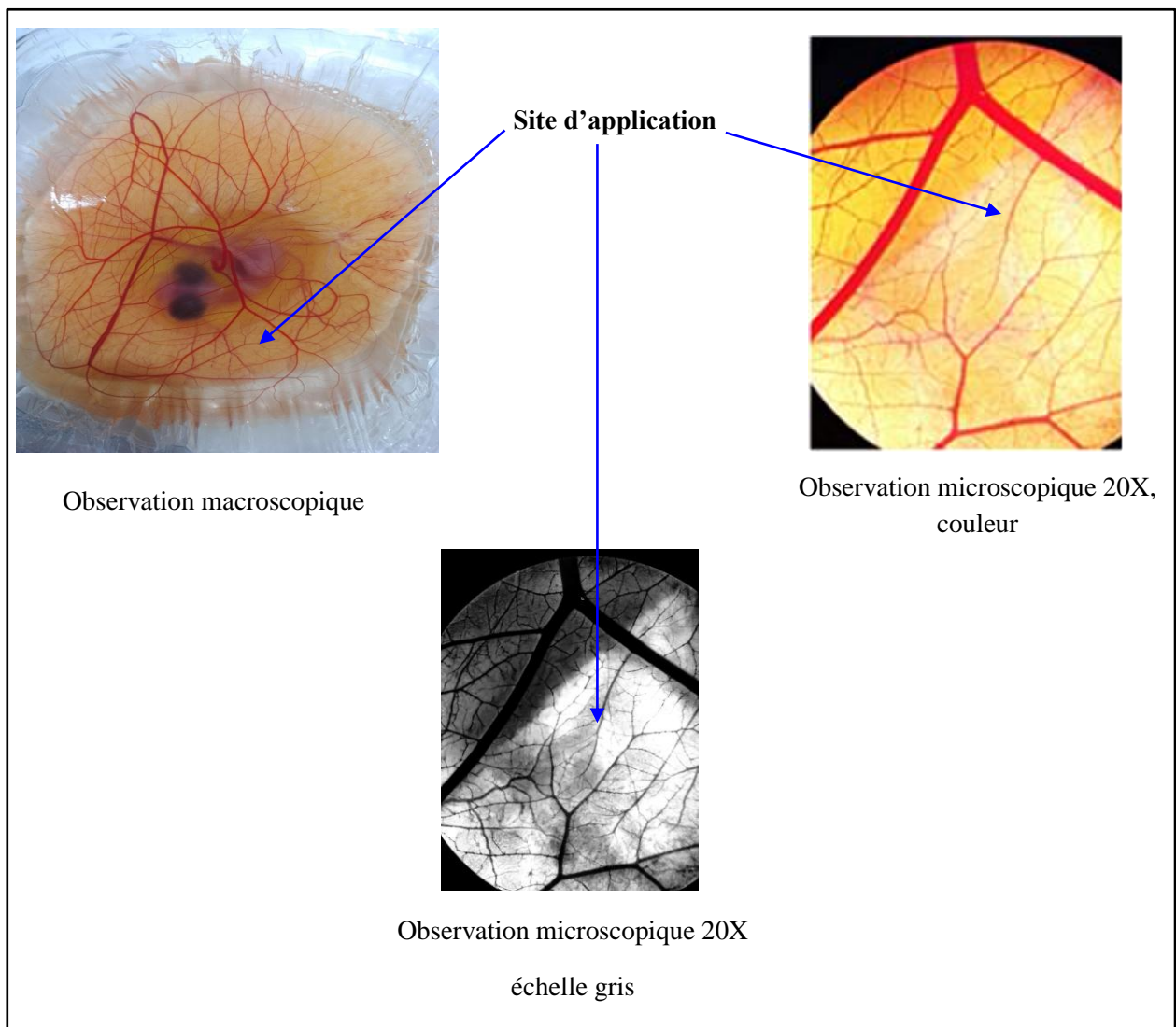


**Figure 56 :** Effet de l'extrait brut de l'ail sur la CAM appliqué, *in ovo*, à J8, observation sous stéréomicroscope 20X (à gauche) et 40X (à droite)

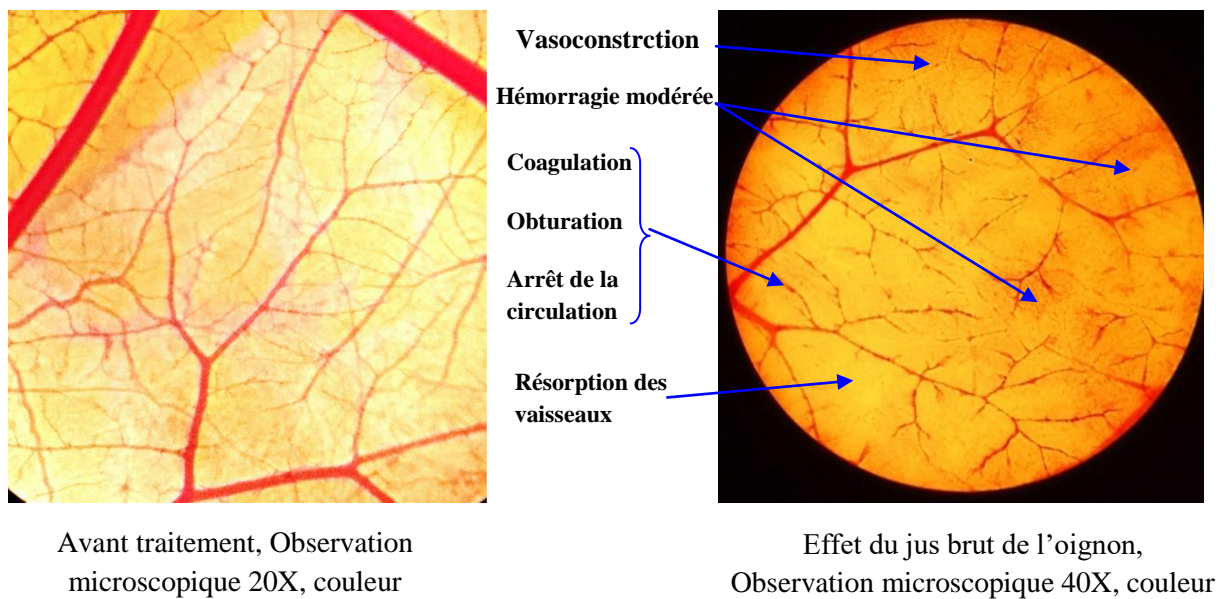
Bien que de nombreuses études montrent clairement que l'ail et ses Composés organosulfurés (COS) possèdent une activité antiangiogénique puissante (Block et al., 2017).il n'existe actuellement aucune étude publiée explorant l'effet irritant de l'ail ou de l'une de ses différentes molécules bioactives. De même, il n'y a pas d'études sur l'exploitation de cet effet dans le traitement antitumoral sous forme de perturbateur vasculaire (VDA). Ceci constitue une originalité de notre travail.

L'ail montre une action puissante et assez particulière. Contrairement à de nombreux produits qui bloquent la formation de nouveaux vaisseaux à partir de ceux préexistants (antiangiogénique), le suc brut d'*Allium sativum* présente un autre mode d'action sur les vaisseaux sanguins, à savoir l'effet destructeur des vaisseaux sanguins, connu sous le nom de vascular disrupting agents (VDAs) (Lippert, 2007).

L'application de l'extrait brut d'ail se traduit par une irritation des CAM, des saignements et des thromboses. Cet effet est évident, puissant, reproductible et confirmé, selon une cinétique dose-dépendante. En outre, il est clair qu'au fur et à mesure que la dose augmente, le temps nécessaire pour observer les séquelles diminue radicalement (à l'ordre de secondes pour l'extrait non dilué). Une équipe tunisienne a obtenu les mêmes résultats que les nôtres, ce qui confirme l'idée que l'extrait d'ail possède un effet perturbateur des vaisseaux sanguins (Hadriche-Jarraya et al., 2021).

➤ Le jus brut de l'oignon, *Allium cepa*, ex ovo**Figure 57** :Témoignage à J 8

On remarque clairement que la disposition des réseaux vasculaires suit un schéma hiérarchique normal, où l'on peut observer des vaisseaux primaires formant des configurations en « Y ». Ces derniers constituent le point de départ pour la divergence des vaisseaux sanguins secondaires et tertiaires (voir figure). Sous stéréomicroscope, il est facile de noter un flux sanguin ordinaire et fluide.



**Figure 58** : Action anti-vasculaire, perturbatrice des vaisseaux par le jus brut de l'oignon

D'après les images recueillies, il semble que le jus brut de l'oignon exerce une action perturbatrice sur les vaisseaux sanguins de la CAM. Dans ces circonstances, on observe des plages d'hémorragie modérée, des sites de coagulation, une lyse vasculaire (essentiellement des vaisseaux de petit diamètre), une vasoconstriction, voire même l'obstruction et l'arrêt du flux sanguin au niveau de la zone traitée. Il est opportun de signaler que pas plus de 90 minutes se sont écoulées avant l'apparition des manifestations susmentionnées. À l'évidence, vue la courte durée et la forte concentration (jus brut sans dilution), on considère que le produit en question est doté de capacités destructrices à l'égard des vaisseaux sanguins. Nous n'avons pas réussi à vérifier une quelconque activité anti-angiogénique. Cette situation s'explique par le fait que nous avons perdu les embryons réservés pour l'application des différentes dilutions du jus de l'oignon.

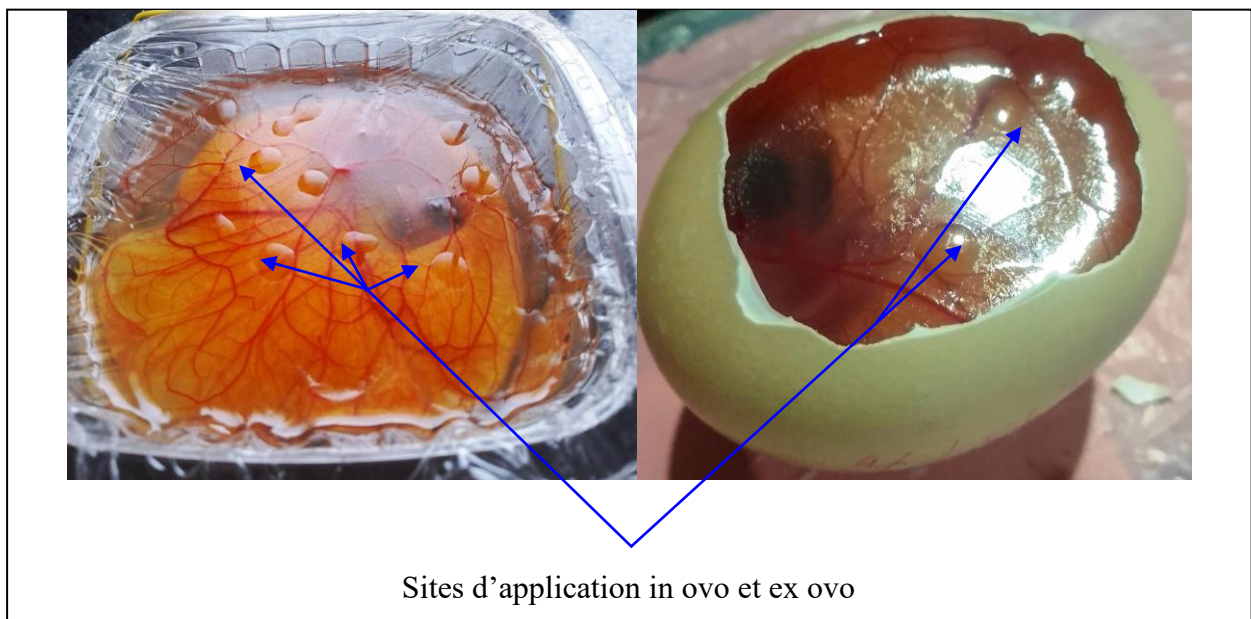
Cependant, alors que des études précédentes prétendent démontrer l'existence d'une action anti-angiogénique du jus de l'oignon (Castor et al., 2014), il semble, d'après la littérature scientifique consultée, que nous sommes la première équipe à apporter des prémices de preuve sur l'existence d'une action irritante vis-à-vis de la vascularisation.

Il est admis que différentes familles chimiques sont impliquées dans l'activité anti-angiogénique de l'oignon. Selon (Majnooni et al, 2023), les saponines présentent des effets anti-angiogéniques significatifs. Cette propriété semble résulter, d'une part, de l'inhibition de l'expression des gènes : les saponines inhibent l'expression des gènes liés au facteur de

croissance endothéliale vasculaire (VEGF) et au facteur induit par l'hypoxie 1- $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ), et d'autre part, de l'inhibition des voies de signalisation inflammatoires qui stimulent l'angiogenèse, telles que les cytokines pro-inflammatoires, les kinases activées par les mitogènes (MAPKs) et les phosphoinositide 3-kinases/protéine kinase B (PI3K/Akt). Les flavonoïdes de la peau d'oignon ont montré une inhibition significative de la prolifération des vaisseaux sanguins dans le test CAM (Castor et al., 2014).

Concernant nos propres constatations, il se peut que le jus de l'oignon exerce une répression des molécules d'adhésion cellulaire, comme L1CAM, ce qui explique les seignements. De plus ce produit provoque la mort des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine, HUVEC (Uttarawichien et al., 2021). Ce qui pourrait expliquer la résorption (lyse) des vaisseaux sanguins de la CAM.

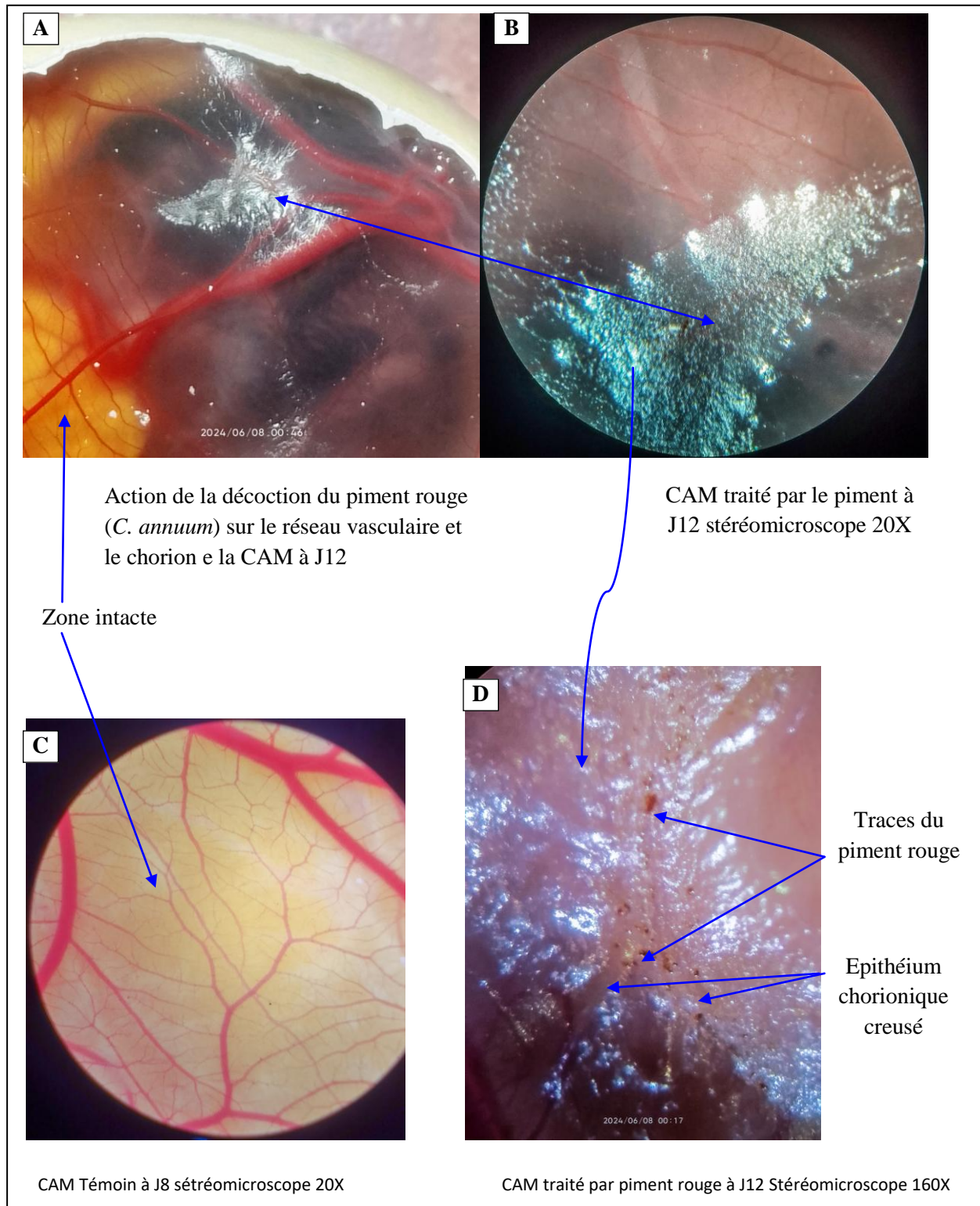
- **Action de la décoction du piment rouge piquant sur les vaisseaux de la CAM, *in ovo* et *ex ovo***



**Figure 59 :**Sites d'application in ovo et ex ovo

Le modèle expérimental choisi pour mener ce travail consiste en les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïdienne (CAM) de l'embryon du poulet. La variante *in ovo* offre des conditions comparables à la situation physiologique. Cependant, vue l'étroite fenêtre d'observation, il devient difficile de répliquer l'intervention sur le même CAM. De plus ceci affaiblit la résolution des photos. Alors que le modèle *ex ovo* permet une surface d'application

assez large et une meilleure visibilité. Toutefois, la culture hors de la coquille crée des conditions artificielles ce qui augmente le taux de mortalité.



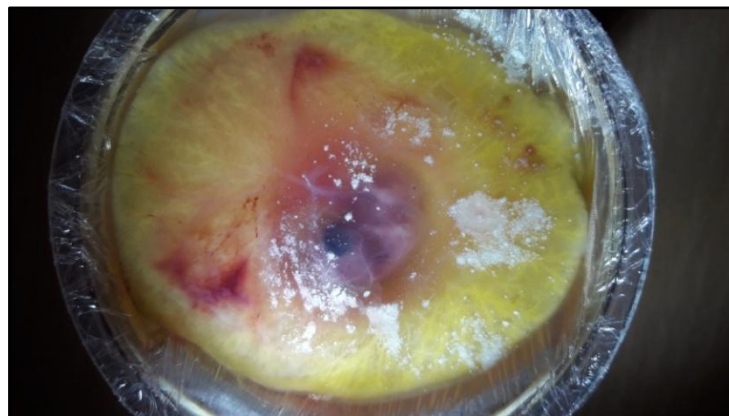
**Figure 60 :**(A)Action de la décoction du piment rouge (*C. annuum*) sur le réseau vasculaire et le chorion e la CAM à J12, (B)Action de la décoction du piment rouge (*C. annuum*) sur le réseau vasculaire et le chorion e la CAM à J12, CAM traité par le piment à J12 stéréomicroscope 20X, (C)CAM témoin à J8 sétréomicroscope 20X, (D)CAM traité par le piment rouge à J12 sétréomicroscope 160X



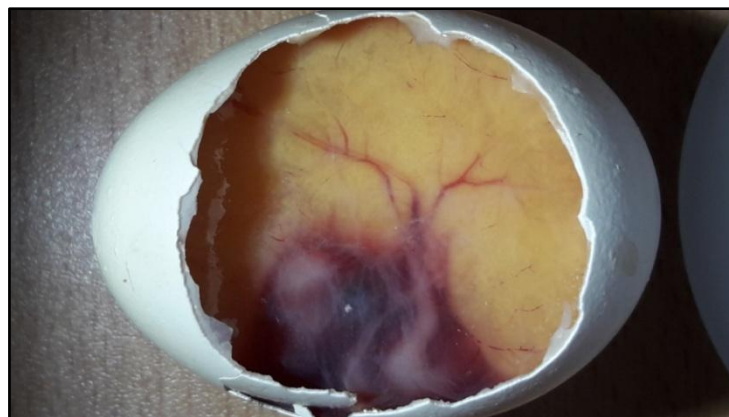
Contrairement à l'ail et à l'oignon, cette décoction n'a pas provoqué d'hémorragie, de coagulation ou de résorption des vaisseaux sanguins dans les 48 heures suivant l'application.

Cependant, après 72 heures, une disparition totale des vaisseaux sanguins au site d'application a été constatée, ainsi qu'une atteinte de l'épithélium chorionique. Le délai de 72 heures avant l'apparition des effets suggère que la décoction pourrait agir comme un agent anti-angiogénique. L'effet sur l'épithélium chorionique pourrait être dû à la forte dose appliquée. Des études récentes confirment notre point de vue stipulant que le piment rouge exerce une action anti-angiogénique sur les vaisseaux de la CAM (Patil et al., 2023). Les capsaïcinoïdes présentent une activité anti-angiogénique robuste, inhibant la formation de nouveaux vaisseaux sanguins (Friedman et al., 2019). Les capsaïcinoïdes influencent diverses voies moléculaires, y compris celles liées à l'adhésion cellulaire, au remodelage de la matrice extracellulaire et aux voies de signalisation comme TRPV1 (Luján-Méndez, 2023).

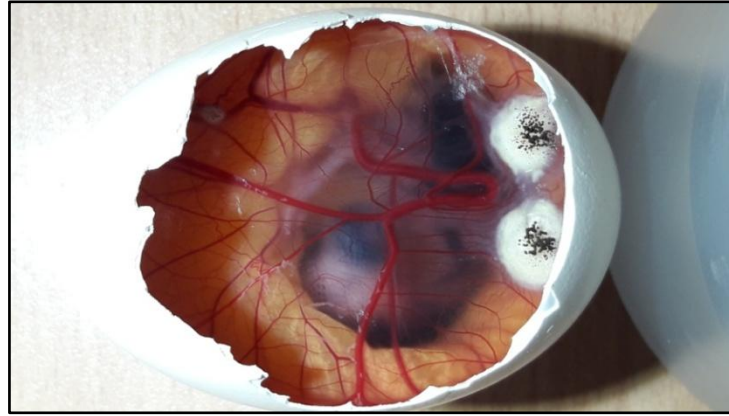
5-un taux de mortalité considérable dans tous les groupes. Ceci peut être dû à des facteurs externes à l'expérimentation (infections, conditions climatiques,...), donc difficile à contrôler.



**Figure 61** :Embryon mort *ex ovo*



**Figure 62** :Embryon mort *in ovo*



**Figure 63 :** Embryon (CAM) infecté

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

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

## *Conclusion*

## Conclusion

Dans le cadre de cette étude, nous avons mené des expérimentations sur les vaisseaux sanguins de la membrane chorioallantoïque, à la fois *in ovo* et *ex ovo*. Ces investigations ont porté sur des préparations de l'ail rouge (*Allium sativum*), du piment rouge piquant (*Capsicum annuum*) et de l'oignon rouge (*Allium cepa*).

Les observations préliminaires suggèrent que le jus brut de l'ail possède un effet irritant puissant, confirmé et reproductible. Cette préparation (*Allium sativum*) provoque un effondrement total de la circulation sur toute la zone exposée. Cet effet se traduit par une hémorragie intense, une coagulation généralisée (thrombose), l'observation d'une hyperémie et d'une vasodilatation, une interruption du flux sanguin et l'émergence de vaisseaux sanguins fantômes. L'intensité de ces phénomènes semble suivre une cinétique dépendante de la dose alors que le temps de leur émergence varie inversement à la dose. En revanche, le jus brut d'oignon semble présenter une action modérée de perturbation des vaisseaux sanguins. Il bloque la circulation, provoque des thromboses éparses et de légères hémorragies au niveau des plexus capillaires.

À l'opposé, la décoction brute de piment rouge semble agir par un mécanisme anti-angiogénique sur le réseau vasculaire et pourrait irriter l'épithélium chorionique. Ce produit agit tardivement et provoque une lyse des vaisseaux sanguins.

De plus, dans les conditions expérimentales définies, les trois plantes n'entraînent aucune mortalité des embryons. Il est important de signaler que l'ail agit immédiatement, tandis que les deux autres plantes tardent à agir, en particulier le piment, dont les effets ne se manifestent qu'après 72 heures.

Dans une perspective thérapeutique, ces observations suggèrent que les produits étudiés pourraient être recommandés pour des explorations approfondies. Ils représenteraient des candidats de choix dans la recherche de traitements anticancéreux ciblant la vascularisation tumorale par une approche de thérapie anti-vasculaire ciblée.

Enfin, il est nécessaire de continuer à approfondir cette recherche pour les raisons suivantes :

- Revérifier les données recueillies en utilisant un échantillon plus large pour une meilleure représentativité ;
- Enrichir l'investigation en effectuant des analyses histologiques pour obtenir des informations plus détaillées ;
- Utiliser des modèles expérimentaux plus sophistiqués, tels que les cultures cellulaires, le Matrigel, et le modèle murin, permettrait d'aborder les mécanismes à l'origine des observations enregistrées.
- Fractionner les préparations végétales étudiées pour identifier la nature chimique des molécules responsables des effets ;
- Tester des mixtures contrôlées dans le but de rechercher une synergie entre les différents composants.

## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Acharya, B., Dey, S., Sahu, P. K., Behera, A., Chowdhury, B., & Behera, S. (2024). Perspectives on chick embryo models in developmental and reproductive toxicity screening. *Reproductive Toxicology*, *126*, 108583.
- Adams, R. H., & Alitalo, K. (2007). Molecular regulation of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, *8*(6), 464-478.
- Aird, W. C. (2007a). Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation Research*, *100*(2), 158-173.
- Almagro, S., Durmort, C., Chervin-Petinot, A., Heyraud, S., Dubois, M., Lambert, O., Maillefaud, C., Hewat, E., Schaal, J. P., Huber, P., & Gulino-Debrac, D. (2010). The motor protein myosin-X transports VE-cadherin along filopodia to allow the formation of early endothelial cell-cell contacts. *Molecular and Cellular Biology*, *30*(7), 1703-1717.
- Ambinon, J., Delvosalle, L., & Duvigneaud, J. (2004). *Nouvelle Flore de la Belgique, duché de Luxembourg, du nord de la France et des Régions voisines (ptéridophytes et spermatophytes)*. Meise, Belgium: Edition du patrimoine national de Belgique.
- Arul, B., & Kothai, R. (2020). Anticancer effect of capsaicin and its analogues. In *Capsicum*. London, UK: IntechOpen.
- Azzi, S., & Gavard, J. (2014). Vaisseaux sanguins et tumeurs ou l'art du dialogue. *Médecine/Sciences*, *30*(5), 408-414.
- Beenken, A., & Mohammadi, M. (2009). The FGF family: Biology, pathophysiology and therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, *8*(3), 235-253.
- Bergers, G., & Benjamin, L. E. (2003). Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature Reviews Cancer*, *3*(6), 401-410.
- Bernex, F., & De Santa Barbara, P. (2012). L'embryon de poulet, modèle d'étude du développement du tube digestif. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, *165*(1), 67-72.
- Bielenberg, D. R., & Zetter, B. R. (2015). The contribution of angiogenesis to the process of metastasis. *Cancer Journal (Sudbury, Mass.)*, *21*(4), 267.
- Bikfalvi, A. (2006). Angiogenèse tumorale. *Bulletin du Cancer*, *93*, 154-164.
- Bikfalvi, A. (2017). History and conceptual developments in vascular biology and angiogenesis research: a personal view. *Angiogenesis*, *20*(4), 463-478.
- Bikfalvi, A., Javerzat, S., Perollet, C., & Savona, C. (1997). Angiogenèse et cancer. *Bulletin du Cancer*, *84*(9), 885-890.
- Bitesize Bio. (n.d.). The CAM Assay: An Overview of the Chicken Chorioallantoic Membrane Assay. Retrieved April 20, 2024, from <https://bitesizebio.com/>
- Block, E., Bechand, B., Gundala, S., Vattekkatte, A., Wang, K., Mousa, S. S., ... & Mousa, S. A. (2017). Fluorinated analogs of organosulfur compounds from garlic (*Allium sativum*): synthesis, chemistry and anti-angiogenesis and antithrombotic studies. *Molecules*, *22*(12), 2081.

- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Science*, *161*(5), 839-851.
- Bracken, C. P., Whitelaw, M. L., & Peet, D. J. (2003). The hypoxia-inducible factors: key transcriptional regulators of hypoxic responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *60*, 1376-1393.
- Brégeon, M., Labas, V., Réhault-Godbert, S., & Guyot, N. (2018). Analyse protéomique des couches interne et externe de la membrane vitelline de l'œuf de poule (*Gallus gallus*).
- Burnet, F. M. (1933). A Virus Disease of the Canary of the Fowl-Pox Group.
- Carmeliet, P. (2000). Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nature Medicine*, *6*(4), 389-395. Carmeliet, P. (2005). VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*, *69*(Suppl. 3), 4-10.
- Carmeliet, P., & Jain, R. K. (2011). Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, *473*, 298-307.
- Castor, A. C. A., Aldovino, R. A. M., Dimaano, G. A., Fernandez, M. C. S., Magno, C. M. D., Cabanela, R. A., & Dumaoal, O. S. R. Anti-angiogenic effect of flavonoid content of *Allium cepa* L. var. *ascalonicum* Backer (onion) skin on chick chorioallantoic membrane.
- Chae, S. S., Paik, J. H., Allende, M. L., Proia, R. L., & Hla, T. (2004). Regulation of limb development by the sphingosine 1-phosphate receptor S1p1/EDG-1 occurs via the hypoxia/VEGF axis. *Developmental Biology*, *268*(2), 441-447.
- Chauhan, R., Reddy, G. N., Muneeswari, M., Arivukodi, D., Niveditha, N., Usharani, B., & Shobana, C. (2022). Chick Chorioallantoic Membrane (CAM) Assay as an In Vivo Model to Study the Anti-angiogenesis and Anti-inflammatory activity of Nano-HSP. *Pharmacology & Pharmacy*.
- Chen, L., Wang, S., Feng, Y., Zhang, J., Du, Y., Zhang, J., ... & Li, Y. (2021). Utilisation of chick embryo chorioallantoic membrane as a model platform for imaging-navigated biomedical research. *Cells*, *10*(2), 463.
- Cleaver, O., & Melton, D. A. (2003). Endothelial signaling during development. *Nature Medicine*, *9*(6), 661-668.
- Delgado-Bellido, D., Oliver, F. J., Vargas Padilla, M. V., Lobo-Selma, L., Chacón-Barrado, A., Díaz-Martin, J., & de Álava, E. (2023). VE-Cadherin in Cancer-Associated Angiogenesis: A Deceptive Strategy of Blood Vessel Formation. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(11), 9343.
- Deshmukh, A., Moosa, R., & Mishra, B. (2023). Evaluation of Angiogenic potential of different medicinal herbs using CAM Assay. *International Journal of Novel Research and Development*.
- Desroches-Castan, A. (2014). *Inhibition de l'angiogenèse tumorale : criblage d'une chimiothèque et caractérisation d'un nouveau composé agissant sur la voie de signalisation Ras-ERK* (Doctoral dissertation, Université Joseph Fourier).



- Djonov, V., Baum, O., & Burri, P. H. (2003). Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. *Cell and tissue research*, 314(1), 107-117.
- Donnem, T., Hu, J., Ferguson, M., Adighibe, O., Snell, C., Harris, A. L., ... & Pezzella, F. (2013). Vessel co-option in primary human tumors and metastases: an obstacle to effective anti-angiogenic treatment?. *Cancer medicine*, 2(4), 427-436.
- Eddouks, M., Ouahidi, M. L., Farid, O., Moufid, A., Khalidi, A., & Lemhadri, A. (2007). The use of medicinal plants in the treatment of diabetes in Morocco. *Phytotherapie*, 5(4), 194-203.
- Esper, R. J., Nordaby, R. A., Vilarino, J. O., Paragano, A., Cacharron, J. L., & Machado, R. A. (2006). Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal. *Cardiovasc Diabetol*, 5, 4.
- Farhat, Z., Hershberger, P. A., Freudenheim, J. L., Mammen, M. J., Blair, R. H., Aga, D. S., & Mu, L. (2021). Types of garlic and their anticancer and antioxidant activity: a review of the epidemiologic and experimental evidence. *European Journal of Nutrition*, 60(12), 3585–3609.
- Ferrara, N., Gerber, H., & LeCouter, J. (2003). The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*, 9(6), 669-676.
- Figg, W. D., & Folkman, J. (Eds.). (2008). *Angiogenesis: an integrative approach from science to medicine*. Springer Science & Business Media.
- Fischer, A., & Alsina-Sanchis, E. (2024). Disturbed endothelial cell signaling in tumor progression and therapy resistance. *Current Opinion in Cell Biology*, 86, 102287.
- Fischer, S., Renz, D., Schaper, W., & Karliczek, G. F. (2001). In vitro effects of dexamethasone on hypoxia-induced hyperpermeability and expression of vascular endothelial growth factor. *European Journal of Pharmacology*, 411(3), 231-243.
- Folkman, J. (1971). Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *New England Journal of Medicine*, 285(21), 1182-1186.
- Folkman, J. (2007). Angiogenesis: An organizing principle for drug discovery? *Nature Reviews Drug Discovery*, 6, 273-286.
- Folkman, J., & Ingber, D. E. (1987). Angiostatic steroids. Method of discovery and mechanism of action. *Annals of Surgery*, 206(3), 374.
- Fontaine, M. (2017). *Etude de la communication entre les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires via le transfert de microARN*.
- Fridman, W. H., & Sautès-Fridman, C. (2014). Le microenvironnement tumoral-Matrice nourricière, champ de bataille et cible thérapeutique des cancers. *Médecine/Sciences*, 30(4), 359-365.
- Friedman, J. R., Richbart, S. D., Merritt, J. C., Brown, K. C., Denning, K. L., Tirona, M. T., ... & Dasgupta, P. (2019). Capsaicinoids: Multiple effects on angiogenesis, invasion and metastasis in human cancers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 118, 109317.
- Gabrielli, M. G., & Accili, D. (2010). The chick chorioallantoic membrane: a model of molecular, structural, and functional adaptation to transepithelial ion transport and barrier function during embryonic development. *BioMed Research International*, 2010.

Gambogou, B., Ameyapoh, Y. A., Gbekley, H. E., Soncy, K., Anani, K., & Karou, S. D. Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs.

Gambogou, B., Ameyapoh, Y. A., Gbekley, H. E., Soncy, K., Anani, K., & Karou, S. D. Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs.

Garcia, J., Hurwitz, H. I., Sandler, A. B., Miles, D., Coleman, R. L., Deurloo, R., & Chinot, O. L. (2020). Bevacizumab (Avastin®) dans le traitement du cancer : bilan de 15 ans d'expérience clinique et perspectives d'avenir. *Examens du traitement du cancer*, 86, 10201.

Garcia, J., Hurwitz, H. I., Sandler, A. B., Miles, D., Coleman, R. L., Deurloo, R., & Chinot, O. L. (2020). Bevacizumab (Avastin®) dans le traitement du cancer : bilan de 15 ans d'expérience clinique et perspectives d'avenir. *Examens du traitement du cancer*, 86, 10201.

Gerhardt, H., et al. (2003). VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J Cell Biol*, 161(6), 1163-1177.

Gerhardt, H., et al. (2003). VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J Cell Biol*, 161(6), 1163-1177.

Guérin-Dubiard, C., Anton, M., Gautron, J., Nys, Y., & Nau, F. (2010). Composition de l'oeuf. *Science et technologie de l'oeuf*, 2, 1-176.

Guérin-Dubiard, C., Anton, M., Gautron, J., Nys, Y., & Nau, F. (2010). Composition de l'oeuf. *Science et technologie de l'oeuf*, 2, 1-176.

Guibert, V. (2023). Histoire naturelle et médicale des nouveaux médicaments ; Introduits dans la thérapeutique depuis 1830 jusqu'à nos jours. BoD–Books on Demand.

Guibert, V. (2023). Histoire naturelle et médicale des nouveaux médicaments ; Introduits dans la thérapeutique depuis 1830 jusqu'à nos jours. BoD–Books on Demand.

Hanelt, P. (1990). Taxonomy, evolution, and history. In H. D. Rabinowitch & J. L. Brewster (Eds.), *Onions and allied crops* (Vol. 1, pp. 1-26). CRC Press.

Hadriche-Jarraya, H., Limam, F., Aouani, E., Amri, M., & Mokni, M. (2021). Vasomodulatory effects of semi-purified fractions of garlic aqueous extract on chick chorioallantoic membrane. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(3).

Hadriche-Jarraya, H., Limam, F., Aouani, E., Amri, M., & Mokni, M. (2021). Vasomodulatory effects of semi-purified fractions of garlic aqueous extract on chick chorioallantoic membrane. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34(3).

Hardy, G. (n.d.). The Uses of Plants in Medicine in Ancient Greece and Rome. Royal College of Physicians of Edinburgh. Retrieved from the RCPE website.

Hardy, G. (n.d.). The Uses of Plants in Medicine in Ancient Greece and Rome. Royal College of Physicians of Edinburgh. Retrieved from the RCPE website.

- Harris, J. J. (1958). The human tumor grown in the egg. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 76(3), 764-774.
- Harris, J. J. (1958). The human tumor grown in the egg. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 76(3), 764-774.
- Hasani, A., & Leighl, N. (2011). Classification and toxicities of vascular disrupting agents. *Clinical lung cancer*, 12(1), 18-25.
- Hasani, A., & Leighl, N. (2011). Classification and toxicities of vascular disrupting agents. *Clinical lung cancer*, 12(1), 18-25.
- Hellstrom, M., Phng, L. K., & Gerhardt, H. (2007). VEGF and notch signaling: The yin and yang of angiogenic sprouting. *Cell adhesion & migration*, 1, 133-136.
- Hellstrom, M., Phng, L. K., & Gerhardt, H. (2007). VEGF and notch signaling: The yin and yang of angiogenic sprouting. *Cell adhesion & migration*, 1, 133-136.
- Hill, T. A., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Yao, J., Stoffel, K., Truco, M. J., ... & Van Deynze, A. (2013). Characterization of *Capsicum annum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene Pepper GeneChip. *PloS one*, 8(2), e56200.
- Hill, T. A., Ashrafi, H., Reyes-Chin-Wo, S., Yao, J., Stoffel, K., Truco, M. J., ... & Van Deynze, A. (2013). Characterization of *Capsicum annum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigene Pepper GeneChip. *PloS one*, 8(2), e56200.
- Hubert, S., & Abastado, J. P. (2014). Les étapes précoces du processus métastatique. *médecine/sciences*, 30(4), 378-384.
- Hy-Line International. (2017). Structure de la coquille de l'œuf [Drawing]. In *Technical Update: Equipment for Rearing Commercial Layers*. Retrieved from <https://www.hyline.com/Upload/Resources/TU%20EQ%20FRN.pdf>
- Iarc. (2020, December 15). Latest global cancer data: cancer burden rises to 19.3 million new cases and 10.0 million cancer deaths in 2020. International agency for research on cancer. Retrieved August 5, 2023, from <https://www.iarc.who.int/fr/news-events/latest-global-cancer-data-cancer-burden-rises-to-19-3-million-new-cases-and-10-0-million-cancer-deaths-in-2020/>
- Iarc. (2021). Cancer today population fact sheets: Algeria [PDF file]. Global cancer observatory. Retrieved August 6, 2023, from <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/12-algeria-fact-sheets.pdf>
- Inserm. (2017, August 11). Qu'est-ce que la règle des 3 R ? In *Inserm, La science pour la santé*. Retrieved April 20, 2024, from <https://www.inserm.fr/modeles-animaux/qu-est-regle-3-r/>
- Iruela-Arispe, M. L., Luque, A., & Lee, N. (2004). Thrombospondin modules and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, 36(6), 1070-1078.

- Ivan, I. M., Popovici, V., Chițescu, C. L., Popescu, L., Luță, E. A., Ilie, E. I., ... & Gîrd, C. E. (2024). Phytochemical Profile, Antioxidant and Cytotoxic Potential of *Capsicum annuum* (L.) Dry Hydro-Ethanollic Extract. *Pharmaceutics*, 16(2), 245.
- Ivan, I. M., Popovici, V., Chițescu, C. L., Popescu, L., Luță, E. A., Ilie, E. I., ... & Gîrd, C. E. (2024). Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic potential of *Capsicum annuum* (L.) dry hydro-ethanollic extract. *Pharmaceutics*, 16(2), 245.
- Jain, R. K. (2003). Molecular regulation of vessel maturation. *Natural Medicines*, 9(6), 685-693. <https://doi.org/10.1038/nm0603-685>
- Jain, R. K., Martin, J. D., & Stylianopoulos, T. (2014). The role of mechanical forces in tumor growth and therapy. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16, 321.
- Joniová, J., & Wagnières, G. (2022). The chicken embryo chorioallantoic membrane as an in vivo model for photodynamic therapy. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2451, pp. 107-125). Springer Nature.
- Kabiraj, A., Jaiswal, R., Singh, A., Gupta, J., Singh, A., & Samadi, F. M. (2018). Immunohistochemical evaluation of tumor angiogenesis and the role of mast cells in oral squamous cell carcinoma. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 14, 495.
- Kadi, A. (2008). *Etude de la régulation de la production de l'oxyde nitrique, dans les cellules endothéliales, en réponse à un  $\beta$  bloquant de troisième génération à action antihypertensive* (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré, Nancy-I).
- Karnofsky, D. A., Ridgway, L. P., & Patterson, P. A. (1952). Tumor transplantation to the chick embryo. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 55(2), 313-329.
- Kaufman, N., Kinney, T. D., Mason, E. J., & Prieto Jr, L. C. (1956). Maintenance of human neoplasm on the chick chorioallantoic membrane. *The American Journal of Pathology*, 32(2), 271.
- Kelly, B. D., et al. (2003). Cell type-specific regulation of angiogenic growth factor gene expression and induction of angiogenesis in nonischemic tissue by a constitutively active form of hypoxia-inducible factor 1. *Circulation Research*, 93(11), 1074-1081.
- Kennedy, D. C., Coen, B., Wheatley, A. M., & McCullagh, K. J. (2021). Microvascular experimentation in the chick chorioallantoic membrane as a model for screening angiogenic agents including from gene-modified cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 452.
- Kennedy, D. C., Coen, B., Wheatley, A. M., & McCullagh, K. J. (2021). Microvascular experimentation in the chick chorioallantoic membrane as a model for screening angiogenic agents including from gene-modified cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 452.
- Khoukha, B. A., & Djouher, B. (2015). Segmentation d'images IVUS (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

Komatsu, A., Higashi, Y., & Matsumoto, K. (2019). Various CAM tumor models. *The Enzymes*, 46, 37-57.

Kretzschmann, V. K., & Fürst, R. (2014). Plant-derived vascular disrupting agents: compounds, actions, and clinical trials. *Phytochemistry Reviews*, 13(1), 191–206. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9304-6>

Kue, C. S., Tan, K. Y., LaM, M. L., & Lee, H. B. (2015). Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM): an alternative predictive model in acute toxicological studies for anti-cancer drugs. *Experimental Animals*, 64(2), 129-138.

Kurkin, V. A., Suleimanova, L. R., Daeva, E. D., & Kadentsev, V. I. (2011). Components of *Capsicum annuum* fruit. *Chemistry of Natural Compounds*, 47, 667-668.

Lavielle, S. (2009). Synthèse de molécules fluorées pour le développement d'un nouvel outil de nano-imagerie: application à l'imagerie de l'angiogénèse pathologique (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).

Lemaire, J., Larrue, R., Perrais, M., Cauffiez, C., & Pottier, N. (2020). Aspects fondamentaux du développement tumoral. *Bulletin du Cancer*, 107(11), 1148-1160.

Lerman, A., & Burnett Jr, J. C. (1992). Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation*, 86, III12-9.

Létard, J. C., Canard, J. M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., Lapuelle, J., & Commissions nutrition et thérapies complémentaires du CREGG. (2015). Phytothérapie–Principes généraux. *Hegel*, 5(1), 29-35.

Leung, P. C. (2017). From Ayurveda to Chinese Medicine. *World Scientific*.

Li, M., Pathak, R. R., Lopez-Rivera, E., Friedman, S. L., Aguirre-Ghiso, J. A., & Sikora, A. G. (2015). The in ovo chick chorioallantoic membrane (CAM) assay as an efficient xenograft model of hepatocellular carcinoma. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (104), e52411.

Li, R., Song, X., Guo, Y., Song, P., Duan, D., & Chen, Z. S. (2021). Natural products: a promising therapeutics for targeting tumor angiogenesis. *Frontiers in Oncology*, 11, 772915.

Li-Chan, E., & Nakai, S. (1989). Biochemical basis for the properties of egg white. *Critical Reviews in Poultry Biology*, 2(1), 21-57.

Lichota, A., & Gwozdzinski, K. (2018). Anticancer activity of natural compounds from plant and marine environment. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3533.

Lippert III, J. W. (2007). Vascular disrupting agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(2), 605-615.

Lokman, N. A., Elder, A. S., Ricciardelli, C., & Oehler, M. K. (2012). Chick chorioallantoic membrane (CAM) assay as an in vivo model to study the effect of newly identified molecules on ovarian cancer invasion and metastasis. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(8), 9959-9970.

- Lopes-Coelho, F., Martins, F., Pereira, S. A., & Serpa, J. (2021). Anti-angiogenic therapy: Current challenges and future perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3765. <https://doi.org/10.3390/ijms22073765>
- Luján-Méndez, F., Roldán-Padrón, O., Castro-Ruíz, J. E., López-Martínez, J., & García-Gasca, T. (2023). Capsaicinoids and their effects on cancer: The “double-edged sword” postulate from the molecular scale. *Cells*, 12(21), 2573.
- MacBryde, B. (2006). Consensus document on the biology of the *Capsicum annuum* complex (Chili peppers, hot peppers and sweet peppers). *OECD Environment, Health and Safety Publications, Series on the Safety of Novel Foods and Feeds*, No. 36. Retrieved from [ResearchGate].
- Maibier, M., Reglin, B., Nitzsche, B., Xiang, W., Rong, W. W., Hoffmann, B., ... & Pries, A. R. (2016). Structure and hemodynamics of vascular networks in the chorioallantoic membrane of the chicken. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 311(4), H913-H926.
- Majnooni, M. B., Fakhri, S., Ghanadian, S. M., Bahrami, G., Mansouri, K., Iranpanah, A., ... & Mojarrab, M. (2023). Inhibiting angiogenesis by anti-cancer saponins: From phytochemistry to cellular signaling pathways. *Metabolites*, 13(3), 323.
- Majnooni, M. B., Fakhri, S., Ghanadian, S. M., Bahrami, G., Mansouri, K., Iranpanah, A., ... & Mojarrab, M. (2023). Inhibiting angiogenesis by anti-cancer saponins: From phytochemistry to cellular signaling pathways. *Metabolites*, 13(3), 323.
- Makarska-Białokoz, M. (2020). History and significance of phytotherapy in the human history. 2. Phytotherapy in ancient Greece and ancient Rome. *Archives of Physiotherapy & Global Researches*, 24(1).
- Marefati, N., Ghorani, V., Shakeri, F., Boskabady, M., Kianian, F., Rezaee, R., & Boskabady, M. H. (2021). A review of anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Allium cepa* and its main constituents. *Pharmaceutical Biology*, 59(1), 285-300.
- Marieb, E. (1999). *Anatomie et physiologie humaines*. Edition du Renouveau pédagogique Inc, pp. 694-699.
- Marshall, K. M., Kanczler, J. M., & Oreffo, R. O. (2020). Evolving applications of the egg: chorioallantoic membrane assay and ex vivo organotypic culture of materials for bone tissue engineering. *Journal of Tissue Engineering*, 11, 2041731420942734.
- Mast, J., & Goddeeris, B. M. (1999). Development of immunocompetence of broiler chickens. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 70(3-4), 245-256.
- Méjean, A., & Leuret, T. (2008). La cascade métastatique : angiogenèse et nouveaux concepts. *Progrès en Urologie*, 18, S156-S166.
- Mertens, K., Kemps, B., Perianu, C., De Baerdemaeker, J., Decuyper, E., De Ketelaere, B., & Bain, M. (2011). Advances in egg defect detection, quality assessment and automated sorting and grading. *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products*, 209-241.

- Miyamoto, S., Kakutani, S., Sato, Y., Hanashi, A., Kinoshita, Y., & Ishikawa, A. (2018). Drug review: pazopanib. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 48(6), 503-513.
- Mondal, A., Banerjee, S., Terang, W., Bishayee, A., Zhang, J., Ren, L., ... & Bishayee, A. (2024). Capsaicin: A chili pepper bioactive phytochemical with a potential role in suppressing cancer development and progression. *Phytotherapy Research*.
- Morfoisse, F., Renaud, E., Hantelys, F., Prats, A. C., & Garmy-Susini, B. (2014). Adaptation de la synthèse protéique du VEGF-C par les cellules tumorales en condition hypoxique. *Médecine/sciences*, 30(5), 506-508.
- Mukherjee, A. K., Basu, S., Sarkar, N., & Ghosh, A. C. (2001). Advances in cancer therapy with plant based natural products. *Current Medicinal Chemistry*, 8(12), 1467-1486.
- Murphy, J. B. (1913). Transplantability of tissues to the embryo of foreign species: its bearing on questions of tissue specificity and tumor immunity. *The Journal of Experimental Medicine*, 17(4), 482-493.
- Musabimana Kagaju, F. (2005). Consommation et commercialisation des oeufs à Dakar (Sénégal) [Thesis, Méd. Vét.]. Dakar.
- Nakamura, T., & Mizuno, S. (2010). The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*, 86(6), 588-610.
- Nashimoto, Y., Okada, R., Hanada, S., Arima, Y., Nishiyama, K., Miura, T., & Yokokawa, R. (2020). Cancer vascularisé sur puce: L'effet de la perfusion sur la croissance et l'administration de médicaments du sphéroïde tumoral. *Biomatériaux*, 229, 119547.
- National Cancer Institute. (2019). Types of Cancer Treatment. Récupéré le [date], de <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types>
- National Cancer Institute. (2024). Dexamethasone. NCI Thesaurus. Retrieved June 23, 2024, from [https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI\\_Thesaurus&ns=NCI\\_Thesaurus&code=C422](https://ncit.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=NCI_Thesaurus&code=C422)
- Nau. (2010). Science et technologie de l'œuf, volume 2 : de l'œuf au ovoproduit. Chapitre 1 composition de l'œuf. Lavoisier.
- Ndiaye, P. D., & Pagès, G. (2019). VEGF-C et vaisseaux lymphatiques-Une épée à double tranchant dans le développement tumoral et la dissémination métastatique. *médecine/sciences*, 35(2), 132-137.
- Nouroz, F., Mehboob, M., Noreen, S., Zaidi, F., & Mobin, T. (2015). A review on anticancer activities of garlic (*Allium sativum* L.). *Middle East J Sci Res*, 23(6), 1145-1151.
- Nowak-Sliwinska, P., Segura, T., & Iruela-Arispe, M. L. (2014). The chicken chorioallantoic membrane model in biology, medicine and bioengineering. *Angiogenesis*, 17, 779-804.

Nyberg, P., Salo, T., & Kalluri, R. (2008). Tumor microenvironment and angiogenesis. *Front Biosci*, 13, 6537-6553.

Obaid, K. A. (2024). Anti-angiogenesis efficacy of the aqueous extract of *Allium sativum* and its combination with melatonin in an animal model: in vivo and ex vivo studies. *Pharmacia*, 71, 1-8.

Oguntade, A. S., Al-Amodi, F., Alrumayh, A., Alobaida, M., & Bwalya, M. (2021). Anti-angiogènese dans les thérapeutiques contre le cancer : la balle magique. *Journal de l'Institut National du Cancer d'Égypte*, 33, Article 15.

Ouafik, L. H., & Martin, P. M. (2010). Rôle de l'Adrénomédulline dans la vascularisation sanguine et lymphatique. *M/S-Medecine Sciences*, 24(8), 682.

Papetti, M., & Herman, I. M. (2002). Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol*, 282(5), C947-970.

Patil, T. P., Vibhute, A. A., Patil, S. L., Dongale, T. D., & Tiwari, A. P. (2023). Green synthesis of gold nanoparticles via *Capsicum annum* fruit extract: Characterization, antiangiogenic, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Applied Surface Science Advances*, 13, 100372.

Patiño-Morales, C. C., Jaime-Cruz, R., Ramírez-Fuentes, T. C., Villavicencio-Guzmán, L., & Salazar-García, M. (2023). Technical implications of the chicken embryo chorioallantoic membrane assay to elucidate neuroblastoma biology. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14744.

Pawlikowska, P., Tayoun, T., Oulhen, M., Faugeroux, V., Rouffiac, V., Aberlenc, A., Pommier, A. L., Honore, A., Marty, V., Bawa, O., Lacroix, L., Scoazec, J. Y., Chauchereau, A., Laplace-Builhe, C., & Farace, F. (2020). Exploitation of the chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) as a platform for anti-metastatic drug testing. *Scientific Reports*, 10(1), 16876. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73632-w>

Perollet, C., Han, Z. C., Savona, C., Caen, J. P., & Bikfalvi, A. (1998). Platelet factor 4 modulates fibroblast growth factor 2 (FGF-2) activity and inhibits FGF-2 dimerization. *Blood*, 91(9), 3289-3299.



- Pottier, C., Fresnais, M., Gilon, M., Jérusalem, G., Longuespée, R., & Sounni, N. E. (2020). Inhibiteurs de la tyrosine kinase dans le cancer : percée et défis de la thérapie ciblée. *Cancers*, *12*(3), 731.
- Pottier, C., Fresnais, M., Gilon, M., Jérusalem, G., Longuespée, R., & Sounni, N. E. (2020). Tyrosine kinase inhibitors in cancer: Breakthrough and challenges of targeted therapy. *Cancers*, *12*(3), 731.
- Poupard, N. (2017). Conception de polysaccharides sulfatés inhibiteurs de l'héparanase pour le traitement de l'angiogénèse tumorale. *Université de La Rochelle*.
- Presta, M., Dell'Era, P., Mitola, S., Moroni, E., Ronca, R., & Rusnati, M. (2005). Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, *16*, 159-178.
- Pugsley, M. K., & Tabrizchi, R. (2000). The vascular system: An overview of structure and function. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, *44*(2), 333-340.
- Ravaud, A. (2007). Le mécanisme de l'angiogénèse tumorale. *Progrès en Urologie*, *17*(1), 144-147.
- Ren, B., Yee, K. O., Lawler, J., & Khosravi-Far, R. (2006). Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1. *BBA*, *1765*, 178-188.
- Ribatti, D. (2010). *The Chick Embryo Chorioallantoic Membrane in the Study of Angiogenesis and Metastasis: The CAM assay in the study of angiogenesis and metastasis*. Springer Science & Business Media.
- Ribatti, D. (2014). History of research on angiogenesis. *Angiogenesis, Lymphangiogenesis and Clinical Implications*, *99*, 1-14.
- Ribatti, D. (2014). The chick embryo chorioallantoic membrane as a model for tumor biology. *Experimental Cell Research*, *328*, 314-324. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.06.010>
- Ribatti, D. (2016). The chick embryo chorioallantoic membrane (CAM). A multifaceted experimental model. *Mechanisms of Development*, *141*, 70-77.
- Ribatti, D. (2017). Chorioallantoic Membrane. In *Encyclopedia of Cancer* (pp. 1027-1030). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-46875-3\\_7081](https://doi.org/10.1007/978-3-662-46875-3_7081)
- Ribatti, D. (2022). Immunosuppressive effects of vascular endothelial growth factor. *Oncology Letters*, *24*(4), 1-6.
- Ribatti, D., Nico, B., Vacca, A., Roncali, L., Burri, P. H., & Djonov, V. (2001). Chorioallantoic membrane capillary bed: a useful target for studying angiogenesis and anti-angiogenesis in vivo. *The Anatomical Record: An Official Publication of the American Association of Anatomists*, *264*(4), 317-324.
- Ribatti, D., Tamma, R., & Annese, T. (2021). Chorioallantoic membrane vascularization. A meta-analysis. *Experimental Cell Research*, *405*(2), 112716.

- Rini, B. I. (2006). Sorafenib. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 7(4), 453-461.
- Roskoski Jr, R. (2007). Sunitinib: a VEGF and PDGF receptor protein kinase and angiogenesis inhibitor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 356(2), 323-328.
- Roswall, P., Bocci, M., Bartoschek, M., Li, H., Kristiansen, G., Jansson, S., ... & Pietras, K. (2018). Microenvironmental control of breast cancer subtype elicited through paracrine platelet-derived growth factor-CC signaling. *Nature Medicine*, 24(4), 463-473.
- Rutlant, J., & Khamas, W. (2024). Fertilization and Chick Embryo Development. *Anatomy and Histology of the Domestic Chicken*, 217-226.
- Rous, P., & Murphy, J. B. (1911). Tumor implantations in the developing embryo. Experiments with a transmissible sarcoma of the fowl. *JAMA*, 56, 741-742.
- Sauveur, B., & Reviers, M. D. (1988). Reproduction and egg production in poultry. *Reproduction and Egg Production in Poultry*.
- Schneider-Stock, R., & Ribatti, D. (2021). The CAM assay as an alternative in vivo model for drug testing. *Organotypic Models in Drug Development*, 303-323.
- Scoazec, J. (2000). [Tumor angiogenesis]. *Annales de Pathologie*, 20(1), 25-37.
- Semenza, G. L. (2003). Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nature Reviews Cancer*, 3(10), 721-732.
- Shang, F., Liu, M., Li, B., Zhang, X., Sheng, Y., Liu, S., ... & Xiu, R. (2016). The anti-angiogenic effect of dexamethasone in a murine hepatocellular carcinoma model by augmentation of gluconeogenesis pathway in malignant cells. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 77, 1087-1096.
- Sharma, V., Sinha, E. S., & Singh, J. (2024). Investigation of in vitro anti-cancer and apoptotic potential of onion-derived nanovesicles against prostate and cervical cancer cell lines. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-17.
- Shrestha, D. K., Sapkota, H., Baidya, P., & Basnet, S. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of *Allium sativum* and *Allium cepa*. *Partie 2*.
- Siekman, A. F., Covassin, L., & Lawson, N. D. (2008). Modulation of VEGF signalling output by the Notch pathway. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, 30(4), 303-313.
- Siliciano, J. D., Kajdas, J., Finzi, D., Quinn, T. C., Chadwick, K., Margolick, J. B., ... & Siliciano, R. F. (2003). Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells. *Nature Medicine*, 9(6), 727-728.

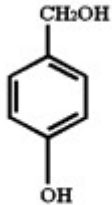
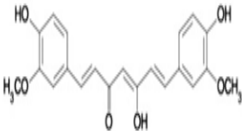
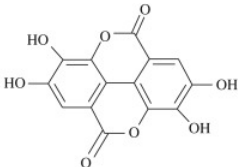
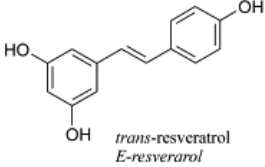
- Srinivasan, K. (2015). Biological activities of red pepper (*Capsicum annuum*) and its pungent principle capsaicin: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1488-1500. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772090>
- Staiger, H., Keuper, M., Berti, L., Hrabě de Angelis, M., & Häring, H. U. (2017). Facteur de croissance des fibroblastes 21 - rôle métabolique chez la souris et l'homme. *Revue Endocrinienne*, 38(5), 468-488.
- Thorpe, P. E. (2004). Vascular targeting agents as cancer therapeutics. *Clinical Cancer Research*, 10(2), 415-427.
- Tourneau, C., Raymond, E., & Faivre, S. (2007). Sunitinib: A novel tyrosine kinase inhibitor. A brief review of its therapeutic potential in the treatment of renal carcinoma and gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(2), 341-348.
- Treps, L., & Gavard, J. (2015). L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tourne mal. *Médecine/Sciences*, 31(11), 989-995.
- Treps, L., & Gavard, J. (2015a). L'angiogenèse tumorale-Quand l'arbre de vie tourne mal. *Médecine/Sciences*, 31, 989-995.
- Van Nguyen, T., Hamdan, D., Falgarone, G., Do, K. H., Van Le, Q., Pamoukdjian, F., & Bousquet, G. (2024). Anti-Angiogenic Tyrosine Kinase Inhibitor-Related Toxicities Among Cancer Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Targeted Oncology*, 1-13.
- Wang, D. (2018). Étude de médicaments botaniques de la médecine traditionnelle chinoise pour la croissance des cellules endothéliales et l'angiogenèse.
- Wang, L., Yan, J., XinyuWang, Xu, Y., Pan, D., Chen, C., ... & Tu, J. (2024). Evaluation of chicken chorioallantoic membrane model for tumor imaging and drug development: Promising findings. *Animal Models and Experimental Medicine*.
- Wang, Z., Dabrosin, C., Yin, X., Fuster, M. M., Arreola, A., Rathmell, W. K., ... & Jensen, L. D. (2015, December). Broad targeting of angiogenesis for cancer prevention and therapy. In *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 35, pp. S224-S243). Academic Press.
- Wei, Q., & Zhang, Y. H. (2024). Flavonoids with Anti-Angiogenesis Function in Cancer. *Molecules*, 29(7), 1570.
- Wilhelm, S., Carter, C., Lynch, M., Lowinger, T., Dumas, J., Smith, R. A., ... & Kelley, S. (2006). Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(10), 835-844.
- Willier, B. H. (1925). The behavior of embryonic chick gonads when transplanted to embryonic chick hosts. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 23(1), 26-30.
- World Health Organization (WHO). (2022). Cancer [Fact sheet]. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

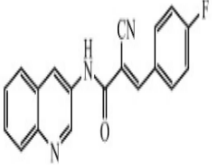
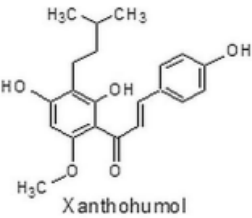
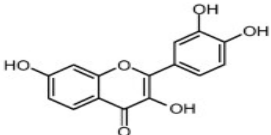
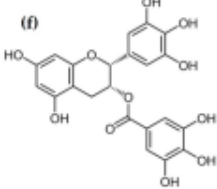
- Yadav, L., Puri, N., Rastogi, V., Satpute, P., & Sharma, V. (2015). Tumour angiogenesis and angiogenic inhibitors: a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 9(6), XE01.
- Yancopoulos, G. D., Davis, S., Gale, N. W., Rudge, J. S., Wiegand, S. J., & Holash, J. (2000). Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 407, 242-248.
- Yıkmiş, S., Erdal, B., Doguer, C., Levent, O., Türkol, M., & Tokatlı Demirok, N. (2024). Thermosonication processing of purple onion juice (*Allium cepa* L.): Anticancer, antibacterial, antihypertensive, and antidiabetic effects. *Processes*, 12(3), 517. <https://doi.org/10.3390/pr12030517>
- Yin, Q., Han, H., Shi, K., Zhou, J., Zheng, S., Yao, K., & Shentu, X. (2024). Targeted dexamethasone nano-prodrug for corneal neovascularization management. *Biomedical Journal*, 47(1), 100592.
- Zarei, P., & Ghasemi, F. (2024). The application of artificial intelligence and drug repositioning for the identification of fibroblast growth factor receptor inhibitors: A review. *Advanced Biomedical Research*, 13, 9.
- Zhao, Y., Jia, C., Yao, Z., Chen, G., Huang, G., Li, H., ... & Zhang, X. (2024). Dexamethasone pretreatment potentiates a folic acid-functionalized delivery system for enhanced lung cancer therapy. *Molecular Pharmaceutics*.
- Zhou, M., Hou, J., Li, Y., Mou, S., Wang, Z., Horch, R. E., Sun, J., & Yuan, Q. (2019). The pro-angiogenic role of hypoxia inducible factor stabilizer FG-4592 and its application in an in vivo tissue engineering chamber model. *Scientific Reports*, 9, 6035. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41924-5>.

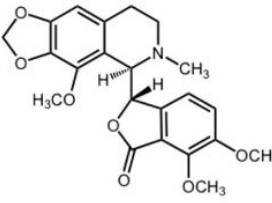
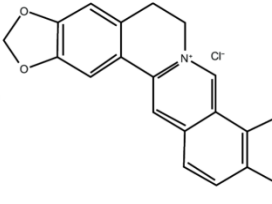
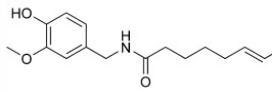
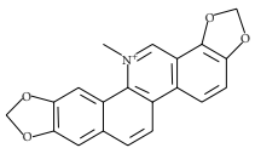
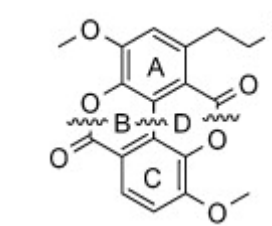
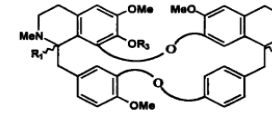
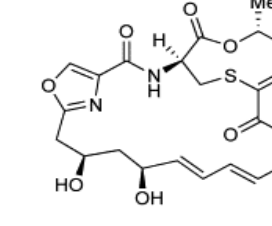
# *Annexes*

## Annexes

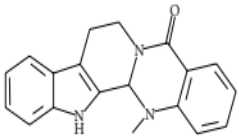
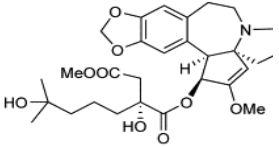
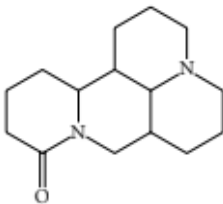
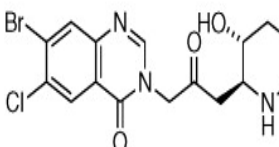
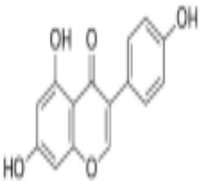
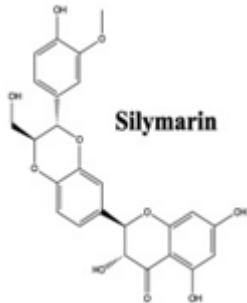
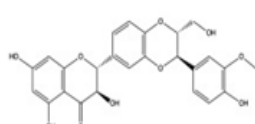
## Annexe 01

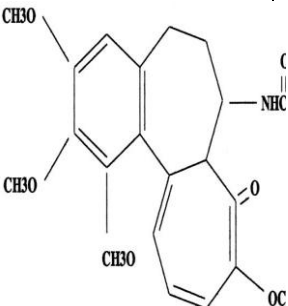
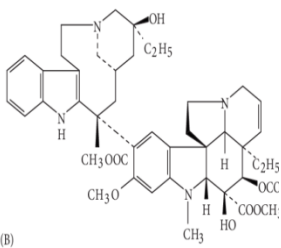
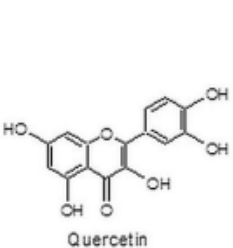
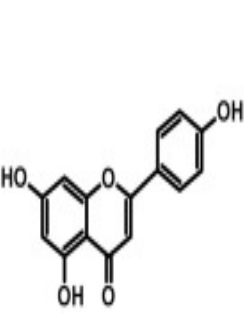
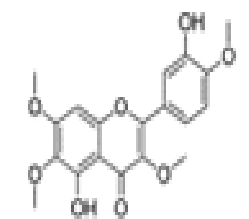
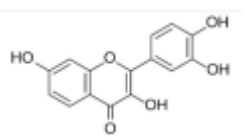
Non composé	Structure chimique	Cancers	Mécanisme	Référence
4-Hydroxybenzyl alcohol (phenol)		Carcinome du côlon	Régulation à la baisse de l'expression des protéines VEGF et MMP9	(Kim et al., 2007). (Sun et al., 2015). (Laschke et al., 2013).
Curcumin (polyphenol)		carcinome du sein, côlon, cellules rénales, hépatocellulaire, leucémie à cellules T, B lymphome cellulaire, leucémie myéloïde aiguë, basocellulaire carcinome, mélanome et cancer de la prostate .	Reduction of VEGF expression, inhibition of transcription factors, mTOR pathway and MMP9 protein expression	(Javeri et Chand, 2016). (Sun et al., 2015). (Aggarwal et al., 2003).
Ellagic acid (polyphenol)		Cancer du sein	Entrave l'expression du VEGF et du HIF-1 $\alpha$	(Rajasekar et al., 2019). (Rupasinghe, 2015).
Resveratrol (polyphenol)	 <i>trans-resveratrol</i> <i>E-resveratrol</i>	Cancer du sein	Régule à la baisse NF- $\kappa$ B, JAK-STAT, MAP kinase et VEGF Supprime l'expression de VEGFR-2 Inhibition du signal PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B	(Lu et al., 2016). (Rajasekar et al., 2019). (Filip et al., 2003).

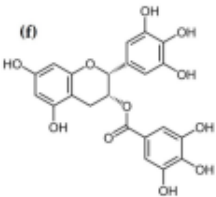
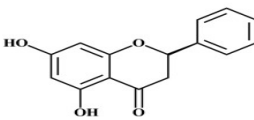
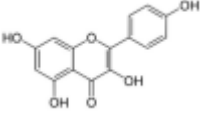
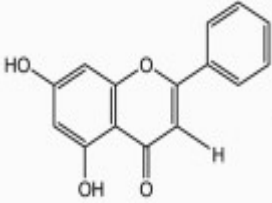
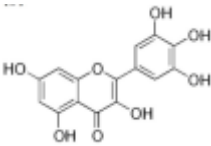
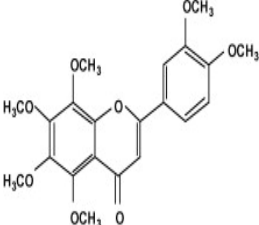
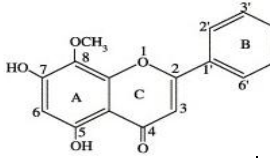
<p><b>Quinoline-substituted phenols</b></p>		<p>gliome, prostate, leucémie, côlon, sein et poumon</p>	<p>Inhibition de l'expression du VEGF et du facteur de croissance transformant-β1 (TGF-β1)</p>	<p>(Sun et al., 2015). (Jain et al., 2019).</p>
<p><b>Xanthohumol (chaclon)</b></p>	 <p>Xanthohumol</p>	<p>Cancer du pancréas</p>	<p>↓ NF-κB, ↓ VEGF, ↓ IL-8, ↓ densité de microvaisseaux</p>	<p>(Liskova et al., 2020).</p>
<p><b>Fisetin (flavonols)</b></p>		<p>Cancer du sein, du poumon et les tissus mous carcinome</p>	<p>Régulation à la baisse de l'expression du VEGF et de l'eNOS, inhibition des activités des MMP</p>	<p>(Sun et al., 2015). (Touil et al., 2011). (BIOAVAILABILITY, 2013).</p>
<p><b>épigallocatechine-3-gallate (EGCG) (catechine).</b></p>		<p>Cancers de prostate Et de sein</p>	<p>Inhiber la prolifération des cellules endothéliales capillaires à faible concentration. inhibe la production de VEGF dans les cellules cancéreuses du sein MDA-MB231 et les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine. l'EGCG a inhibé MMP-2 et MMP-9 tout en induisant l'activité de leurs inhibiteurs TIMP-1 et TIMP-2.</p>	<p>(Wang et al., 2015). (Marrero et al., 2022).</p>

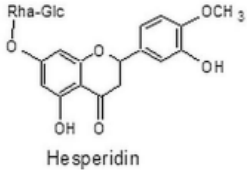
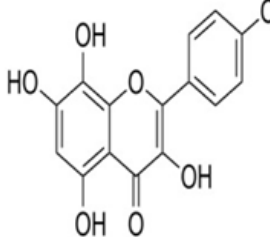
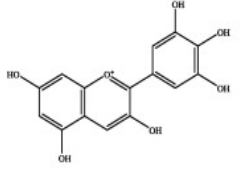
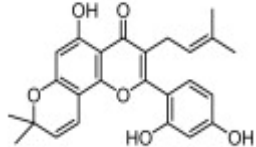
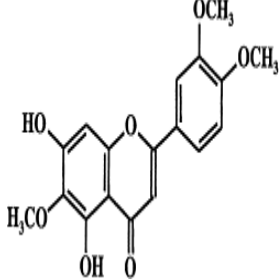
<p><b>Noscapine</b> (alkaloïde)</p>		<p>cancer d'ovaire et du sein</p>	<p>Anti-HIF</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Chen et al.,2015).</p>
<p><b>Berberine</b> (alkaloïde)</p>		<p>Adénocarcinome gastrique. Cellule cancéreuse squameuse. Cancer foie de Cancer du col de l'utérus.</p>	<p>Anti-HIF-1 Anti-Mmp-2/9 UPA Anti-VEGF Anti-Mmp-2 UPA</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Liu et al.,2022).</p>
<p><b>Capsaïcine</b> (alkaloïde)</p>		<p>Cancer du Poumon non à petites cellules</p>	<p>Anti-VEGF</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Tiberghien-Chatelain et al., 2014).</p>
<p><b>Sanguinarine</b> (alkaloïde)</p>		<p>Cancer du poumon , du pancréas et de la prostate.</p>	<p>Anti-VEGF Anti-HIF-1</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Lu et al., 2012).</p>
<p><b>Taspine</b> (alkaloïde)</p>		<p>Cancer du foie et du Côlon</p>	<p>Anti-VEGF Anti-VEGF</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Zhang et al.,2011).</p>
<p><b>Tetrandrine</b> (alkaloïde)</p>			<p>Anti-HIF-1 , Anti-VEGF</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Tian et Zheng, 2017).</p>
<p><b>Brucine</b> (alkaloïde)</p>		<p>Cancer du foie, du côlon et cancer du sein</p>	<p>Anti-HIF-1 Anti-VEGF Anti-VEGF, FAK, Erk, Akt et mTOR phosphorylation, VEGF.</p>	<p>(Alasvand et al.,2019). (Mander et Liu, 2010).</p>

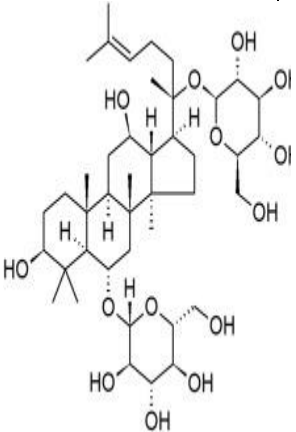
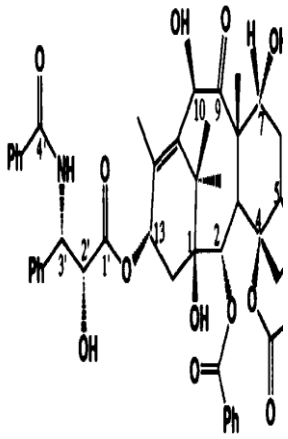
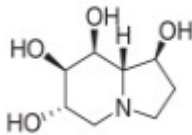
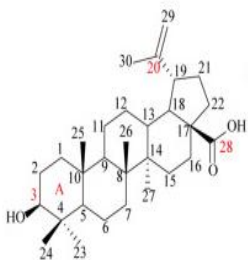


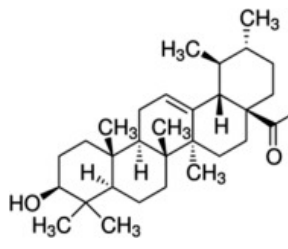
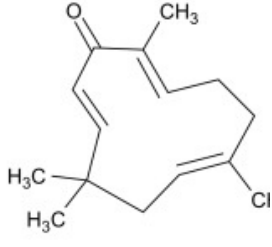
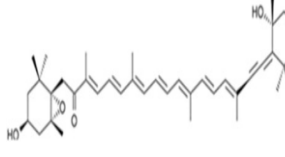
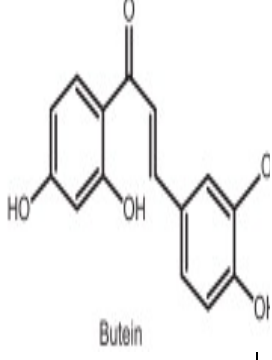
<b>Evodiamine</b> (alkaloïde)		Cancer du sein et du côlon	Anti-VEGF Anti-HIF	(Alasvand et al.,2019). (Lu et al., 2012).
<b>Homoharringtonine</b> (alkaloïde)		leucémie myeloïde	Anti-VEGF	(Alasvand et al.,2019). (Hage, 2013).
<b>Matrine</b> (alkaloïde)		Cancer du sein	Anti-VEGF	(Alasvand et al.,2019). (Lu et al., 2012).
<b>Halofuginone</b> (alkaloïde)		Cancer du poumon et cancer osseux	Anti-VEGF,MMP,TGF-B	(Alasvand et al.,2019). (Anadón et Martínez-Larrañaga,2014 ). (Lamora et al., 2015).
<b>La génistéine</b> (isoflavone)		Cancer du poumon et du sein	Apoptose, diminuant l'activité PTK et l'activation MAPK Anti-VEGF	(Ravishankar et al., 2013). (Liskova et al., 2020). (Marrero et al.,2022).
<b>Silymarine(flavanol).</b>		Cancer de prostate et du sein	Anti- MMP-2	(Lu et al., 2016). (Marmouzi et al.,2021).
<b>Silibinine</b> (flavanol)		Cancer de prostate	Anti-VEGF, CD31	(Lu et al., 2016). (Marmouzi et al.,2021).

<p><b>La colchicine</b> (alkaloïde)</p>	 <p>CH<sub>3</sub>O CH<sub>3</sub>O CH<sub>3</sub>O NHC C =O OC</p>	<p>cancer de l'estomac</p>	<p>Anti-VEGF</p>	<p>(Lu et al., 2016). (Sullivan et al., 1998). (Lin et al., 2016).</p>
<p><b>Vinblastine</b> (alkaloïde)</p>	 <p>(B) OH C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> CH<sub>3</sub>OOC CH<sub>3</sub>O CH<sub>3</sub> HO COOCH<sub>3</sub> C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> OCC</p>	<p>cancer des testicules métastatique</p>	<p>Anti-VEGF</p>	<p>(Lu et al., 2016). (Idrees et al., 2010). (Silvestri, 2013).</p>
<p><b>la quercétine</b> (flavonol)</p>	 <p>Quercetin</p>	<p>Cancer du sein</p>	<p>supprime la phosphorylation induite par le VEGF du récepteur 2 du VEGF et leurs protéines kinases en aval AKT, mTOR et ribosomal protéine S6 kinase dans HUVEC</p>	<p>(Ravishankar et al., 2013). (Marrero et al., 2022).</p>
<p><b>Apigénine</b> (flavone)</p>		<p>Cancer de pancréas et duprostate</p>	<p>Réduit l'expression de VEGF, COX-2, NF-κB - Inhibition de l'activation de NF-κB. Inhibition de l'activation de NF-κB, VEGF et COX-2, régulation à la baisse du VEGF.</p>	<p>(Rajasekar et al., 2019). (Ha et al., 2008).</p>
<p><b>Vitexicaprins</b> (flavonol)</p>		<p>Cancer hépatique</p>	<p>Apoptose. l'inhibition de la phosphorylation de l'AKT et du SRC.</p>	<p>(Ravishankar et al., 2013). (Liskova et al., 2020).</p>
<p><b>Fisétine</b> (flavonole)</p>		<p>Cancer de sein</p>	<p>↓ MMP-9, ↓ NF-κB, ↓ PKCα/ROS/MAPK</p>	<p>(Liskova et al., 2020). (Marrero et al., 2022).</p>

<p><b>Lutéoline (flavone)</b></p>		<p>les cancers du poumon, du sein, du glioblastome, de la prostate, du côlon et du pancréas.</p>	<p>↓ VEGF; HIF-1<math>\alpha</math> ↓; VEGFR2 ↓; MMP-1 and MMP-9 ↓; Notch1 expression ↓; P-Akt ↓</p>	<p>(Subbaraj et al.,2021). (Markham et al., 1998). (Imran et al., 2019).</p>
<p><b>Naringenin (chacon)</b></p>		<p>les cancers du sein, de la vessie et du col de l'utérus</p>	<p>Voie de signalisation VEGF/KDR ↓</p>	<p>(Subbaraj et al.,2021). (Bacanli et al.,2018). (Memariani et al., 2021).</p>
<p><b>Kaempferol(flavonol)</b></p>		<p>Prostate cancer</p>	<p>↓ formation de mimétisme vasculogénique.</p>	<p>(Liskova et al., 2020). (Marrero et al.,2022).</p>
<p><b>Chrysin (flavone)</b></p>		<p>la lignée cellulaire d'adénocarcinome gastrique humain et les cellules d'adénocarcinome colorectal</p>	<p>down-regulation of soluble IL-6 receptor; ↓ JAK1, STAT3, and VEGF phosphorylation;</p>	<p>(Mirossay et al., 2017). (Zhu et al. 2014).</p>
<p><b>Myricetin (flavonole)</b></p>		<p>Cancer du sein et d'ovaire.</p>	<p>↓ MMP-2, ↓ MMP-9</p>	<p>(Liskova et al., 2020). (Marrero et al.,2022). (Rajasekar et al., 2019).</p>
<p><b>Nobiletin (flavone)</b></p>		<p>carcinome du nasopharynx</p>	<p>AKT, HIF-1<math>\alpha</math>, NF-<math>\kappa</math>B and VEGF.</p>	<p>(Mirossay et al., 2017). (Rajasekar et al., 2019). (Kunimasa et al., 2009).</p>
<p><b>Wogonin(flavone )</b></p>		<p>le cancer du sein, colorectal et gastrique humain</p>	<p>inhibition de HIF-1<math>\alpha</math>, et VEGF, PDGF et bFGF</p>	<p>(Mirossay et al., 2017). (Tian et al., 2005) . (SharifiRad et al., 2021).</p>

<p><b>Hesperidin (flavanone)</b></p>	 <p>Hesperidin</p>	<p>Cancer rénal</p>	<p>↓ VEGF, ↓ COX-2</p>	<p>(Liskova et al., 2020).</p>
<p><b>Herbacetin (flavonol)</b></p>		<p>le cancer du côlon, du sein et de foie</p>	<p>- Réduction de la signalisation PI3K/AKT dans les cellules hepG2 du carcinome hépatocellulaire, supprimé la motilité cellulaire induite par le facteur de croissance des hépatocytes en inhibant la signalisation c-Met et AKT dans les cellules cancéreuses du sein Récemment, l'herbacétine est un inhibiteur allostérique de l'ornithine décarboxylase (ODC) qui supprime efficacement la croissance des tumeurs du côlon.</p>	<p>(Li t al., 2016).  (Kim et al.,2017).</p>
<p><b>Delphinidin (anthocyanin)</b></p>		<p>cancer du côlon</p>	<p>HIF-1 ↓ ; Voies de signalisation ERK/P13K/Akt/mTOR/ p70S6K ↓</p>	<p>(Subbaraj et al.,2021). (Takasawa et al., 2010). (Kang et al.,2018).</p>
<p><b>Morusin (flavone)</b></p>		<p>Cancer du poumon</p>	<p>↓ VEGF, ↓ COX-2</p>	<p>(Liskova et al., 2020). (Tseng et al., 2010).</p>
<p><b>Eupatilin (flavone)</b></p>		<p>Cancer du foie</p>	<p>↓ MMP-2, ↓ MMP-9</p>	<p>(Liskova et al., 2020). (Seo et Surh, 2001).</p>

<p><b>Ginsenoside (Terpenoids)</b></p>	 <p>Cancer de peau</p>	<p>Diminuent significativement la nombre de néovaisseaux</p>	<p>(Lu et al.,2016) (Otimenyin,2022).</p>
<p><b>Taxol (Terpenoids)</b></p>	 <p>cancer de l'ovaire et du sein</p>	<p>Anti , VEGF and HIF- 1a production</p>	<p>(Lu et al., 2016). (Kingston, 1994).</p>
<p><b>Castanospermine (alkaloïde)</b></p>	 <p>Cancer de sein</p>	<p>Anti-VEGF</p>	<p>(Carreira et al., Yamamoto, 2012). (Allan et al.,2013). (Pili et al., 1995).</p>
<p><b>Acide betulique (Terpenoids)</b></p>	 <p>Cancer du poumon prostate et colon</p>	<p>diminution significative de la survivine, Bcl-2, cycline D1, MMP-9, HIF-1, VEGF et CD31 expression. inhibition importante de l'expression des protéines empêché la formation de tubes capillaires in vitro chez l'homme. diminué l'expression de la cycline D1, sur- vivine, VEGF, EGFR et le gène 1 transformant</p>	<p>(Rufino- Palomares et al.,2015). (Zhong et al, 2021).</p>

			la tumeur hypophysaire et la sous-unité p65 de NF-B.	
<b>Acide ursolique</b> (Terpenoids)		Cancer de sein	inhibe le STAT3 constitutif et inducible par l'interleukine-6. inhibe les produits géniques, tels que la cycline D1, Bcl-2, Bcl-xL, la survivine, Mcl-1 et VEGF.	(Rufino-Palomares et al., 2015). (Bacanh, 2020). (Yin et al., 2018).
<b>Zerumbone</b> (sesquiterpenoide)		Cancer gastrique	Inhibition du VEGF et du NF-κB. Suppression de la phosphorylation du VEGFR-2 et du FGFR1 Inhibe NF-κB. Régule à la baisse MMP-9, VEGF, VEGFR-2 et régulation à la hausse de endostatine, thrombospondine.	(Rajasekar et al., 2019). (Bonavida, 2017).
<b>Fucoxanthin</b> (Carotenoids)		Cancer d'ovaire et de peau	Reduces MMP-9 level Down-regulation of FGF-2 and FGFR1 Inhibition of PI3K/Akt signaling and NF-κB activation Inhibition of NF-κB pathway	(Rajasekar et al., 2019). (Liu et al., 2020).
<b>Butein</b> (3,4,20,40tetrahydroxychalcone)		Cancer de prostate, du foie et de la vessie	↓ activités VEGF et MMP-9 via la suppression de l'activité NF-κB ; ↓ expression du VEGF et de la MMP-9 induite par le TNF-α et le PMA ; ↓ de Prolifération, migration et tube induits par le sérum et le VEGF formation de cellules progénitrices	(Mirossay et al., 2017). (Semwal et al., 2015).

---

			endothéliales humaines; abrogation de les vaisseaux induits par le VEGF jaillissant des anneaux aortiques ; ↓ microvaisseau formation dans le test d'implantation de matrigel in vivo ; ↓ phosphorylation de AKT, mTOR et leurs principaux effecteurs en aval dans l'endothélium cellules progénitrices; ↓ effet sur STAT3 et CXCR4.	
--	--	--	---	--