

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REpubLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SIKKDA



Faculté des Sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master
Filière : Science biologique
Spécialité: biochimie appliquée
Intitulé :

**Etude comparative de l'impact de deux colorants cosmétiques :
chimique et végétal sur la fonction hépatique**

Présenté Par :

-BOUKHEDCHA Djihene

-BOULEMTAFES Roumaissa

-BOULASSEL Nor elhouda

-BOULEKHSAIM Ibtissem

Membre de Jury:

Mr. Basli abdelkader (MCA)

Président

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Melle Boushaba Sara (MAA)

Promoteur

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Mme Bendjedide Madiha (MAA)

Examinatrice

Univ. du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience nécessaire à la réalisation de ce mémoire.

Nous profitons de l'occasion pour remercier notre encadreur **Melle Boushaba Sara** pour l'intérêt qu'elle nous a apporté, ses conseils, ses encouragements, sa confiance, sa attention et sa aide qui ont contribué au bon déroulement de ce mémoire.

Nous remercions le président du jury **Dr. Basli Abdelkader** pour avoir accepté de présider ce jury, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et pour ses fructueuses corrections.

Nous remercions aussi l'examinatrice du jury **Mme. Bendjdid Madhiha** pour accepter d'examiner ce travail et pour qui nous avons également beaucoup d'estime et de respect.

Nous remercions également **Mr. Aouzal Badis** pour son aide précieuse, ses précieux conseils, et aussi **Dr. Mallhi lamia**, qui est nous aidé toute au long de la période expérimentale.

En remercie **Dr. Maya GHANNEM** pour son soutien dans les moments les plus critiques.

Nous Tenos à remercier très sincèrement l'ensemble du membre de l'équipe de laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique de Constantine précisément le **Dr. Nasri Fares**.

Nous tenons à remercier très sincèrement l'ensemble du membre de l'équipe de service d'**ANAPATH** de l'hôpital de Saad Guermeche de Skikda.

Enfin, Tous nos remerciements à tous nos enseignants depuis le premier qui nous a accueilli à l'âge de cinq ans, jusqu'à celles et ceux qui nous encadrent aujourd'hui et à tous ceux qui, aidés et encouragés de près ou de loin, directement ou indirectement ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

*Je remercie profondément mon défunt père, que dieu ait son âme **Baghdadi**, qui a été un soutien et une source d'inspiration pour moi, et a inculqué en moi les plus grandes valeurs et orientations dans la vie. Il a été un enseignant et un modèle, laissant son empreinte bienveillante dans mon cœur et dans ma mémoire pour toujours. Que dieu le place parmi les habitants du paradis.*

*Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude envers ma merveilleuse mère, **Zaïneb**, qui a assumé à la fois le rôle de père et de mère, travaillant avec sérieux et persévérance pour éduquer et enseigner, ainsi que pour prendre soin de mon frère et mes sœurs. Elle a toujours été une source de soutien et de tendresse, et je ne peux que la remercier du fond du cœur pour tout ce qu'elle a fait pour moi.*

*Je suis également reconnaissant envers mon frère et mon soutien constant **Ayman**, qui assumé le rôle de père et a été un soutien continu pour moi. de même, je suis reconnaissant envers mes sœurs, **Yasmine**, **Wissal**, **Amani** et ma petite **Manel**, qui ont été mes complices et mes soutiens tout au long de ma vie.*

*Sans oublier mes binômes **Nour elhouda**, **Ibtissem**, **Roumaïssa** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

Je tiens également à remercier tout ceux qui ont contribué à mon parcours éducatif, que ce soient mes professeures, mes collègues ou mes amis. Ils ont été élément essentiel de mon succès, et grandement contribué à façonner ma personnalité et mon développement académique.

Djihéne

Dédicace

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*À l'âme de mon père «**Ammar Boulassel**» Que Dieu le Tout-Puissant
lui accorde sa sainte miséricorde.*

*À ma chère mère **Hinda**. Pour ses sacrifices, son soutien, son amour et son
encouragement. Que ce rapport soit le meilleur cadeau que je puisse t'offrir.*

*À mes frères **Abdrraouf, Yahia, Younes**.*

*À mes chères sœurs **Imene, Khouloud, Issraa** qui ont partagé avec moi tous
les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail, elles m'ont
chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.*

*À mon cher oncle **Ahmed Boulassel**.*

*À ma tante **warda**.*

*À mes chères cousines **Nadjla, Roumaïssa, Douaaet soundous**.*

*À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire.*

*Sans oublier mes adorables collègues **Ibtisseem, roumaïssa et djihen** qu'elles
ont contribué*

à réaliser ce modeste travail et à qui je souhaite plus de succès.

*À mes meilleures copines **Moufida, Amina, Lidia** pour les bons
moments que nous avons passés ensemble.*

À tous ceux que j'aime et qui me sont chères Merci d'être toujours là pour moi.

NOR ELHOUDA

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Mokhtar***

*A la plus belle perle du le Monde qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Sakina**.*

*A mes chères frères **Ali, Nidal Abd Almoumen** et A mon adorable petite sœur **Ritaj** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*A mon fiancé **Djalel** qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.*

Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A ma très chère grande mère

*A mes oncles et mes tantes **Halima** et **Mariem** de une longue et joyeuse vie.*

A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.

*Merci pour leurs amours et leurs encouragements. Sans oublier mes binômes **Nour elhouda**, **Ibtissem**, **Djihene** pour son soutien moral, sa patience etsa compréhension tout au long de ce projet.*

ROUMAÏSSA

Dédicace

*Mes chers parents mon père Saadi et ma mère Nadira qu'ont été soutient durant
Toute les années des études.*

*Mes frères Oussama, Ahmed, Nessim et ma chère unique sœur Yousra merci pour
Votre aide je pris dieu de te protéger pour moi*

*A ma personne préférée Sabri qui a touché mon cœur et est devenu la raison de ma
Joie merci d'être dans ma vie.*

*Ma grande famille : mon grande père et ma grande mère, mes cousins
Merci pour ton amour.*

*Toutes mes amis Roumaissa, Nour et Djihene merci pour ton amitié et ta présence
Dans ma vie.*

Tous ceux qui m'aiment et qui m'estiment.

IBTISSEM

Résumé :

Cette étude a été menée pour évaluer l'effet de deux colorants cosmétiques chimiques rouges de type azoïque et un colorant végétal à la base du jus de betterave sur quelques paramètres liés à la fonction hépatique chez les rats Wistar. L'étude a été conduite sur 38 rats femelles de la lignée Wistar. Ces rats sont répartis en 4 groupes de 8 à 10 rats pour chacun. Le 1er groupe est servi comme témoin, le 2ème traité par une émulsion sans colorant, le 3ème groupe traité par émulsion en colorant végétale et le 4^{ème} groupe traité par émulsion en colorant chimique. L'administration des colorants était sous forme une émulsion par application cutanée Chaque jour pendant 25 jours. Le dosage de quelques paramètres biochimique : TGO, TGP, phosphatase alcaline, bilirubine total et directe et l'étude anatomo-pathologique du foie ont étaient estimés. Les résultats obtenus montrent une augmentation dans le taux de TGO chez les rats traités par émulsion en colorant chimique tandis que le colorant végétal n'a induit aucune altération. Les résultats de l'étude anatomo-pathologique montre que les rats traités par le colorant végétal souffrent moins de l'inflammation mais sans un degré de signification.

Mots clés : colorant azoïque, jus de betterave, foie, inflammation.

Abstract:

This study was conducted to evaluate the effect of two azoic-type red chemical cosmetic dyes and a vegetable dye based on beet juice on some parameters related to liver function in Wistar rats. The study was conducted on 38 female Wistar rats. These rats were divided into 4 groups of 8 to 10 rats each. The 1st group served as a control, the 2nd was treated with a dye-free emulsion, the 3rd with a vegetable dye emulsion and the 4th with a chemical dye emulsion. The dye was administered in the form of an emulsion by cutaneous application daily for 25 days. A number of biochemical parameters were measured : TGO, TGP, alkaline phosphatase, total and direct bilirubin and an anatomico-pathological study of the liver was carried out. The results obtained showed an increase in TGO level in rats treated with chemical dye emulsion, whereas vegetable dye induced no alteration. The results of the anatomico-pathological study showed that rats treated with vegetable dye suffered less from inflammation, but not a significant degree.

Keywords: azo dye, beet juice, liver, inflammation.

أُجريت هذه الدراسة لتقييم تأثير اثنين من الأصباغ التجميلية: الكيمائية الحمراء من نوع أزويك، وصبغة نباتية تعتمد على عصير الشمندر على عدد من التحاليل المرتبطة بوظائف الكبد لدى جردان ويستار. أُجريت الدراسة على 38 أنثى من جردان ويستار. تم تقسيم هذه الجردان إلى 4 مجموعات كل منها مكونة من 8 إلى 10 جردان. استخدمت المجموعة الأولى كعنصر تحكم، والثانية عولجت بمستحلب بدون صبغة، والثالثة عولجت بمستحلب صبغة نباتية، والرابعة عولجت بمستحلب صبغة كيميائية. أُعطيت الأصباغ على شكل مستحلب عن طريق التطبيق الجلدي كل يوم لمدة 25 يوماً. تم تقدير جرعة بعض التحاليل الكيميائية الحيوية: TGP، TGP، TGO، الفوسفاتيز القلوي، البيليروبين الكلي والمباشر والدراسة التشريحية المرضية للكبد. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها زيادة في مستويات TGO في الفئران المعالجة بمستحلب الصبغة الكيميائية، في حين أن الصبغة النباتية لم تحدث أي تغيير. أظهرت نتائج الدراسة المرضية التشريحية المرضية أن الجردان المعالجة بالصبغة النباتية عانت من التهاب أقل، ولكن ليس بدرجة كبيرة.

الكلمات المفتاحية: صبغة الأزو، عصير الشمندر، الكبد، التهاب.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Remerciment.....	
Dédicace	
Résumé :.....	
Abstract:.....	
ملخص.....	
Sommaire	
liste figureur	
liste des tablaus	
Introduction	1
Partie I : synthèse bibliographique	
Chapitre I : Les Colorants cosmétiques	
I -1 Définition.....	4
I -2 Structure chimique.....	4
I -3 Codification.....	4
I -4 Classification des colorants	5
I -4-1 Les colorants naturels.....	6
I -4-1-1 Colorants d'origine minérale.....	6
I -4-1-2 Colorants d'origine animale	7
I -4-1-3 Colorants d'origine végétale	7
I -4-2 Les colorants synthétiques	7
I -4-2-1 Les colorants azoïques	8
I -4-2-2 Les colorants anthraquinoniques	9
I -4-2-3 Les colorants xanthanes	10
I -4-2-4 Autres colorants synthétique	10
Chapitre II Généralités sur le foie	
II -1 Définition	11
II -2 Anatomie du foie	11
II -2-1 Anatomie externe.....	11
II -2-1-1 La face supérieure ou diaphragmatique	12
II -2-1-2 La face inférieure ou viscérale	12
II -2-1-3 Face postérieure	13
II -2-2 Anatomie interne	14
II -3 Segmentation	15
II -4 Vascularisation.....	16

SOMMAIRE

II -5 Les cellules hépatiques	17
II -5-1 Les cellules parenchymateuses (hépatocytes)	17
II -5-2 Les cellules non parenchymateuses.....	17
II -6 Physiologie du foie	17
II -6-1 Production de la bile.....	18
II -6-2 Stockage et métabolisme hépatique	18
II -6-3 Métabolisme des glucides.....	18
II -6-4 Métabolisme des lipides	18
II -6-5 Métabolisme des protéines.....	18
II -6-6 La détoxification hépatique	19
II -6-7 Epuration	19
II -7 Les marqueurs biochimiques mesurent l'activité hépatique	19
II -7-1 Transaminases	19
II -7-2 Phosphatase alcaline (PAL)	20
II -7-3 La bilirubine	20

Partie II: partie expérimentale

II Matériels et Méthodes

II -1 Matériels utilisés	21
II -1-1 Matériel biologique.....	21
II 1-2 Conditions d'élevage.....	21
II -1.3 Matériel de préparation de l'émulsion	22
II -2-Méthode	24
II -2-1 Préparation de l'émulsion	24
II -2-1-2 Formule de l'émulsion	24
II -2-1-3 Mode opératoire	24
II -3- Protocole expérimental	26
II -3-1 Répartition et traitement des rats	26
II -3-2 Pesage des rats	26
II -3-3 Traitement des rats par les émulsions	27
II -4 Protocole expérimentale de l'étude	28
II -5Prélèvement sanguin.....	29
II -5-1 Dosage des paramètres biochimiques	29
II -6 Préparation des coupes histologiques	31
II -6-1 Dissection et prélèvement des organes.....	31
II -6-2 Etude histologique	31

SOMMAIRE

Chapitre III : Résultats

III- 1 Variations des paramètres biochimiques	35
III-1-2 Variation des taux de TGO	35
III -1-4Variation du taux de phosphatase alcaline :	36
III -1-5 Variation du taux de Bilirubine totale	37
III- 2 Résultats de l'étude histologique.....	39
Discussion.....	42
Conclusion et perspectives.....	45

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 01 : Classification schématique des colorants	6
Figure 02 : Structures de la bétanine	7
Figure 03 : Structure des colorants azoïques	8
Figure 04 : Formule développée du anthraquinonine	9
Figure 05 : Formule développée de l' xanthane	9
Figure 06 : La position du foie dans le corps	11
Figure 07 : Face supérieure du foie.	12
Figure 08 : Face inférieure du foie	13
Figure 09 : Face postérieure du foie	14
Figure 10 : Schéma de la structure d'un lobule hépatique	15
Figure 11 : Segmentation hépatique.....	16
Figure 12 : Système de vaisseaux et conduits intra –hépatiques)	16
Figure 13 : Rats Wistar	21
Figure 14 : Conditions d'élevage des rats	22
Figure15 : La gomme xanthane.	22
Figure16 : La glycérine végétale.	22
Figure 17 : Cire émulsifiante n°3	23
Figure 18 : IPM.	23
Figure 19 : Huile d'amande.....	23
Figure 20 : Conservateur.....	23
Figure 21 : Jus de betterave.	23
Figure 22 : Colorant chimique.....	23
Figure 23 : Préparation de la phase aqueuse	24
Figure 24 : Préparation de la phase huileuse	25
Figure 25 : Versement de la phase aqueuse sur la phase huileuse pour obtenir l'émulsion.	25
Figure 26 : Emulsion en colorant jus de betterave.....	25
Figure 27 : Emulsion avec colorant chimique	25
Figure 28 : Mesure de pH des émulsions	26
Figure 29 : Mesure du poids des rats.	27
Figure 30 : Application abdominale de l'émulsion	27
Figure 31 : Protocole expérimentale de l'étude.	28

Figure 32 : Prélèvement du sang au niveau du cœur fermé	29
Figure 33 : Automate des analyses biochimique modèle BECKMEN COULTER-AU480	29
Figure 34 : Dissection d'un rat.....	31
Figure 35 : Préparation des cassettes.	31
Figure 36 : Automate pour la circulation	32
Figure 37 : Préparation des blocs	32
Figure 38 : Les blocs après le refroidissement.....	33
Figure 39 :Microtom	33
Figure 40: Coloration hematpxyline d'Harris Eosine (HE).....	33
Figure 41 : Montage d'une lame	34
Figure 42 : microscope optique.....	34
Figure 43 : Comparaison des concentrations de TGO entre les différents groupes.	35
Figure 44 : Comparaison des concentrations de TGP entre les différents groupes.....	36
Figure 45 : Comparaison des concentrations de phosphatase alcaline entre les différents groupes.	37
Figure 46 : Comparaison des concentrations de bilirubine totale entre les différents groupes.	38
Figure 47 : Comparaison des concentrations de bilirubine directe entre les différents groupes.	38
Figure 48 : Coupe histologique d'un rat témoin.... ..	39
Figure 49 : Coupe histologique du foie d'un rat traité par colorant chimique (inflammation chronique)	39
Figure 50 : Coupe histologique du foie d'un rat traité par colorant végétal (inflammation lobulaire).	39
Figure 51 : Comparaison de nombre de rat selon la présence ou l'absence de l'inflammation hépatique.....	41

Liste des Tableaux

Liste des Tableaux

Tableau 01 : principaux groupements chromophores et auxochromes	4
Tableau 02 : Classification des colorants azoïques en fonction de l'index de couleur	9
Tableau 03 : Condition d'élevage des rats	21
Tableau 04 : Dosage des ingrédients de l'émulsion.....	24
Tableau 05 : Statistique descriptive de TGO.....	35
Tableau 06 : Statistique descriptive de TGP.	36
Tableau 07 : Statistique descriptive de la phosphatase alcaline.....	36
Tableau 08 : Statistique descriptive de la Bilirubine totale.....	37
Tableau 09 : Statistique descriptive de la Bilirubine directe.	38
Tableau 10 : Résultats de comparaison de nombres des tissus souffrant d'une inflammation.	40

% : pourcentage.

°C : degré celsius.

ALAT : Alanine Amino Transférase.

ASAT : Aspartate Amino Transferase.

Ca²⁺ : calcium.

CC : colorant chimique.

CI : Color Index.

Cl⁻ : chlore.

Cm : centimètre.

CV : colorant végétal.

DMSO : diméthylsulfoxyde.

ERO : espèces réactives oxygénée.

ERO : espèces réactives oxygénée.

FDA : Food and Drug Administration.

HE : hématoxyline d'Harris Eosine.

INCI : International Nomenclature for Cosmetic Ingredients.

IPM : Myristate d'isopropyle.

K⁺ : potassium.

Kg : kilo gramme.

LDH : lactate déshydrogénase.

MDH: Malate deshydrogénase.

Mg/L : milligramme /Litre.

ml : millilitre.

Na⁺ : sodium.

NaCl : chlorure de sodium.

Nm : nanomètre.

NS : Non significatif.

OR : *odds ratio*.

PAL : phosphatase alcaline.

SC : san colorant.

T : témoin.

U/L : Mcro/Litre.



Introduction

Introduction

L'utilisation des premiers produits cosmétiques datant de l'Antiquité, les Egyptiens se souciaient de l'hygiène et de l'apparence, et ils ont été les premiers à utiliser des parfums, puis du maquillage pour le visage (**Nardello, 2008**).

De nos jours, les produits cosmétiques font partie de la vie quotidienne de la population (**Hafner et al., 2020**), dans le but de nettoyer, parfumer, améliorer ou modifier l'apparence des individus et maintenir les parties du corps en bon état (**Farzana, 2020 ; Mahieu et Moucheron, 2003**).

La cosmétologie, qui repose sur des faits précis d'ordre biologique et physico-chimique, a connu une évolution significative au cours des dernières années. La consommation de produits de beauté est en plein essor, et chaque individu utilise de multiples produits de beauté différents tout au long de la journée (**Laheux, 2016**).

Les produits cosmétiques ont généralement de trois types d'ingrédients : les excipients qui soutiennent les actifs, les actifs qui fournissent les propriétés du produit, et les additifs qui améliorent sa conservation, son odeur et sa couleur. Cette dernière (la couleur) en particulier joue un rôle important dans le déclenchement de l'achat, car les repérés visuels sont souvent déterminants pour les consommateurs (**Mardari, 2021**).

Les colorants sont généralement classés en deux catégories en fonction de leur origine : naturelle ou synthétique (**Keck et al., 2015 ; Wargala et al., 2021**). Sur la base de leur structure chimique et du groupe chromophore qu'ils contiennent, ils sont subdivisés en plusieurs groupes tels que le xanthène, l'azoïque et le triarylméthane ... etc (**Vazquo et Ortega, 2020**).

Certains des premiers colorants organiques étaient des composés azoïques, et aujourd'hui encore, de nouveaux composés azoïques sont introduits sur le marché comme colorants (**Møller et Wallin, 2000**).

Vraisemblablement, plus de 2 000 colorants azoïques différents sont actuellement utilisés et plus de 7×10^5 tonnes de ces colorants sont produites dans le monde. Plus de 3 000 tonnes de colorants azoïques ont été certifiées en 1991 par la *Food and Drug Administration* (FDA) des États-Unis pour leur utilisation dans les aliments, les médicaments et les produits chimiques et produits de beauté. Ces colorants constituent le groupe majeur de colorants certifiés FDA (**Chung, 2016**).

Depuis des décennies la toxicité de ces produits à été discutée, plusieurs études expérimentales sur des modèles d'animaux ont accumulé, cependant les données sont contradictoires pour leur majorité.

Les ingrédients botaniques sont l'une des principales sources de matériaux utilisés dans les industries cosmétique et pharmaceutique. Ces dernières années, on a assisté à un intérêt croissant pour les produits dermocosmétiques et cosméceutiques produits à partir de matières végétales. Il y a eu un plus grand intérêt pour les produits à base de plantes ayant des propriétés de soin de la peau (**Michalak, 2023**). Non seulement les soins mais aussi comme additifs, fragrances et colorants, parmi eux en trouve le colorant à base du concentré du jus de betterave issu de *Beta vulgaris*.

De nombreuses applications, sites d'information et articles de presse alertent les consommateurs sur les risques liés aux cosmétiques. Cette information est nécessaire, mais elle est largement diffusée, sans grande explication, ce qui conduit les consommateurs à se tourner par exemple vers des produits considérés comme naturels et qu'ils estiment moins nocifs pour eux que les produits cosmétiques classiques. Toutefois, certains produits naturels peuvent également être nocifs pour la santé (**Barbaud et Lafforgue, 2021**).

De plus, plusieurs de producteur et industriels des produits naturels déclarent que leurs produits ne sont pas testés sur les animaux sous prétexte de soutien de la cause animale.

Ces dernières années, le nombre de produits cosmétiques « naturels » ou « biologiques » arrivés sur le marché a considérablement augmenté. Selon le Règlement REACH (Règlement EC1907/2006 du 18 décembre 2006), les produits naturels sont des « substances présentes dans la nature » : « une substance naturelle, à l'état naturel, non traitée ou traitée uniquement par des moyens manuels, mécaniques ou gravitationnels, par dissolution dans l'eau, par flottation, par extraction par l'eau, par distillation à la vapeur ou par chauffage uniquement pour éliminer l'eau, ou qui est extraite de l'air par un quelconque moyen." Le terme « naturel » n'est donc pas synonyme de « d'origine végétale » ou « inoffensif » (**Barbaud et Lafforgue, 2021**).

Cela nous amené à poser la question sur la sécurité des produits naturelles toute en les comparants à des produits synthétiques. Par exemple, le colorant à base du concentré du jus de betterave vs les colorants azoïques.

Le foie est un organe métabolique important avec un rôle de détoxification majeur. Cela nous à conduit de poser la problématique suivante : les colorants d'origines végétales affectent –ils la fonction hépatique ? Et quel est leur impacte par rapport aux colorants chimiques *in vivo* ?

La première partie de ce mémoire est consacrée à la synthèse bibliographique, elle comporte deux chapitres : Le premier traite, et Le deuxième développe les colorants cosmétiques.

La deuxième partie est consacrée à la description de la partie expérimentale et est partagée en deux chapitres : Le premier chapitre décrit le matériel et méthode utilisée durant ce travail. Le deuxième chapitre résume les résultats obtenus et la discussion.

Enfin, une conclusion sera tirée à la lumière de nos résultats.



Partie I :
Synthèse bibliographique



Chapitre I:

Les Colorants cosmétiques

I -1 Définition

Un colorant est défini comme étant un produit capable de teindre une substance d'une manière durable (**Capon et al., 1993**). Il est étant une teinture soluble dans un solvant ou une gamme de solvants (y compris l'eau) (**Riley, 2000**).

Un agent colorant peut être ajouté aux cosmétiques afin de colorer le produit lui-même ou une partie du corps (peau, cheveux, ongles ou cils) par absorption ou réflexion de la lumière visible (**Amberg et Fogarassy, 2019; Guerra et al., 2015; Guerra et al., 2018**).

I -2 Structure chimique

De manière générale les colorants possèdent des groupements qui lui confèrent la couleur appelés chromophores et des groupements qui permettent sa fixation auxochromes(**Capon et al., 1993**).

Les chromophores sont des groupes aromatiques, conjugués, comportant des doublets non liants ou des complexes des métaux de transition. Un auxochromes est dans une molécule, un groupement d'atomes éolisables pouvant changer la fréquence d'adsorption d'un chromophore (**tableau 1**).

Ces groupes auxochromes augmentent la délocalisation électronique, modifiant ainsi les énergies d'adsorption donc les coefficients d'extinction molaires et les fréquences d'adsorption (**Merzoug, 2014**).

Tableau 1 : principaux groupements chromophores et auxochromes (**Yahiaoui, 2013**).

Groupements chromophores	Groupements auxochromes
Azo (-N=N-)	Amino (-NH ₂)
Nitroso (-NO ou -N-OH)	Méthylamino(-NHCH ₃)
Carbonyl (=C=O)	Diméthylamino (-N(CH ₃) ₂)
Vinyl (-C=C-)	Hydroxyle (-OH)
Nitro (-NO ₂ ou =NO-OH)	Alkoxy (-OR)
Sulphure (>C=S)	Groupement donneurs d'électrons

I -3 Codification

Aux États-Unis, les fabricants de cosmétiques sont tenus d'adopter le système (*International Nomenclature for Cosmetic Ingredients*) « INCI » pour répertorier les ingrédients utilisés. (**Ahmed et Laeba, 2018**).

On retrouve les colorants sous la dénomination CI suivie d'un chiffre compris entre 10 000 et 80 000, chaque dizaine de mille est équivalente à une classe chimique différente (**Lacharme, 2011**).

Il s'agit d'un système international de dénomination des couleurs, en fonction de leur structure chimique. Chaque couleur a son propre numéro de base à cinq chiffres et les dérivés utilisent le même numéro de base avec un suffixe après deux points (**Gürses et al., 2016; Riley, 2000**).

Les deux premiers chiffres indiquent la catégorie structurelle du colorant. Parfois, ils sont également associés à un code E, ce qui signifie qu'ils peuvent être utilisés comme additifs alimentaires (**Guerra et al., 2018**).

I -4 Classification des colorants

Les colorants peuvent être classés en fonction de leur structure, de leur source, de leur couleur, de leur solubilité et de leurs méthodes application (**figure08**) (**Amberg et Fogarassy, 2019 ; Guerra et al., 2018 ; Gürses et al., 2016**).

En fonction de leur *solubilité*, les colorants peuvent être classés en deux catégories : les colorants et les pigments (**Amberg et Fogarassy, 2019**).

Les colorants : sont des composés hydrosolubles ou liposolubles et qui sont utilisés pour colorer des produits cosmétiques tels que les soins de la peau ou les produits de toilette.

Les pigments : sont pratiquement insolubles, ils restent sous forme de particules Ils se divisent en pigments minéraux et organiques, et sont utilisés pour le maquillage, par exemple, mais aussi pour la fabrication de Produits cosmétiques, comme les dentifrices, les savons et les masques de beauté (**Amberg et Fogarassy, 2019 ; Valet et al., 2007 ; Vazquez-Ortega et al., 2020 ; Wargala et al., 2021**).

En fonction de leur *couleur* formé avec divers colorants naturels, être classés en deux groupes à savoir :

- Monogénétique : ne produit qu'une seule couleur, quel que soit le mordant présent dans la fibre.
- Les colorants naturels polygéniques produisent différentes couleurs avec mordant différent (par exemple bois de campanule, fustique et cochenille) (**Affat, 2021**).

En fonction de leur *origine*, les colorants cosmétiques sont préparés à partir des sources naturelles ou sont synthétisés artificiellement (**Keck et al., 2015 ; Wargala et al., 2021**).

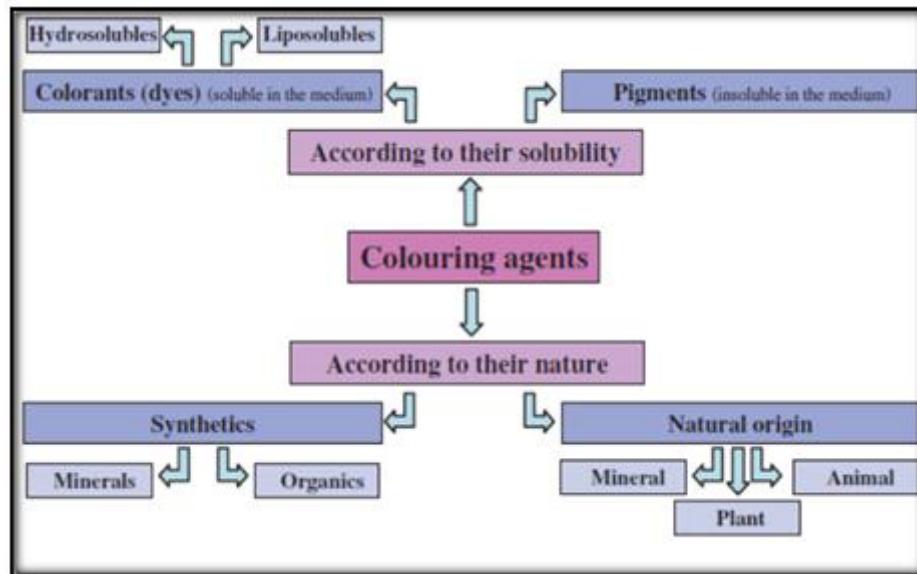


Figure 01 : Classification schématique des colorants (Valet et al., 2007).

I -4-1 Les colorants naturels

Les colorants naturels sont extraits des plantes, des fruits, des arbres, des lichens, des insectes ou des mollusques par des procédés simples comme le chauffage ou le broyage (Alaounia, 2009). Les colorants naturels peuvent être subdivisés en colorants naturels d'origine minérale, animale ou végétale.

I -4-1-1 Colorants d'origine minérale

Les colorants d'origine minérale, sont principalement utilisés dans les lotions et préparations externes (Ramesh et Muthuraman, 2018). Ces colorants inorganiques se caractérisent généralement par leur stabilité à la lumière et pour certains, par leur opacité. La gamme de couleurs obtenue avec ces substances est inférieure à celle des colorants organiques (Šuleková M, 2017).

Les colorants minéraux sont assez faciles à repérer dans la liste INCI, leur couleur index commence par CI 77XXX. Voici les principaux utilisés en cosmétique (Jean, 2020) :

CI 77891 Blanc (Dioxyde de titane) ; CI 77491 Rouge (Trioxyde de fer) ; CI 77499 Noir (Tétraoxyde de fer) ; CI 77019 Mica blanc ; CI 77007 Bleu (Lazurite) ; CI 77492 Jaune (Oxyde de fer).

I -4-1-2 Colorants d'origine animale

Ils sont beaucoup moins nombreux par rapport aux autres types de colorants naturels. Généralement, ces colorants sont obtenus à partir d'insectes séchés comme c'est le cas avec l'acide carminique, un colorant rouge anthraquinonique (CI 75810), extrait à partir de la femelle du cochenille (*Dactylopius coccus*) (Rowe, 2009).

I -4-1-3 Colorants d'origine végétale

Sont des colorants organiques et s'extraient à partir de feuilles, racines ou écorces de plantes tinctoriales.

Parmi les colorants d'origine végétale on distingue, l'alizarine et la purpurine qui sont des substances colorantes rouges extraites des racines de *Rubia tinctorum* plus connue sous le nom de garance qui est une plante herbacée des régions chaudes et tempérées. D'autres colorants rouges sont tirés de plantes comme la betterave, certains arbres ou lichens (Chetioui, 2010).

- **Cas du Rouge de betterave**

Le rouge de betterave est un extrait aqueux de la racine de la betterave (*Beta vulgaris*) obtenu par pression des betteraves écrasées jusqu'à l'obtention d'un jus, ou par extraction aqueuse de betteraves réduites en morceaux enrichies ultérieurement en principe actif. La principale matière colorante est constituée de bétacyanines (rouges), dont 75 à 95 % de bétanine donnant une couleur pourpre foncée. Le rouge de betterave permet de colorer les aliments en masse et en surface (uniformément) mais a l'inconvénient de ne pas être stable. Son principe actif est le D-glucopyranoside de bétanine (Arden et Marie, 1988 ; Hanssen, 1988). Ce colorant est admis pour tous les produits cosmétiques.

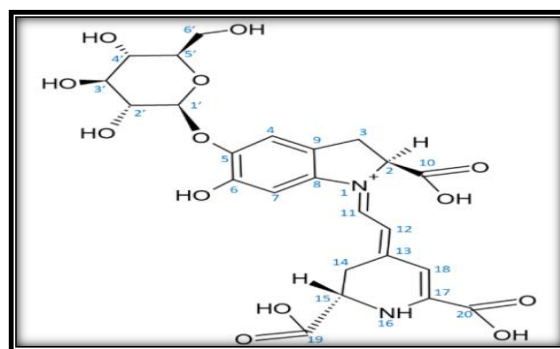


Figure 02 : Structures de la bétanine (Sadowska-Bartoszet, Bartosz, 2021).

I -4-2 Les colorants synthétiques

Ces colorants synthétisent principalement à partir des produits pétroliers notamment du benzène et de ses dérivés (toluène, naphthalène, xylène et anthracène). Ils représentent un groupe relativement

large de composés chimiques organiques rencontrés dans pratiquement toutes les sphères de notre vie quotidiennes (Desa et al., 2013 ; Peternel et al., 2007).

Le groupe chromophore est responsable du processus d'absorption du rayonnement électromagnétique dans les régions UV et visible, ce qui leur permet d'agir comme des molécules photo sensibilisatrices (Maiti et al., 2020 ; Vazquez et al., 2020 ; Wargala et al., 2021).

Egalement ; les colorants cosmétiques peuvent être classés selon leurs structures chimiques et du groupe chromophore qu'ils contiennent, en cinq groupes principaux : azoïque, triarylméthane, xanthènes, indigoïde et quinoléine.

I -4-2-1 Les colorants azoïques :

Sont des molécules synthétiques caractérisées par une ou plusieurs doubles liaisons réunissant deux atomes d'azote (N=N). Ces atomes sont liés à un nombre varié de noyaux aromatiques plus ou moins substitués suivant la nature des groupes substituant les colorants sont hydro ou liposolubles (Robert et al.,1973).

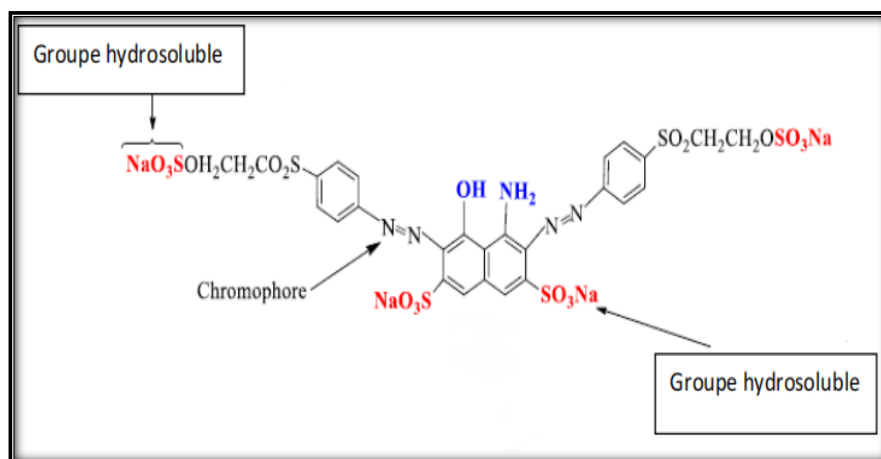


Figure 03 : Structure des colorants azoïques (Benkhaya et al., 2020).

Catégorie de colorant la plus réponde actuellement sur le plan de l'application (Tarnow et al., 2020), puisque il représente plus de 60% de la production mondiale de matière colorante (Benkhaya et al., 2020 ; Chung, 2016). Cela est dû à la facilité et la rapidité de leur production et aussi de leur grand variété de couleurs, en comparaison avec les colorants naturels (Milia, 2009).

Ces structures qui reposent généralement sur le squelette de l'azobenzène, sont des systèmes aromatiques ou pseudo aromatiques liés par un groupe chromophore azo (khan et Benerjee, 2010).

Les colorants azoïques sont classés en fonction du nombre de liaisons azoïques (-N=N-) présentes dans leur structure moléculaire. On distingue ainsi les colorants monoazoïques CI 15510 (orange), diazoïques CI 20170 (orange), triazoïques et polyazoïques (**tableau 02**).

Dans le système de classification Color Index (CI), les colorants azoïques sont numérotés de 11 000 à 39 999 en fonction de leur structure chimique spécifique. Ce système de numérotation a été développé par la *Society of Dyers and Colourists* pour permettre une classification détaillée des différents colorants (**chung, 2016**).

Tableau 02 : Classification des colorants azoïques en fonction de l'index de couleur (**Bafana et al., 2011 ; Benkhaya et al., 2020 ; Gürses et al., 2016**).

Classe chimique	Groupement CI
Monoazoïque	11000-19999
Diazoïques	20000-29999
Triazoïques	30000-34999
Polyazoïques	35000-36999
Azoïques	37000-39999

I -4-2-2 Les colorants anthraquinoniques

Ils sont les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène prouve que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino. Leurs chromophores sont des groupes carbonyles >C=O. On les obtient par la substitution de l'atome d'hydrogène H par des groupements hydroxyles et amino (**Chetioui, 2010**).

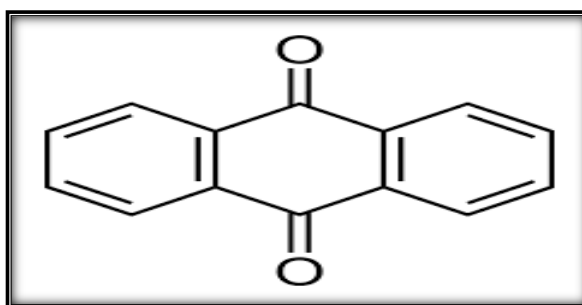


Figure 04 : Formule développée de l'anthraquinone.

I -4-2-3 Les colorants xanthes

Sont des composés qui constituent de les dérivés de la fluorescence halogénée, ils sont dotés d'une intense fluorescence. Leur propriété démarqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie. Ils sont aussi utilisés comme colorant en alimentaire, cosmétique, textiles et impression (**Lamri , 2010**).

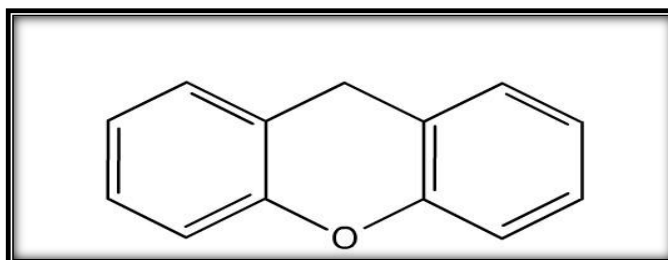


Figure05 : Formule développée de l' xanthane.

I -4-2-4 Autres colorants synthétique

A. Les colorants indigoïdes

Les colorants indigoïdes tirent leur appellation de l'indigo dont ils dérivent provoquent d'importants effets hypochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise (**Walace, 2001**).

B. Les colorants triphénylméthane

Sont des composés organiques colorés avec une structure de base comprenant trois cycles phényle liés à un carbone central large gamme de nuances (**Lamri, 2010**).

C. Les colorants quinoléiques

La structure principale des colorants quinoléiques est basée sur les aryles substitués de n-quinoléines et n-quinoldiamines. (**Perrin et Scharef, 1995**).

.



Chapitre II:

Généralités sur le foie

II -1 Définition

Le foie est un organe essentiel du corps humain, il constitue la plus volumineuse glande (pesant en moyenne 1.5 kg), représente environ 2 % du poids corporel d'un adulte (**Arjun et al., 2023**). Situé entre l'intestin et le cœur (auxquels il est relié d'une part par le système veineux porte d'autre part par les veines sus-hépatiques et la veine cave inférieure) (**Florin et al., 2005**), sous le diaphragme et au-dessus du rein droit et les intestins (**figure 06**), dans la partie supérieur droite de la cavité gastrique (**Olivia, 2022**).

De plus, c'est une petite usine de transformation chimique qui préserve les organismes et protège le système immunitaire contre le risque de sur charge (**Lukas, 2013**).

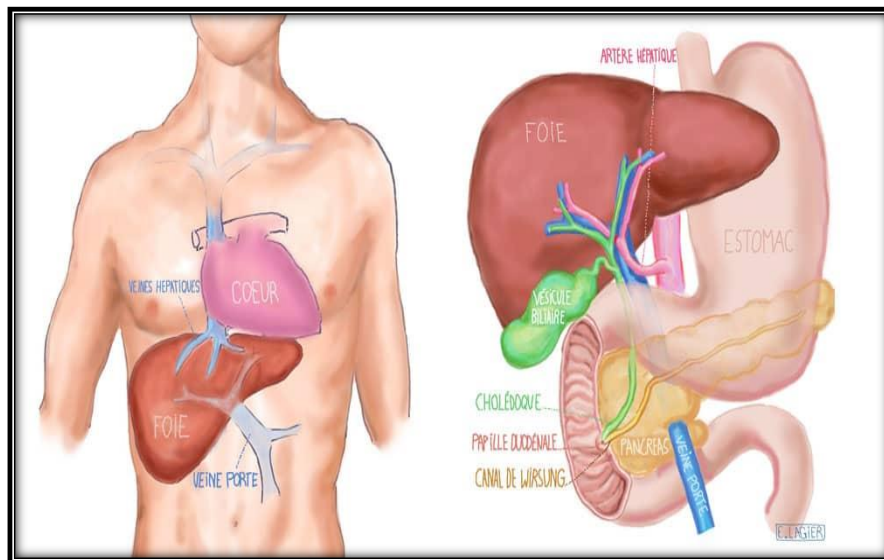


Figure 06 : La position du foie dans le corps (**Oriana et al., 2015**).

II -2 Anatomie du foie

Le foie est un organe glandulaire impair, sa taille de 28 cm en largeur, 8 cm en hauteur et 16 cm en profondeur, lisse et souple de couleur rouge- brun, et de consistance assez ferme (**Tamini, 1990**).

II -2-1 Anatomie externe

Le foie a la forme d'un demi-avoïde horizontale à grosse extrémité droit allongé transversalement sous le diaphragme (**Mellal, 2010**).

Depuis, il est constitué de deux parties, le lobe gauche (1/3 du volume) et le lobedroit (2/3 du volume), séparés par le ligament falciforme (**Malarkey et al., 2005**).

Le foie permet de décrire trois faces : supérieure, inférieure et postérieure.

II -2-1-1 La face supérieure ou diaphragmatique

La face supérieure est moulée sur le diaphragme large dans sa partie droite progressivement effilée vers la gauche, elle présente à l'union de ses deux tiers droits et de son tiers gauche, l'insertion du ligament falciforme, repli péritonéal sagittal, pratiquement médian, tendu entre le foie et le diaphragme. En avant, ce ligament se prolonge entre le ligament rond et la paroi abdominale antérieure. En arrière, ses deux feuillets s'écartent progressivement pour entourer la veine cave inférieure sus-hépatique. Il sépare le foie en deux lobes : le droit volumineux et le gauche plus petit (**Denis et al., 2006**) (**Figure 07**).

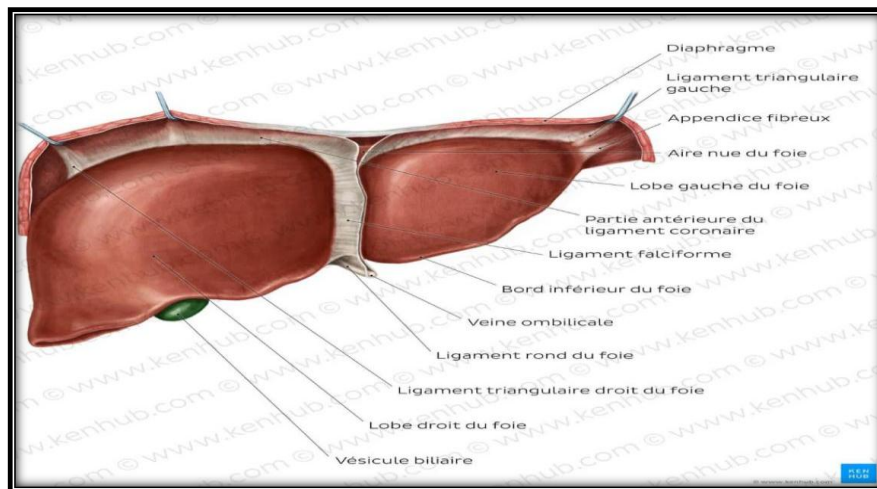


Figure 07 : Face supérieure du foie (Lounis, 2024).

II-1-2 La face inférieure ou viscérale

Elle est parcourue par trois sillons qui dessinent grossièrement la lettre **H**, deux sillons antéro-postérieurs (gauche et droit) et un sillon transversal, le sillon antéro-postérieur gauche est plus étroit mais coupe profondément la surface inférieure du foie, le sillon droit correspond à la fosse de la vésicule biliaire et le sillon transversal relie les deux sillons sagittaux constituant le hile hépatique (**Barone,1984**) (**figure 08**).

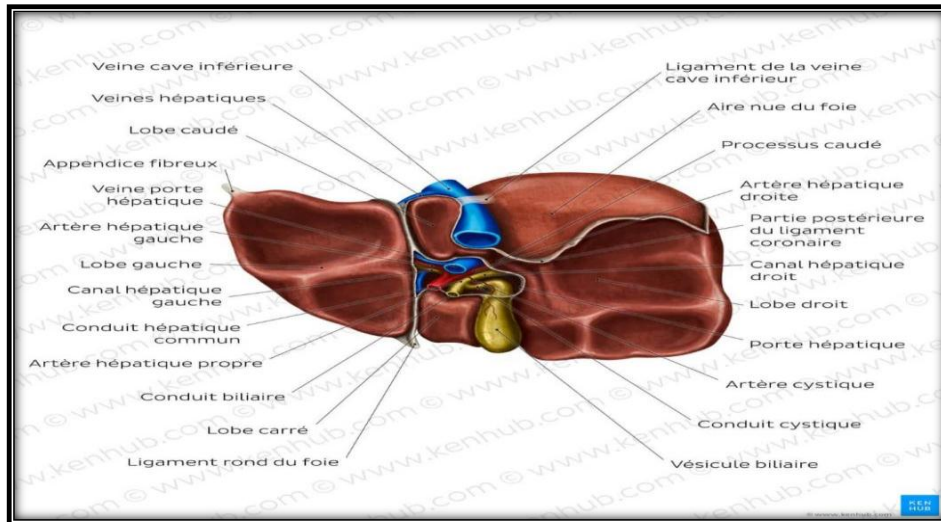


Figure 08 : Face inférieure du foie (Lounis,2024).

Ces trois sillons de la face inférieure foie découpent sur cette face quatre zones distinctes appelées lobes qui sont définies la portion de parenchyme : lobe gauche, le lobe droit, le lobe carré, et le lobe de spiegel (**Henri, 2002**).

- Une partie droite correspondant seulement à la partie du lobe droit située à droite de la vésicule biliaire.
- Une partie centrale antérieure le lobe carré limité par le sillon ombilical à gauche, le lit vésiculaire a droite et le hile en arrière appartenant au lobe droit (**Denis et al., 2022**).
- Une partie gauche correspondant au lobe gauche situé en dehors du sillon antéropostérieur gauche (**Casting et veilhan, 2006**).
- Une partie central postérieure, le lobe de spiegel au lobe caudé qui appartient du foie situé entre la veine cave inférieure en arrière et le hile en avant (**Denis et al., 2022**).

II-1-3 Face postérieure

Elle est pratiquement verticale et se moule sur la face intérieur et la veine cave et sur la convexité de la colonne vertébrale (**Casing et veilhan, 2008**). Elle marquée par la présence de deux sillon :

- Un sillon verticale droit, où se loge la veine cave inférieure amarrée au foie par les veines sus-hépatiques.
- Un sillon verticale gauche, qui prolonge le sillon d'*Arantius* (**Mellal, 2010**).

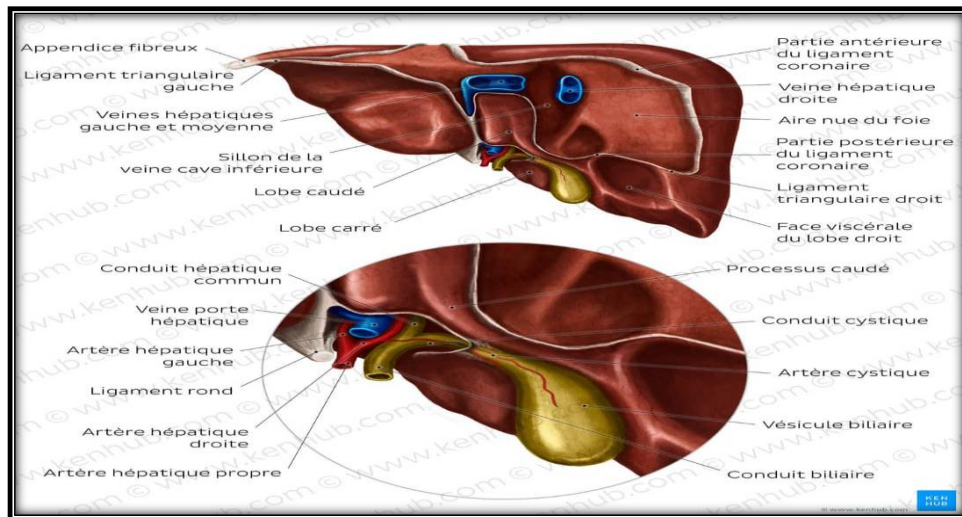


Figure 09 : Face postérieure du foie (Lounis, 2024).

II -2-2 Anatomie interne

Le foie est un organe complexe composé de plusieurs types de tissus qui lui confèrent ses fonctions spécifiques.

IL est entouré partiellement de péritoine et enveloppé d'une capsule fibreuse mince et résistante, la capsule de Glisson, qui se prolonge à l'intérieur du foie, forme des cloisons qui séparent les lobules hépatiques et fournissent un soutien structurel (Castiang et Veilhan, 2006).

- Les lobules hépatiques sont l'unité anatomique et fonctionnelle du foie, ils se présentent comme une structure hexagonale. Chaque lobule hépatique est entouré par des tracts portaux, qui contiennent des vaisseaux sanguins, des tissus conjonctifs et des canaux biliaires (Grisham, 2009). Au sein d'un lobule, les lames d'hépatocytes sont disposées de façon radiaire autour d'une veine centro-lobulaire vers laquelle convergent les sinusoides pour s'y aboucher par de larges fenêtres. Les angles des lobules hépatiques délimitent les espaces portes ou espaces *de kiernan*. Ces espaces ont une forme arrondie ou triangulaire et contiennent la triade porte préterminale, composée d'une artère, veine porte et canal biliaire. Les côtés des lobules forment les cloisons péri-lobulaires dans lesquelles cheminent les structures biliaires avec les branches terminales des vaisseaux portes (Figure 10) (Martin et Feldmann, 1983).

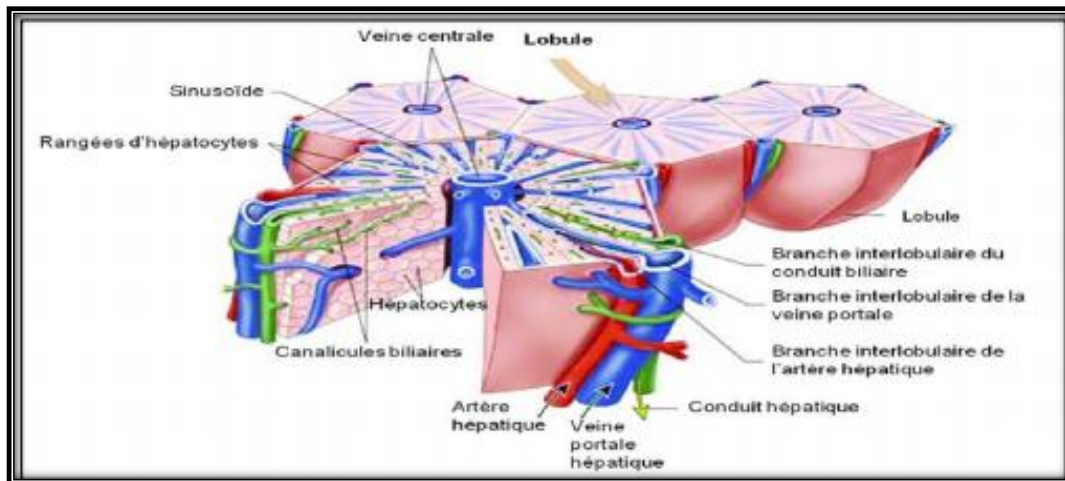


Figure 10 : Schéma de la structure d'un lobule hépatique (Brik et Kahli, 2020).

II -3 Segmentation

La segmentation hépatique est une segmentation fonctionnelle basée sur la distribution intra-hépatique des éléments du pédicule hépatique, dont la veine porte constitue l'élément directeur, elle peut être portale ou sus-hépatique (Henri et al., 2002).

- **Segmentation portale** : est la segmentation la plus importante du point de vue chirurgical permet de diviser le foie en un foie gauche et un foie droit correspondant au ramification de la veine porte.
- **Segmentation sus-hépatique** : Basée sur la disposition des veines sus-hépatiques (mellal, 2010).

La distribution du pédicule hépatique comprend cinq secteurs : le secteur dorsal qui sépare les deux foies, les quatre autres, paramédians et latéraux forment le foie gauche et droit. Ces secteurs se divisent en deux segments, à l'exception du secteur dorsal et latéral gauche qui reste monosegmentaire. Ainsi, il y a huit segments numérotés de **1 à 8** sur la face inférieure du foie, en suivant le tronc porte dans le sens inverse des aiguilles d'une montre, le huitième segment n'étant visible que sur la face dorsale. Chaque segment possède son propre système de vascularisation et de drainage biliaire :

- Le segment 1 correspond au lobe caudé et à la partie du foie en avant de la veine cave.
- Le segment 2 correspondant au secteur postérieur gauche.
- Les segments 3 et 4 constituant le secteur antérieur gauche, et siégeant l'un à gauche (Segment 3) et l'autre à droite (segment 4) de la fissure ombilicale et du ligament rond.
- Le segment 5 correspondant à la partie inférieure et le segment 8 à la partie supérieure du secteur antérieur droit.

- Le segment 6 correspondant à la partie inférieure et le segment 7 à la partie supérieure du secteur postérieur droit (Couinaud, 1993) (figure 11).

Le foie gauche est composé des segments 4,3 et 2, tandis que le foie droit est constitué des segments 8, 7,6 et 5 (Couinaud, 1981).

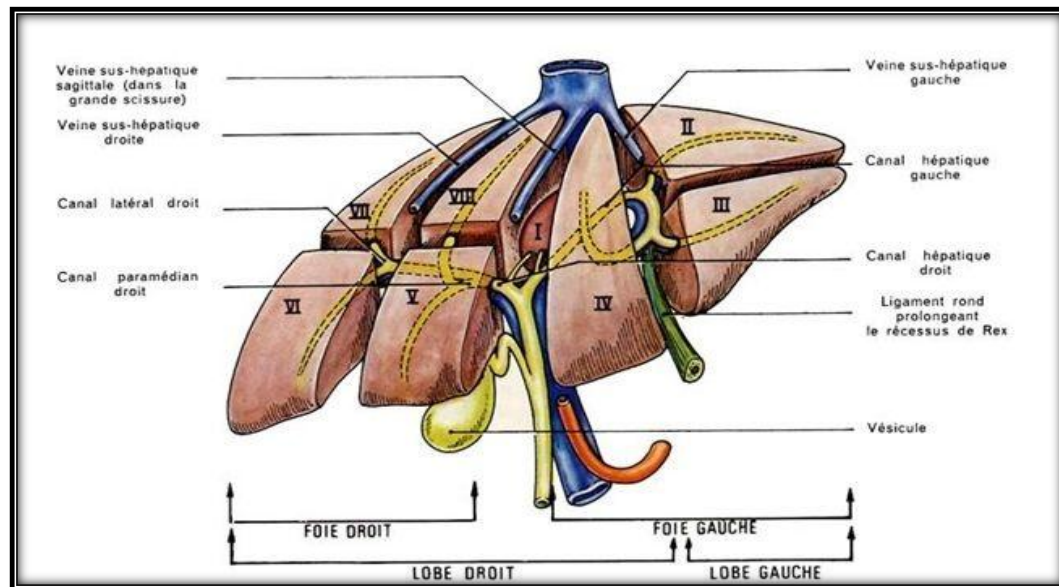


Figure 11 : Segmentation hépatique (Frexinos et al., 1988).

II -4 Vascolarisation

Le foie est un organe hautement vascularisé dans le corps humain, représente plus de 10% du volume sanguin total et environ 1,4 litre de sang le traverse chaque minute chez un adulte moyen (Oriana et Denis, 2015). Il possède une double vascularisation à la fois fonctionnelle est assurée par la veine port, et à la fois nutritive assurée par l'artère hépatique, (Figure 12) (Mellal, 2010).

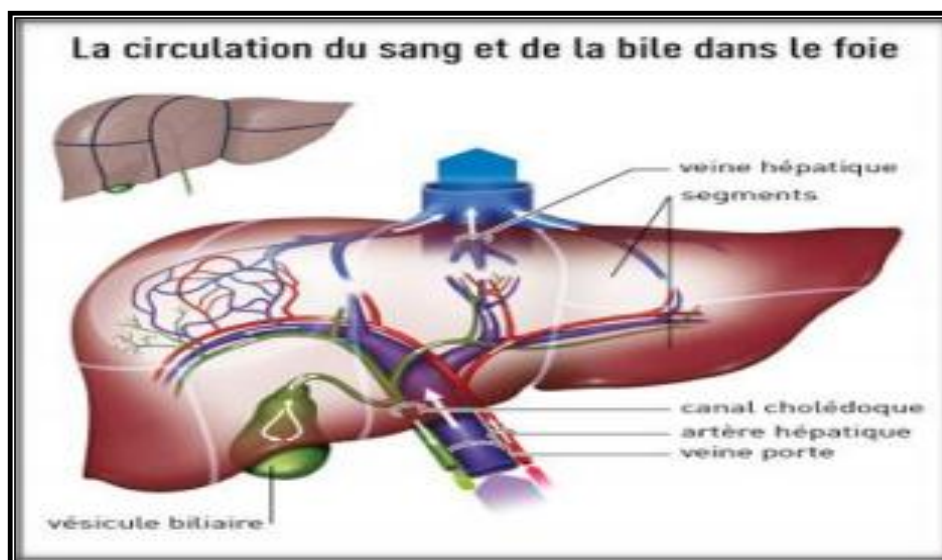


Figure 12 : Système de vaisseaux et conduits intra-hépatiques (Gosling et al., 2003).

II -5 Les cellules hépatiques :

Le foie est composé de deux types de cellules : les parenchymateuses (hépatocytes), et de quatre cellules non parenchymateuses qui contribuent à la diversité cellulaire de cet organe (**Benhamou et Erlinger, 2008**).

II -5-1 Les cellules parenchymateuses (hépatocytes)

L'unité fonctionnelle du foie, représente environ 70% des cellules hépatiques (**Rosenbaum, 1991**). Sont étroitement associés aux sinusoides pour permettre des échanges avec le sang à travers l'espace de Disse. A l'un de leurs pôles, ils forment avec un hépatocyte voisin un canalicule biliaire (**Stevens et Lowe, 2006**).

II -5-2 Les cellules non parenchymateuses

A côté des cellules hépatiques parenchymateuses, on peut distinguer d'autres types cellulaires (**Brik et Kahli, 2020**) :

➤ **Les cellules endothéliales sinusoidales** : sont les cellules qui entourent la sinusoïde, ont une structure lâche (pas de membrane basale) qui facilite les échanges de petites molécules entre le sang et les hépatocytes (**Benhamou et Erling, 2008 ; Dooley et al., 2011**).

➤ **Les cellules péri-sinusoidales stellaires** : sont les cellules riches en graisses (cellules d'Ito), constituent 5% des cellules hépatiques et se situent dans l'espace péri sinusoidal entre la surface bas latérale des hépatocytes et le côté anti-limbal des cellules endothéliales sinusoidales (**Lecluyse et al., 2012**), elles sont des réserves rétinoides tels que la vitamine A (**Senoo, 2004**).

➤ **Les cellules de kupffer** : sont des macrophages tissulaires résidant dans le foie, représentent 5 à 10% des cellules hépatiques et habituellement localisées à l'intérieur de la micro-vascularisation sinusoidale en contact avec les cellules endothéliales (**Dooley et al., 2011**).

Les cellules de kupffer peuvent moduler les activités métaboliques des hépatocytes en produisant le cytokine (**Morgan, 2009**).

➤ **Les cellules épithéliales biliaires polarisées** : sont les cellules polarisées présentes dans le canal biliaire et sont responsables de la production de la bile (**Benhamou et Erling, 2008**).

II -6 Physiologie du foie

Le foie est un organe polyvalent occupant diverses fonctions vitales :

II -6-1 Production de la bile

La sécrétion biliaire constituée l'une des fonctions les plus importantes du foie. La bile est un liquide biologique jaune-verdâtre secrétée de manière continue et à raison de 800 à 1000 ml par jour près de la moitié de cette production est stockée et concentrée dans la vésicule biliaire, principalement la nuit et l'autre moitié est directement déversée dans le duodénum, la bile est composée à 95% d'eau ;mais également d'électrolytes non organique (Na^+ , k^+ , Ca^{++} , Cl^-), des sels biliaires, d'acide biliaire, de cholestérol, des pigments biliaires, et des phospholipides (**Olivia, 2022**). Après la sécrétion de la bile elle subit une circulation entéro-hépatique où elle accomplit son travail dans l'intestin (**Arjun et al.,2023**).

II -6-2 Stockage et métabolisme hépatique

Le foie possède de nombreuses fonctions métaboliques qui peuvent être regroupées en trois fonctions principales : métabolisme des glucides, lipides et protéines.

II -6-3 Métabolisme des glucides

Le foie prélève le glucose et d'autres monosaccharides du plasma pour les stocker sous forme de glycogène ou les convertir en acides gras. En cas de baisse de la glycémie, le foie libère du glucose en dégradant les réserves de glycogène. Si ces réserves sont épuisées, le glucose peut être synthétisé par néoglucogenèse à partir de lactate, de glycérol ou du squelette carboné des acides aminés (**Koolman et Rohm, 2004**).

II -6-4 Métabolisme des lipides

Le foie est essentiel dans le métabolisme des lipides. Il est capable de synthétiser, de sécréter dans la bile et dans le plasma et de dégrader une grande quantité des graisses (**Carol et al., 1975**). Le foie peut assembler les acides gras et le glycérol en triglycéride, qui sont conditionnés avec des particules de lipoprotéines de très faible densité pour la sécrétion des hépatocytes dans la circulation sanguine.

II -6-5 Métabolisme des protéines

Les protéines sont apportées par l'alimentation, puis dégradées en acides aminés et transportées vers le foie via la veine porte. A partir de ces protéines, le foie crée l'albumine essentiellement responsable de la pression oncotique ; c'est-à-dire en maintient la quantité de liquide dans le secteur vasculaire. Le foie crée les protéines pro-coagulation et anti-pro-coagulation en quantité équivalente pour garantir un équilibre en cas de besoin.

Les cellules hépatiques fabriquent la protéine plasmatique issue du fibrinogène soluble pour devenir des brins de fibrine insoluble contribuant à former le caillot sanguin, jouant un rôle de catalyseur impliqué dans la réaction de coagulation (**Gorzowski, 2023**).

II -6-6 La détoxification hépatique

La détoxification hépatique est une succession de réactions visant à éliminer les toxiques de l'organisme, notamment l'alcool, les drogues, l'ammoniaque, les pesticides et les métaux lourds.

Le foie possède des cellules de Kupffer se trouvant le long des vaisseaux hépatiques qui libèrent le sang de toutes les substances étrangères comme les bactéries. Elles ont la capacité de trier les globules rouges défectueux ou trop anciens en les envoyant vers la rate pour être éliminés par les macrophages. Le foie favorise la transformation de la bilirubine libre qui est toxique en bilirubine conjuguée. Cette bilirubine est le résultat de la dégradation des globules rouges dans la rate (**Gorzowski, 2023**).

II -6-7 Epuration

Les produits de dégradation peu solubles dans le sang, seront rejetés dans les canalicules biliaires par la face d'hépatocytes opposée aux capillaires sinusoides ; et grâce à l'action émulsifiante des acides biliaires, ils peuvent être mis en solution dans la bile et parvenir dans l'intestin avec cette dernière. Ils seront alors éliminés dans les selles (**Baudin, 2021 ; Bessagnet et Desmoulière, 2021**).

II -7 Les marqueurs biochimiques mesurent l'activité hépatique

II -7-1 Transaminases :

Impliqués dans la recherche d'une hépatite cytolitique virale, médicamenteuse ou toxique modérément augmentée.

Les transaminases (ou amino-transférases) sont des enzymes hépatocytaires dont la fonction est de catalyser des réactions de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-cétonique.

Il existe deux transaminases : *ASAT* = *Aspartate Amino Transferase* ou *SGOT* (*Serum-Glutamate-Transaminase*). *ALAT* = *Alanine Amino Transférase* ou *SGPT* (*Serum-Glutamyl-Pyruvate Transaminase*) (**Guyader, 2005**).

Le cœur, le foie et les muscles squelettiques sont riches en *L'ASAT*, tandis que *L'ALAT* est principalement présente dans les hépatocytes (cellules du foie) (**Lazo, 2008**).

II -7-2 Phosphatase alcaline (PAL)

Les phosphatases alcalines sont des enzymes présentes dans de nombreux tissus de l'organisme, notamment le foie, le pancréas et os. Elles hydrolysent les organophosphorés et libèrent les phosphates minéraux insolubles essentiels pour la calcification et la minéralisation des os du squelette et jouent également un rôle de "transporteur" du phosphate et d'autres substances (lipides et Ca^{2+} au niveau intestinal) (**Chevrot, 2017**).

II -7-3 La bilirubine

La bilirubine est un pigment biliaire jaune rougeâtre issu de la dégradation de l'hémoglobine du sang (**Hunter, 2006**). On distingue la bilirubine indirecte (non-conjuguée) et directe (conjuguée) avec du glucuronate (**Gilles et al., 2006**). La bilirubine non conjuguée est insoluble dans l'eau et doit être transformée dans le foie en bilirubine conjuguée soluble dans l'eau, qui est ensuite excrétée dans la bile et éliminée de l'organisme par voies biliaires (**Vítek, 2012**).



Partie II :
Partie expérimentale



Matériels et Méthodes

II -1 Matériels utilisés

La préparation du traitement a été effectuée dans le laboratoire de biochimie au niveau du hall technologique, ainsi, l'élevage et le traitement des animaux a été réalisé au niveau de l'animalerie du département d'Agronomie de la faculté des sciences de l'université de 20 aout 1955 Skikda.

II -1-1 Matériel biologique

Des rats femelles blancs de la souche Wistar albinos, ont été commandés de l'institut Pasteur (Centre EL Koubba, Alger) fin de février. A leur arrivée ces rats étaient âgés de 5 à 6 semaines d'un poids corporal compris entre (130 à 200 g). Les rats ont subi une période d'adaptation de 15 jours suivie par une période de traitement de 25 jours.



Figure 13: Rats Wister (photo original).

II -1-2 Conditions d'élevage

Les condition d'élevage sont résumées dans le **tableau 03** et illustrées dans la figure

Tableau 03 : Condition d'élevage des rat.

Condition	Description
Période d'adaptation	15 jours
Température	20 à 23°C
Lumière	Du jour
Aération	Naturelle
Cage	Plastique transparent, grillagée
Litière	copeaux de bois
Nourriture	aliment standard sous forme des croquettes
Eau	Filtrée, du robinet
Nettoyage	Quotidien avec changement de la litière



Figure 14 : Conditions d'élevage des rats (photo originale)

II -1.3 Matériel de préparation de l'émulsion

Dans cette étude, on a traité les rats en utilisant des colorants cosmétiques de deux origines : chimique de nature azoïque et végétal naturel type jus de betterave. Ces deux colorants ont été incorporés séparément dans des émulsions à application dermique. La matière primaire est la suivante :

- **La phase aqueuse :**
 - Eau distillée.
 - Agent humectant : la Glycérine végétale.
 - Agent épaississant : Gomme xanthane.



Figure15 : La gomme xanthane.



Figure16 : La glycérine végétale.

- **La phase huileuse :**
 - Huile végétale : huile d'amande douce.
 - Agent émulsifiant : Cire émulsifiante n°3.
 - Agent émollient : Myristate d'isopropyle (IPM).
 - Conservateur : le Cosgard.
 - Colorant chimique azoïque rouge.
 - Colorant végétal (jus de betterave).



Figure 17: Cireémulsifiante n°3.



Figure18 : IPM.



Figure 19 : Huile d'amande douce.



Figure 20 : Conservateur.



Figure 21 : Jus de betterave.



Figure 22 :Colorant chimique.

La majorité des produits utilisés dans la fabrication de l'émulsion et selon le fabricant (Aromazone) sont d'origine végétale, issus d'une agriculture biologique et certifiés par Ecocert Greenlife. Le choix de ces produits a pour but d'éviter une possible interférence avec notre objectif d'étude.

II -1-3-1 Matériels d'étude au laboratoire :

L'ensemble du matériel et produits utilisés dans notre expérience sont :

- Becher.
- Une balance de précision.
- Spatule.
- Fouets.
- Papier ph mètre.
- Deux plaques chauffantes .
- Flacon en verre stérile.
- Une petite cuillère.
- Thermomètre.
- Bols pour bain marie.

II -2-Méthode :

II -2-1Préparation de l'émulsion :

Principe :

Une émulsion est formée de deux phases liquides non miscibles : l'une est lipophile, l'autre est hydrophile, liée par un émulsifiant pour assurer la stabilité (Caullet et al., 2018).

Phase aqueuse + phase huileuse + Cire émulsifiante n°3 = Emulsion (crème, lait corporel...)

II -2-1-2Formule de l'émulsion :

Trois émulsion ont été préparées : émulsion sans colorant, émulsion avec colorant rouge azoïque, émulsion avec colorant végétal rouge jus de betterave.

Le dosage de chaque composant est mentionné dans le **tableau 04**

Tableau 04 : Dosage des ingrédients de l'émulsion

Ingrédient	Dosage		
	Sans colorant	Colorant chimique	Colorant Végétale
Eau distillées	77,4%=77,4g	77,4%=77,4g	77,4%=77,4g
Glycérine végétale	3,5%=3,5g	3,5%=3,5g	3,5%=3,5g
Gomme xanthane	1%=1g	1%=1g	1%=1g
Huile d'amande douce	9,5%=9,5g	9%=9g	9 %=9 g
Cire émulsifiante	5%=5g	5%=5g	5%=5g
Myristate disopropyle (IPM)	3%=3g	3%=3g	3%=3g
Conservateur	0,6%=0,6g	0,6%=0,6g	0,6%=0,6g
Colorant chimique	/	/	/
Colorant végétale	/	/	0,5%=0,5g

II -2-1-3Mode opératoire :

• **Préparation de la phase aqueuse :**

Les ingrédients de la phase aqueuse sont ajoutés l'un après l'autre dans un récipient : l'eau distillée, glycérine et la gomme xanthane. Agitation des ingrédients en utilisant un fouet pour dissoudre la gomme xanthane.



Figure 23:Préparation de la phase aqueuse (photos originales).

- **Préparation de la phase huileuse :**

Les ingrédients de la phase huileuse sont ajoutés et agités l'un après l'autre dans un récipient : l'huile végétal, la cire émulsifiante et l'IPM.



Figure 24 : Préparation de la phase huileuse (photo originale)

- Deux bains marie sont préparés simultanément, l'un pour la phase aqueuse et l'autre pour la phase huileuse.
- Les deux phases sont agitées continuellement La température dans les deux bols ne doit pas dépasser 70°C.
- Après dissolutions de la cire émulsifiante les deux bols sont retirés du bain marie.

La phase aqueuse est versée sur la phase huileuse, le mélange est agité pendant 03 minutes jusqu'à obtention d'une émulsion (ressemble à un lait).

- Après refroidissement (35°C -45°C), le conservateur est ajouté.

Le colorant est ajouté, dans le cas où l'émulsion contient un des deux de ce dernier.

Le pH de la préparation finale est vérifié. C'est une émulsion à pH neutre (pH=7).

- Chaque émulsion est transférée dans un flacon stérile en verre.



Figure 25: Versement de la phase aqueuse sur la phase huileuse pour obtenir l'émulsion.



Figure26 : Emulsion en colorant jus de betterave. **Figure 27 :** Emulsion avec colorant chimique

II -2-1-4 Mesure de pH

Par un pH mètre, on mesure le pH de chaque émulsion.



a) Émulsion sans colorant
Ph=7

b) émulsion avec colorant
végétale pH=7

c) émulsion avec colorant
chimique pH = 7

Figure28 : Mesure de pH des émulsions.

II -3- Protocole expérimental

II -3.1. Répartition et traitement des rats :

Après une période d'adaptions de 15 jours pour permettre aux rats de s'habituer à leur environnement, les rats ont été répartis aléatoirement en 4 groupes de 8 à 10 rats chacun. Les groupes sont :

Groupe 01(T) : 8 rats, c'est le groupe de témoin, qui n'a pas pris aucun traitement.

Groupe 02 (SC) : 10 rats, traités par l'émulsion sans colorant

Groupe 03 (CV) : 10 rats, traités par l'émulsion en colorant végétal (jus de betterave).

Groupe 04 (CC) : 10 rats, traités par l'émulsion en colorant chimique azoïque.

II -3-2 Pesage des rats :

La mesure du poids est effectuée à l'aide d'une balance électronique. Sur les rats pendant la durée d'élevage, soit au cours de l'adaptation (pour l'évaluation des changements possibles par la nourriture ou les facteurs externe), ou au cours de traitement (pour évaluer les effets des émulsions appliquées).

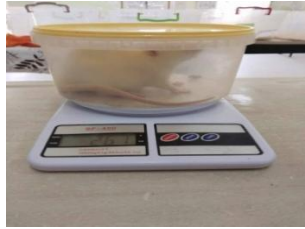


Figure 29 : Mesure du poids des rats.

II -3-3 Traitement des rats par les émulsions :

A l'exception du lot témoin, les rats de trois autre lot, on désinfecte la zone abdominale de chaque rat avec une dose de 0,1 g de l'eau oxygéné (6%) à l'aide d'un coton, Ensuite les rat ont reçus la même dose de (0,1 g) de l'émulsion de la même manière que l'application du l'eau oxygénée en utilisant une spatule stérile, pendant 25jour.



Figure 30 : Application abdominale de l'émulsion (photo originale).

II -4- Protocole expérimentale de l'étude

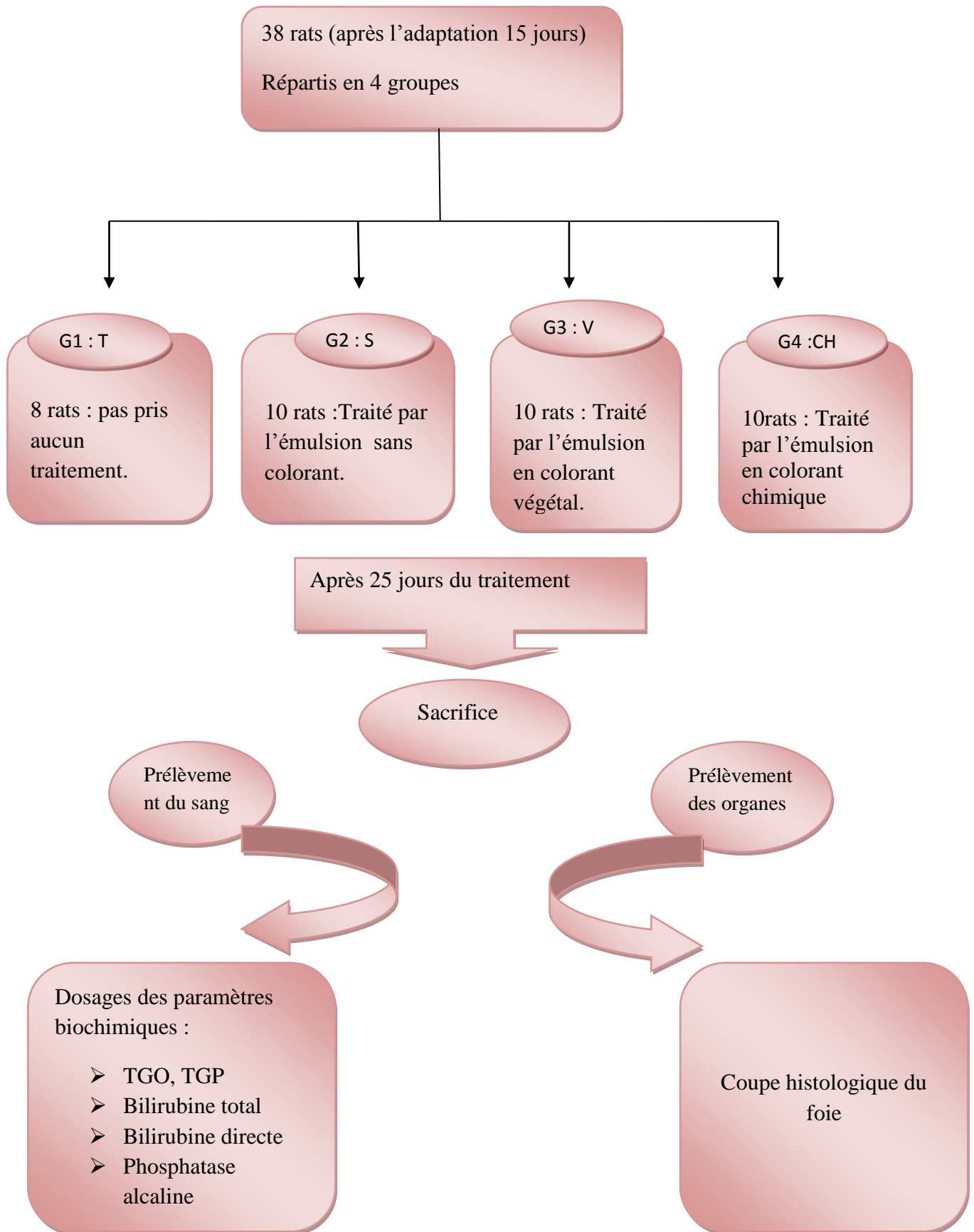


Figure 31: Protocole expérimentale de l'étude.

II -5-Prélèvement sanguin

Pendant une période de 25 jours, nous avons minutieusement suivi un groupe de 38 rats qui ont été soumis à ce traitement, après la période de traitement initiale, les rats ont été soumis à un jeûne la veille du prélèvement prévu. Cette mesure vise à assurer des conditions standardisées avant l'anesthésie et le prélèvement des échantillons.

Les rats à jeun sont anesthésiés par le chloroforme pour assurer la stabilité des rats pendant les prélèvements, cette méthode est utilisée conformément aux protocoles éthiques et de bien-être animal.

Le prélèvement sanguin a été effectué au niveau cœur fermé en utilisant une seringue jetable propre. Le sang recueilli (environ 5 ml) est placé dans des tubes héparine pour le dosage des paramètres biochimiques sanguins (AST, ALAT, ALP, et bilirubine).



Figure 32 : Prélèvement du sang au niveau du cœur fermé. (Photo original)

II -5-1 Dosage des paramètres biochimiques

Le dosage des paramètres biochimiques a été effectué par un automate modèle biochimique BECKMAN COULTER AU480.



Figure 33 : Automate des analyses biochimique modèle BECKMEN COULTER-AU480 (photo originale).

➤ Dosage d'Alanine Amino Transférase (ALAT ou TGP)

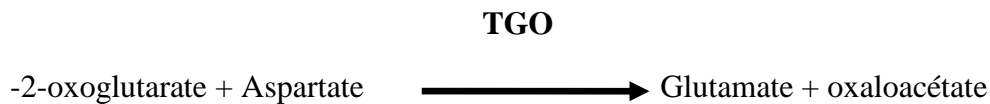
C'est une technique fait à l'aide de Kit d'Alanine Amino Transférase selon les réactions suivante. (Kaplan et al, 1984 ; Young, 1995).



La diminution de l'absorbance proportionnelle à l'activité ALT, est mesurée à 340 nm (Henry et al., 1960 ; Bergmery et al., 1978).

L'Aspartate-Aminotransférase (ASAT/TGO) :

La détermination cinétique de l'activité Aspartate-Aminotransférase se fait par la réaction chimique suivante :



Le taux de la diminution de la concentration en NADH est directement proportionnel à l'activité l'Aspartate-Aminotransférase dans l'échantillon (Bergmyer et Horder, 1980).

➤ Dosage de phosphatase alcaline (ALP)

La phosphatase alcaline est présente dans de nombreux tissus incluant le foie et les os. La détermination colorimétrique de l'activité phosphatase alcaline selon la réaction suivant : (Belfield et Glodberg, 1971).



➤ Bilirubine totale

La bilirubine réagit avec l'acide sulfanilique diazoté à pH acide pour produire l'azobilirubine. Cette réaction est instantanée avec la bilirubine directe (la bilirubine conjuguée), parcontre avec la bilirubine totale (bilirubine non conjuguée) elle est indirecte et nécessite la solubilisation par le diméthylsulfoxyde (DMSO). (En absence de DMSO, seule la bilirubine directe réagit). L'intensité

de la coloration est proportionnelle à la concentration de la bilirubine dans l'échantillon (Malloy et al., 1937 ; Kaplan et al., 1984).

II -6- Préparation des coupes histologiques

II -6-1 Dissection et prélèvement des organes

Le foie été rapidement prélevée rincé avec une solution saline (NaCl0.9%) pour éliminer les impuretés, Ensuite ils sont pesés et conservés dans une solution de formol à 10%. Cette solution fixative permet de stabiliser les tissus biologiques, pour réaliser l'étude histologique.

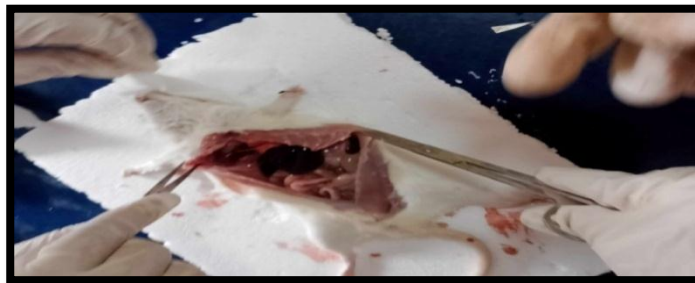


Figure 34 : Dissection d'un rat (photo originale).

II -6-2 Etude histologique :

Les coupes histologiques sont biopsies (prélèvement d'un tissu de petite taille), qui ont été réalisés suivant la technique classique de Houlot, (1984) qui comporte les étapes suivantes :

- **Préparation des cassettes :**

Le foie prélevé est découpé avec un quêtuse en fragment de 3 mm d'épaisseur, puis on les met dans les cassettes plastique codifiés (portant le code d'identification pour chaque rat) et placés dans le formole pendant 24h.



Figure 35 : Préparation des cassettes (photo originale).

- **Circulation :**

Elle est réalisée à l'aide d'un automate pendant 16h qui effectuée la déshydratation par passage dans une série des bains d'éthanol à concentrations croissantes (80%, 95% et 100%). La 2^{ème} étape consiste en un nettoyage dans le xylène suivie par une infiltration par la paraffine chaude.



Figure 36 : Automate pour la circulation (photo originale).

- **Inclusion :**

Dans un moule métallique placé à l'étuve à 56°C, on verse au fond quelques gouttes de paraffine liquide, puis mettre l'organe en veillant au sens pour obtenir une coupe de tous les tissus, recouvrir la pièce par la cassette, puis rajouter de nouveau de la paraffine liquide.

Après le refroidissement du moule à une température de -2°C, on obtient un bloc de paraffine dur qui contient la pièce prélevée.

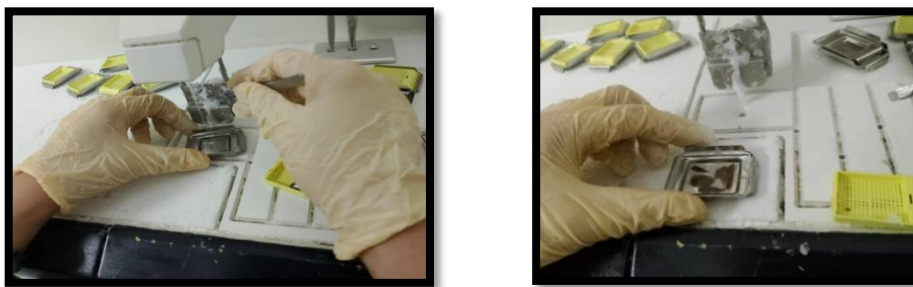


Figure 37 : Préparation des blocs (photo originale).

- **Coupe (Microtomie) :**

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant d'être réduits en coupes microscopiques de 5 μm d'épaisseur à l'aide d'un microtome, les coupes sont ensuite étalées dans un bain marie à 50°C pour décontracter la paraffine. On prend la section de l'eau à l'aide d'une lame. L'adhérence des

coupes sur les lames est faite par une étuve à une température de à 60°C pendant 45 min (élimination des particules d'eau par évaporation et le déparaffinage).



Figure 38 : Les blocs après le refroidissement.
(photo originale)



Figure39 : Microtom (photo originale).

- **Coloration hématoxyline d'Harris Eosine (HE) :**

L'hématoxyline d'Harris colore le noyau en move foncé presque noir et l'éosine colore le cytoplasme en rose ou rouge. La technique dure 45min.

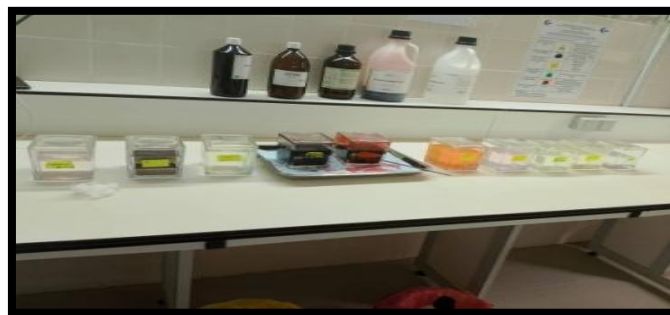


Figure 40 : Coloration hematpxyline d'Harris Eosine (HE) (photo originale).

- **Montage :**

Après l'enlèvement des lames d'xylène on fait le montage .La lame est humidifiée par l'xylène avant l'application de la colle spécifique (l'EUKIT) qui permet de coller correctement la lame avec la lamelle et aussi de donner une observation très claire et transparente.

Mettre la lamelle, et presser pour enlever le reste d'air, à la fin, les lames doivent être laissé jusqu'au séchage avant d'être placées dans la porte lame.



Figure 41 : Montage d'une lame (photo originale).

- **Observation microscopique :**

Les coupes histologiques ont été observées sous un microscope optique (Leica) avec un grossissement de 100 suivie par un autre de 400.



Figure 42 : microscope optique (photo originale).

- **Analyses statistiques**

L'analyse des données a été réalisée à l'aide de tests statistiques non paramétriques. Les résultats sont présentés sous forme de médiane (amplitude).

Les comparaisons des médianes des données quantitatives ont été effectuées à l'aide du test de Kruskal-Wallis, suivi du test de Dunn pour les comparaisons multiples. Pour les comparaisons des données qualitatives, le test exact de Fisher a été utilisé. Les résultats sont jugés significatifs lorsque $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) et $p < 0,001$ (***) .

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 7.00 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).



Chapitre III :

Résultats

III-1 Variations des paramètres biochimiques

III-1-2 Variation des taux de TGO

Le **tableau 05** montre les valeurs médianes et les amplitudes des niveaux de TGO pour les groupes témoin, sans colorant, végétal et chimique.

Tableau 05 : Statistique descriptive de TGO.

Lot	Témoin	Sans colorant	Végétal	Chimique
Médiane	93,5	101,3	144,5	169,6
(Amplitude) U/L	(78,2-249,3)	(78,2-249,3)	(95,6 - 694,0)	(130,6-273,7)

Le test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative entre les lots ($p= 0,0032^{**}$).

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative dans l'activité enzymatique du TGO plasmatiques chez les rats traités par la crème avec colorant azoïque rapport aux individus témoins [169.6(130.6-273.7) vs 93.5(78.2-249.3)] U/L ($p=0.0135^*$) et aux rats du lot « sans colorant » [169.6 (130.6-273.7) vs 101,3(78,2-249,3)] U/L $p= 0,0147^*$ (**figure 43**).

A noter que le groupe traité par le colorant jus de betterave présente également des valeurs médianes plus élevées par rapport aux lots témoins et « sans colorant » mais plus bas que le lot « colorant chimique », cependant, les différences ne sont pas statistiquement mises en évidence par les tests fournis.

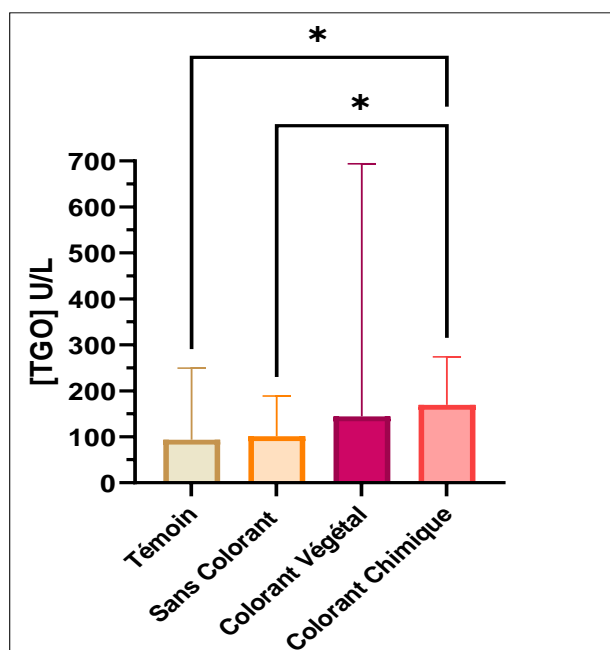


Figure 43 : Comparaison des concentrations de TGO entre les différents groupes.

III-1-3 Variation des taux de TGP

Le **Tableau 06** montre les valeurs médianes et les amplitudes des taux de TGP pour les groupes témoin, sans colorant, végétale et chimique.

Tableau 06 : Statistique descriptive de TGP.

Lot	Témoin	Sans colorant	Végétal	Chimique
Médiane	56,40	52,90	51,20	59,95
(Amplitude) U/L	(48,70 - 67,70)	(38,10 - 64,80)	(45,80 - 145,8)	(45,70 - 72,80)

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative ($p=0.293$) des niveaux de TGP entre les différents groupes (**figure 44**) Cela suggère que les traitements appliqués (sans colorant, végétal, chimique) n'ont pas d'effet sur les niveaux de TGP par rapport au groupe témoin.

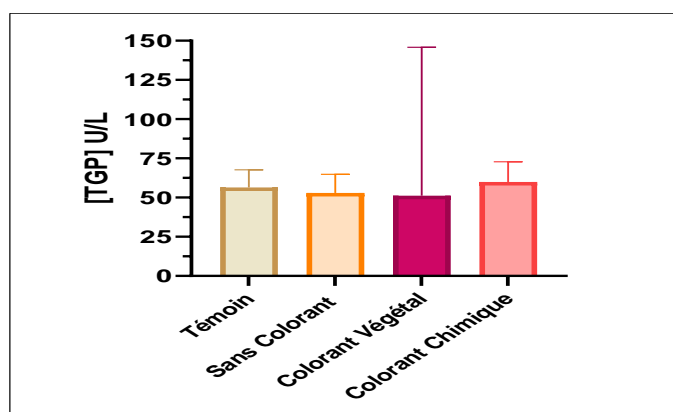


Figure 44 : Comparaison des concentrations de TGP entre les différents groupes.

III-1-4 Variation du taux de phosphatase alcaline :

Le **tableau 07** montre les valeurs médianes et les amplitudes des niveaux de phosphatase alcaline pour les quatre groupes témoin, sans colorant, végétale et chimique.

Tableau 07 : Statistique descriptive de la phosphatase alcaline.

Lot	Témoin	Sans colorant	Végétal	Chimique
Médiane	125,8	144,2	123,9	125,9
(Amplitude) U/L	(94,7-163,1)	(126,1-184,2)	(86,5-166,3)	(91,1- 188,2)

Les résultats montrent que les niveaux de phosphatase alcaline ne diffèrent pas de manière significative ($p=0.095$) entre les différents groupes (Témoin, Sans colorant, végétal et Chimique) (**figure 45**). Cela suggère que les traitements appliqués n'ont pas d'effet significatif sur les niveaux de cette enzyme par rapport au groupe témoin.

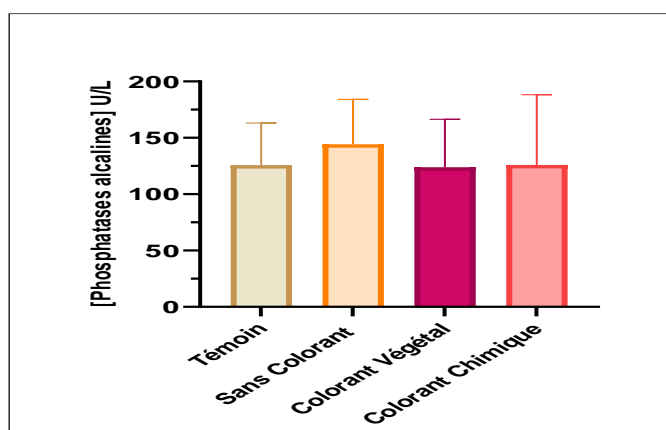


Figure 45 : Comparaison des concentrations de phosphatase alcaline entre les différents groupes.

1-5- Variation du taux de Bilirubine totale

Le **tableau 08** montre les valeurs médianes et les amplitudes (plages) des niveaux de bilirubine totale pour les groupes : Témoin, Sans colorant, végétale et Chimique

Tableau 08 : Statistique descriptive de la Bilirubine totale

Lot	Témoin	Sans colorant	Végétal	Chimique
Médiane	1,26	1,29	1,01	1,18
(Amplitude) mg/L	(0,84- 1,83)	(0,65- 6,25)	(0,14-11,60)	(0,51-1,81)

La valeur p est de 0,858, indiquant que les différences de niveaux de bilirubine totale entre les groupes ne sont pas statistiquement significatives (**figure 46**).

Les niveaux de bilirubine totale ne présentent pas de différences significatives entre les groupes. Cela indique que les taux plasmatique de la bilirubine ne sont pas affectés par les traitent chimiques ou végétaux.

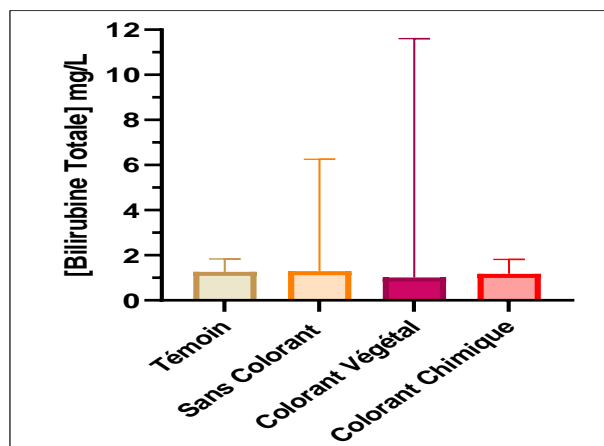


Figure 46 : Comparaison des concentrations de bilirubine totale entre les différents groupes.

III-1-6 Variation de taux de Bilirubine directe :

Le **tableau 09** montre les valeurs médianes et les amplitudes (plages) des niveaux de bilirubine directe pour les groupes : Témoin, Sans colorant, végétale et Chimique.

Tableau 09 : Statistique descriptive de la Bilirubine directe.

Lot	Témoin	Sans colorant	Végétal	Chimique
Médiane	0,51	0,49	0,46	0,46
(Amplitude) mg/L	(0,42 - 0,98)	(0,35 - 1,14)	(0,30-0,88)	(0,35-0,61)

Les niveaux de bilirubine directe ne diffèrent pas significativement ($p= 0,375$) entre les groupes. Du même, le test de Dunn de la comparaison multiple n'a pas abouti à une différence significative (**figure 47**).

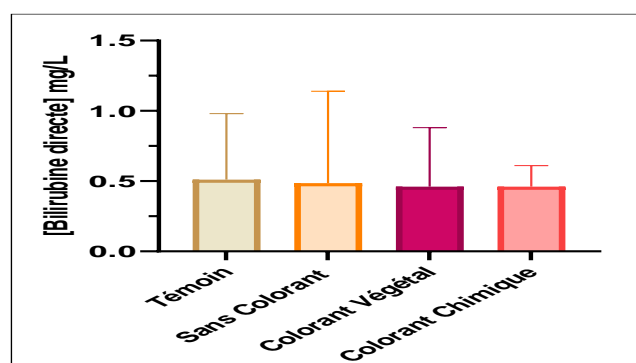


Figure 47 : Comparaison des concentrations de bilirubine directe entre les différents groupes.

Dans les deux cas (bilirubine directe et totale), les résultats montrent que les traitements testés n'ont pas d'effet statistiquement significatif sur les niveaux de bilirubine, que ce soit directe ou totale.

III-2 Résultats de l'étude histologique

Pour confirmer les résultats des paramètres biochimiques, nous avons fait une procédure du test histologique sur le foie de différents groupes des rats expérimentaux.

L'observation microscopique des coupes histologiques des rats Wistar montre la présence d'inflammation lobulaire et portale chronique chez quelques rats des groupes traités par l'émulsion en « colorant chimique », « sans colorant » et « colorant végétale ». Dans ce dernier la présence de l'inflammation est rare. Quelques clichés des coupes histologiques sont montrés dans les figures 48, 49, 50

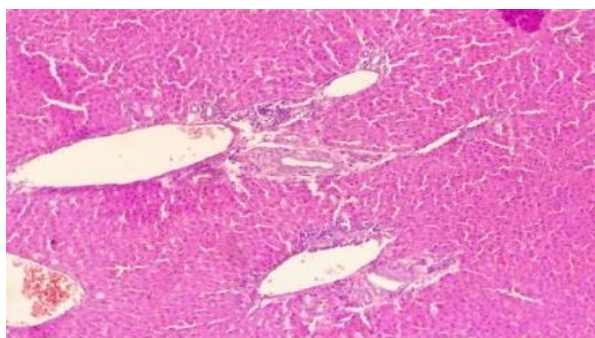


Figure 48 : Coupe histologique d'un rat.

témoin.

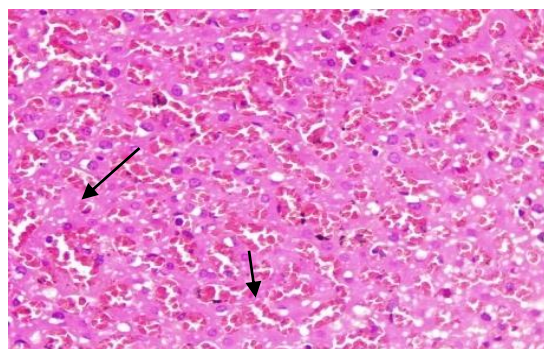


Figure 49 : Coupe histologique du foie d'un rat

traité par colorant chimique (inflammation chronique).

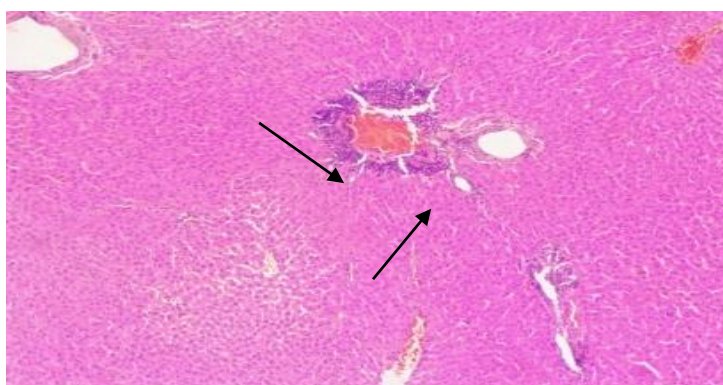


Figure 50 : Coupe histologique du foie d'un rat traité par colorant végétal (inflammation lobulaire).

Pour vérifier la signification de nos résultats, le test Fisher exacte a été appliqué pour comparer entre les nombres de cas d'inflammation hépatique dans les 04 lots. Le **tableau 10** montre les valeurs de p et les rapports de cotes « *odds ratio* » (OR) avec les intervalles de confiance à 95%.

Tableau 10 : Résultats de comparaison de nombres des tissus souffrant d'une inflammation.

Groupes comparés	OR [IC 95%]	P
Témoin (T) vs Sans Colorant (SC)	0.33 [0.05 – 2.24]	0.37 NS
Témoin (T) vs Colorant Végétal (CV)	0.78 [0.11– 4.98]	>0.99 NS
Témoin (T) vs Colorant Chimique (CC)	0.56 [0.08 – 3.79]	>0.99 NS
Sans Colorant (SC) vs Colorant Végétal (CV)	2.33 [0.44–11.72]	0.65 NS
Sans Colorant (SC) vs Colorant Chimique (CC)	1.67 [0.27 –8.90]	0.66 NS
Colorant Végétal (CV) vs Colorant Chimique (CC)	0.71 [0.13–7.98]	>0.99 NS

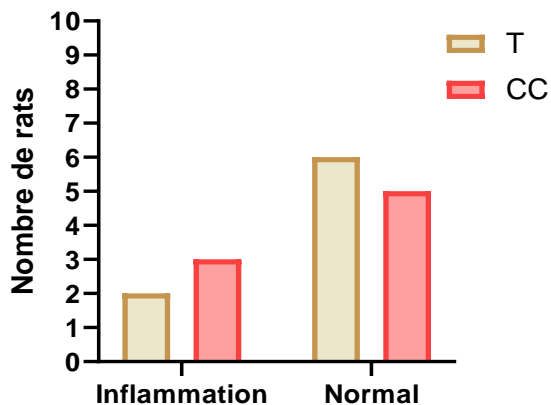
NS : Non significatif

La **Figure 51** montre les résultats de comparaison de nombre de rat selon la présence ou l'absence de l'inflammation hépatique.

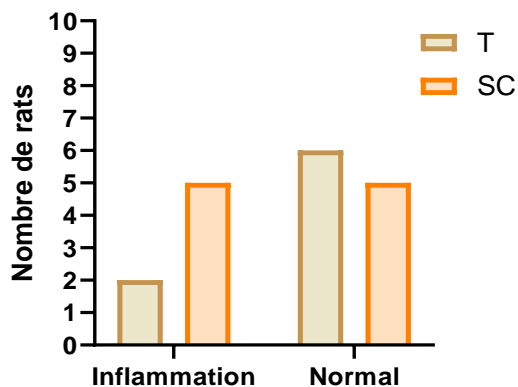
Les rapports de cotes (OR) montrent des tendances, mais aucune d'entre elles n'est significativement différente, ce qui indique qu'il n'y a pas d'augmentation ou de diminution notable de l'inflammation hépatique dans les groupes exposés aux colorants par rapport aux groupes témoins. Par exemple, l'OR de 0.33, IC [0.05 – 2.24] pour le groupe témoin vs. Le groupe sans colorant indique une tendance non significative vers moins d'inflammation dans le groupe témoin, mais cette différence n'est pas statistiquement significative ($p= 0.37$).

La comparaison entre les groupes « sans colorant » et ceux avec colorant jus de betterave (OR = 2.33, IC [0.44–11.72]) ou colorant azoïque (OR = 1.67, IC [0.27 –8.90]) montre des tendances vers une augmentation de l'inflammation avec les colorants, mais encore une fois, ces différences ne sont pas statistiquement significatives ($p > 0.65$ et $p > 0.66$ respectivement).

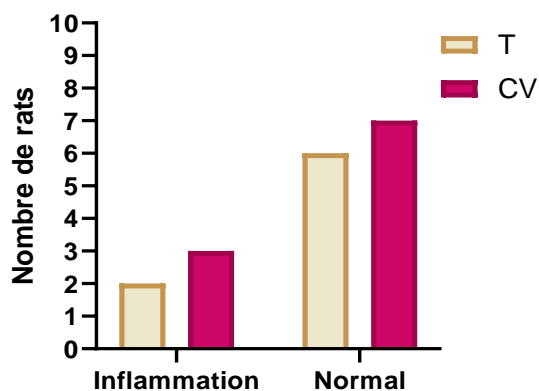
Les résultats montrent que les différences entre les groupes ne sont pas statistiquement significatives cela suggère que ni les colorants végétaux ni les colorants chimiques n'ont induit une inflammation hépatique significative par rapport au groupe témoin ou au groupe sans colorant.



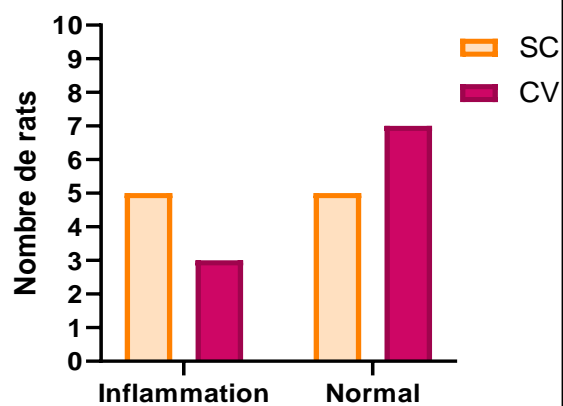
a) Groupes de témoin et colorant chimique



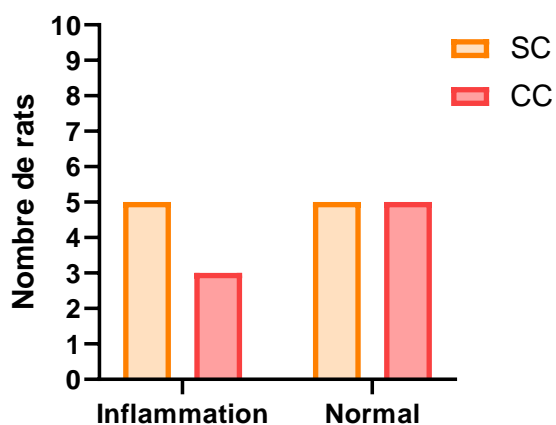
b) Groupes de témoin et sans colorant



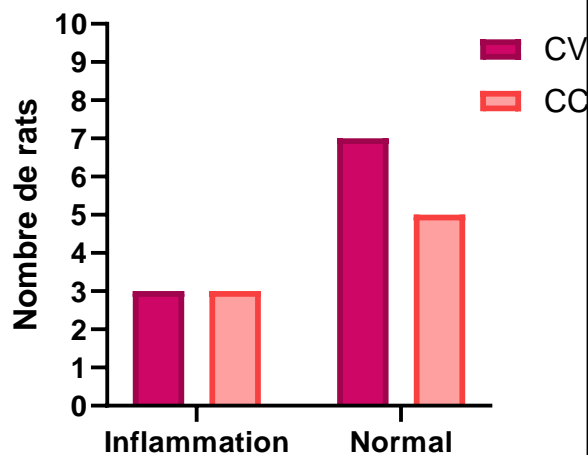
c) Groupes témoin et colorant végétale



d) Groupes sans colorant et colorant végétal



e) Groupe sans colorant et colorant chimique



f) Groupe colorant végétale et colorant chimique

Figure 51 : Comparaison de nombre de rat selon la présence ou l'absence de l'inflammation hépatique.

T : témoin

CV : colorant végétale

CC : colorant chimique

SC : sans colorant



Discussion

Discussion

Dans cette étude expérimentale, on a évalué l'impact de deux colorants sur la fonction hépatique des rats femelles Wistar. Ces deux colorants sont utilisés dans la cosmétique, le colorant chimique azoïque du couleur rouge et un colorant végétal rouge foncé constitué principalement de concentré du jus de betterave (*Beta vulgaris*) et secondairement de concentré du jus de citron pour préserver la couleur de l'oxydation.

Pour les paramètres biochimiques, les seules différences significatives ont été observées dans les concentrations plasmatiques de TGO (Transaminase glutamique oxalacétique) ou encore appelé ASAT (Aspartate aminotransférase). Ces derniers ont été élevés dans le lot qui a subi un traitement chimique par rapport aux lots « témoins » et « sans colorant ».

En ce qui concerne les autres molécules c-à-d les TGP (Transaminase glutamique pyruvique) appelés aussi ALAT (Alanine aminotransférase), les phosphatases alcalines, la bilirubine totale et la bilirubine directe, les différences entre les quatre lots n'ont pas été significatives. Mais on remarque que le lot « colorant végétal » a les taux plasmatiques les plus bas de ces marqueurs biochimiques.

Peu d'études ont comparé entre des types différents de colorants. Dans une étude expérimentale sur des rats Albinos (**Amine et al., 2010**). On a testé l'effet de deux colorants azoïques, la tétrazine et la carmoisine, administrés par voie orale, sur les paramètres biochimiques hépatiques en utilisant deux doses, basse et élevée pendant 30 jours. Les deux transaminases (TGO et TGP) et la phosphatase alcaline ont été sensiblement plus élevées chez les rats traités par les deux doses par rapport aux témoins.

L'élévation des aminotransférases dans le sérum peut être due à des lésions tissulaires, hépatiques (**Varely et al., 1988**), et une perméabilité accrue de la membrane cellulaire ou une synthèse accrue ou une diminution du catabolisme des transaminases (**Malik et al., 1980**). Ainsi que (**Westlake et al., 1981**) ont mentionné que la libération de niveaux anormalement élevés d'enzymes tissulaires spécifiques dans la circulation sanguine dépend à la fois du degré et du type de dommages exercés par l'administration du composé toxique.

De ce fait, notre étude histologique n'a révélé aucune différence significative entre les lots comparés, malgré ça le nombre des rats présentant des tissus normaux c'est à dire sans atteinte inflammatoire ou fibrose et remarquablement élevé dans les lots où les rats traitées par le concentré du jus de betterave.

Par ailleurs, des études ultérieures ont démontré l'altération des tissus hépatiques des animaux traités par des colorants azoïques par administration orale. Par exemple des nodules néoplasiques ont été repérés dans les rats mâles suite au traitement par le pigment *Red 53:1* mais pas chez les femelles (**National Toxicology Program, 1982**).

Ainsi des expériences ont prévu que le foie métabolise les colorants azoïques par des azoréductases qui ont été détectés dans les fractions microsomiales du foie des rats (**Hernandez et al., 1967**). En outre, le foie est parmi les rares organes qui ont une activité oxydative vis-à-vis les pigments (**Mølleret Wallin, 2000**).

L'extrait du jus de betterave figure parmi les peus pigments et colorants d'origine végétale disponibles. Les pigments de la betterave sont les Bétalains présents dans les vacuoles des cellules épidermiques et subépidermiques des plantes notamment les *Beta vulgaris* (**Wink, 1997**).

Les *Beta vulgaris* sont riches en bétanines appartenant à la classe des bétacyanines l'un des deux types de Bétalains (l'autre étant les bétaxanthines) (**Michalak, 2023**).

Il s'avérait que les Bétalains ont un pouvoir antioxydant (**Krishnaiah et al., 2014**) en neutralisant les espèces réactives oxygénées (ERO) au niveau hépatique. Ces pigments sont un traitement efficace contre la stéatohépatite (**Yahaghi et al., 2020**) et ils sont aussi considérés comme des agents détoxifiants par l'activation des quinone réductase ainsi ils améliorent la fonction mitochondriale d'où ils sont considérés comme des hépatoprotecteurs (**Wettasinghe et al., 2002**). En plus ils ont un effet anti-cancéreux et qui peut être dû à la modification de l'expression de certains gènes liés à la croissance et à l'apoptose (**Zou et al., 2005**).

Tous ces bienfaits de Bétalains peuvent expliquer les valeurs basses des médianes de différents paramètres biochimiques ainsi que le nombre limité des cas d'inflammation hépatique chez les rats du lot « colorant végétal ».

Dans notre étude, nous avons administré des colorants par voie cutanée à travers un massage. Les colorants ont été véhiculés à l'aide d'une émulsion. L'utilisation d'émulsions telles que les crèmes et les laits corporels est une pratique courante dans les soins quotidiens de l'homme, et ces produits ne sont généralement pas ingérés, ce qui justifie notre choix de cette voie d'administration. Cependant, la dose de colorants utilisée était presque dix fois supérieure à celle recommandée en raison de la courte durée d'administration (4 semaines).

La perturbation des paramètres biologiques par les produits cosmétiques, en particulier les colorants et les pigments, dépend de leur absorption cutanée. L'absorption cutanée de certains colorants azoïques a été mesurée jusqu'à 32,8 % chez les souris et 26,4 % chez l'être humain. Ces taux d'absorption ont été observés sur une période de traitement de 18 mois, sans qu'aucune néoplasie ne soit détectée chez les souris, ce qui corrobore les conclusions de (**Carson, 1984**) et nos propres résultats.

Malheureusement il n'y a pas de données informatives sur le niveau d'absorption cutanée des colorants Bétalains mais en général l'utilisation des émulsions favorise l'absorption des colorants (**Bennat et al., 2000**).

L'émulsion utilisée a été élaborée à partir d'une matière première végétale provenant de cultures biologiques, ce qui a peut-être contribué à atténuer un éventuel effet toxique des colorants chimiques sur la fonction hépatique.

L'impossibilité de quantifier précisément l'absorption effective des colorants et de l'émulsion représente une contrainte majeure de cette recherche. De plus, le manque de connaissance du nom chimique du colorant azoïque constitue une autre limitation significative. Cette lacune a mis en lumière la pratique de la vente de ces produits sans étiquetage, ce qui pourrait être considéré comme une problématique de santé publique.



**Conclusion et
perspectives**

Conclusion et perspectives

S'assurer qu'un produit cosmétique ou un ingrédient entre dans sa constitution est sûr et ne présente pas de menace pour la santé humaine est devenu plus que nécessaire.

Dans notre étude, la comparaison entre deux colorants cosmétiques, l'un chimique de type azoïque et l'autre végétale constitué du concentré du jus de betterave, sur les paramètres biochimiques et la structure tissulaires hépatique a conclu que seules les Transaminase glutamique oxalacétique (TGO) sont les paramètres modifiables par l'utilisation des colorants chimiques. Alors que l'atteinte tissulaire ne semble pas affectée par l'usage de l'un ou l'autre des colorants.

L'application cutanée des produits cosmétiques notamment les colorants sur les animaux donne une idée meilleure de leur impact sur la physiologie hépatique puisque c'est la façon dont ils sont utilisés par l'être humain.

L'abondance des Bétanines dans le jus de betterave a peut être constitué un facteur protecteur du foie même par usage cutané.

Sur la lumière de ces résultats on peut déduire que l'utilisation des émulsions dont les ingrédients sont biologiques et spécifiquement végétales donne plus de sûreté vis-à-vis la physiologie des organes internes comme le foie.

Dans un monde qui s'accélère vers l'industrie cosmétologique biologiques, l'expérimentation *in vivo* reste parmi les moyens les plus informatives non seulement pour s'assurer de l'efficacité d'un produit quelconque mais aussi pour confirmer ou nier un effet bénéfique et/ ou délétère sur les différentes fonctions biologiques.

La richesse de la tradition Algérienne en matière de fabrication des produits de soins quotidiens basés sur une matière primaire végétale est encourageante pour l'exploitation dans des cultures biologiques certifiées à l'échelle internationale aussi bien qu'un investissement dans des pigments d'origine végétale dans la cosmétologie et la pharmacologie suite à des projets scientifiques les plus ambitieuses.



**Références
bibliographiques**

- Ahmed A et Laeba M, (2018).** Strengthening intellectual property rights (IPR) in halal techniques to transfer it as know –how. *Journal of halal industry and servic*,1(1).
- Amberg N et Fogarassy C, (2019).** Green consumer behavior in the cosmetics market.*Resources*, 8(3),137.
- Amine K; Abdel Hameid H ; Abd Elsttar A., (2010).** Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. *Food chem toxicol.* ;48(10):2994-9.
- Barbaud A et Lafforgue C, (2021).** Risks associated with cosmetic ingredients. *Ann dermatol venereol.*;148(2):77-93.
- Barone R, (1984).** Anatomie comparée des mammifères domestiques. *Spalanchnologue 1 : appareil digestif, appareil respiratoire. Tome 3, 2^{ème} édition, paris 517p.*
- Belfield A et Goldberg D, (1971).** Revised assay for serum phenylphosphatase activity using 4-amino antipyrine,enzyme .12P 561-57.
- Benhamou J et Erlinger S, (2008).** Maladie du foie et des voie biliaires. 5^{ème}edition :flammarion medicine science .p.2020.
- Bennat C et Müller-Goymann C, (2000).** Skin penetration and stabilization of formulations containing microfine titanium dioxide as physical uv filter. *Int j cosmet sci* 22(4):271–83.
- Bergmery H ; Scheibe P; Wahlefeld A., (1978).**Optimization of methods for aspartate aminotranferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem.*, P 58-73.
- Bergmeyer H et Horder M, (1980).** Ifcc methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. Ifcc method for alanine aminotransferase.365-73.
- Brik Ch et Kahli M, (2020).** Rôle correcteur de l'extrait de citrullus colocynthis sur 'hépatotoxicite induite par la deltamethrine chez le rat wistar. *pharmacotoxicologie. Université de Larbi Tebessi Tébessa.*67.
- Capon M ;Valette C ;Courilleau H ., (1993).** Chimie des couleurs et des odeurs. 2^{ème} édition cultures et techniques.
- Carol G; Ribet A; Paraf A., (1975).** *Precis des maladie du foie, du pancreas et des voies biliaires.* 2 ème edition , Masson, paris. 639p.
- Carson S, (1984).** Skin panting studies in mice with 14 fd&c and d&c colors. *J. Toxicol cutaneous ocul. Toxicol.* 3. 357–370.
- Castaing D et Veilhan L, (2006).** Anatomie du foie et des voies biliaires. (E. SAS, Éd.).paris.
- Castaing D et Veilhan L, (2008).** Anatomie du foie et des hépatolpgie,7001-A10.
- Chetioui S, (2010).**Structures et propriétés physico-chimiques de substances colorantes de synthèse, mémoire présenté de magister. Université Mantouri Constantine.

- Couinaud C, (1981).** Controlled hepatectomies and exposure of the intrahepatic bile ducts : anatomical and technical study. P(112).
- Couinaud C, (1993).** L'abord chirurgical du secteur dorsal du foie 2eme edition : elsevier masson .p(119), 485.
- Denis C; Daniel A; Rêne A., (2006).** Chirurgie du foie et de l'hypertension portale 2ème edition : elsevier masson p (288).
- Dooley J; Lok A; Burroughs A; Heathcote EJ., (2011).** Sherlock's diseases dordrech of de liver and biliary systems edition :elsevier clinical medicine p (792).
- Fardouly J et Vartanian L, (2016).** Social media and body image concerns: current research and future direction. Curr.opin.psychol, 9, 1-5.
- Frexinos J; Escourrou J; Pascal J; Balas D; Du M; Fourtanier G; Lazorthes F., (1988).** Hépto-gastro-entérologie clinique (éd.3).(Semep,éd). Paris, France.260p.
- Gerolani R, (2005).** Manifestation de l'action des toxique au niveau hépatique .
- Gilles; Raymond; Anctil; Michel; Plumuer; Jean-Christophe; Baguet; Fernand; Charmantie ; Guy ; Péqueux; André; Séber; Philippe., (2006).** Physiologie animale edition de boeck Univ.292p.
- Gosling J ; Harris P; Whitmore I ; Willan P., (2003).** Anatome humaine: atlas en couleurs(2eme ed).française: de bock.p.377.
- Grisham J, (2009).** Organizational principles of the liver. In the liver biology and pathobiology, fifth edition (pp. 1-15).
- Gruyader D, (2005).** Sémiologie biologique hépatique univ rennes-poycopie médecine M2-sémiologie du foie et des voies biliaires.
- Guerra E ; Llompарт M ; Garcia-Jares C., (2018).** Analysis of dyes in cosmetics: challenges and recent developments. Cosmetics,5,47.
- Gürses A; Açıkyıldız M; Güneş K; Gürses M., (2016).** Historical development of colorants. Dyes and pigments. Springer, cham.(pp.1-12).
- Hafner M; Rodrigues A; Lazzarini R., (2020).** Allergic contact dermatitis to cosmetics: retrospective analysis of a population subjected to patch tests betwen 2004 and 2017. Anais brasileiros de dermatologia , 95,696-701.
- Henri R et André D, (2002).** Anatomie humaine. Descriptive, topographique et fonctionnelle (éd.XIV) (Masson,Ed.) paris.
- Hernandez P ; Gillette J ;Mazel P., (1967).** Studies on the mechanism of action of mammalian hepatic azoreductase: I.Azoreductase activity of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-cytochrome C reductase, Biochem. Pharmacol.
- Hunter A, (2006).** Principes fondamentaux de gastro-entérologie.le foie 14,section 2,522p.

- Kaplan A, (1984).** Aspartate aminotransferase. Clin Chem The VC Mosby Co.St Louis. Toronto. Princeton.1112-1116.
- Keck-Wilhelm A; Kratz E; Mildau G; Ilse M; Schlee C; Lachenmeier D; Khan R; U.C ; Banerje., (2010).** Chemical analysis and risk assessment of prohibited colouring agents in face paint with special regard to CI 15585 (D&C red no.9,pigment red 53: 1). International journal of cosmetics science, 37(2,187-195).
- Koolman G et klaus-heinrich R, (2004).** Atlas de poche, biochimie, médecine. Sciences Flammarion, 462p.
- Krishnaiah D; Nithyanandam R; Sarbatly R., (2014) .** A critical review on the spray drying of fruit extract: effect of additives on physicochemical properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr. , 54, 449–473.*
- Lacharme F, (2011).** Les produits cosmétiques biologiques: labels, composition et analyse critique de quelques formules.
- Laheux E, (2016) :** Globalisation du marché cosmétique :géoanalyse des principales marques nationales dans le monde.thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie.Université de Nante.
- Lamri N, (2010).** Elimination du colorant orange II en solution aqueuse , par voie photochimique et par adsorption , Magister, université mantouri constantine.
- Lazo M et Clark J, (2008).** The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: a global perspective.semin liver dis.28(4):339-50.
- LeCluyse E; Witek R; Andersen M; Powers M., (2012).** Organotypic liver culture models: meeting current challenges in toxicity testing. *Crit Rev Toxicol, 42, 501–548.*
- Lounis khodja D, (2024) .**Foie et vésicule biliaire. En ligne disponible sur le site <https://www.kenhub.com>.
- Lukas H, (2013).** La santé du foie. (Québec, Éd.).
- Mahieu V et Moucheron C, (2003).** La chimie des produits cosmétiques. Centre universitaire de didactique pour l'enseignement de la chimie.
- Malarkey D; Johnson K; Ryan L; Boorman G; Maronpot R., (2005).** New insights into functional aspects of liver morphology. *Toxicol Pathol, 33, 27–34.*
- Malik J; Singh R; Gupta R; Varman P; Pauls B., (1980).** Influence of fenitrothion on in vitro incorporation of acetate -14- in liver lipids and on various tissue enzymes in rats. *J. Nucl. Agric. Biol. 9, 25–28.*
- Mardari D, (2021).** L'influence des couleurs dans le marketing..
- Martin E et Feldmann G, (1983).** Histopathologie du foie et des voies biliaires de l'adulte et l'enfant Ed.Masson,357 page.

- Mellal A, (2010).** Application pratique de l'anatomie humaine. publi Book.p.174-181.
- Michalak M, (2023).**M Plant extracts as skin care and therapeutic agents. Int J Mol Sci. 22;24(20):154447.
- Møller P, Wallin H, (2000).** Genotoxic hazards of azo pigments and other colorants related to 1-phenylazo-2-hydroxynaphthalene. Mutat Res ;462(1):13-30.
- Morgan E, (2009).** Impact of infectious and inflammatory disease on cytochromeP450-mediated drug metabolism and pharmacokinetics.Clin Pharmacol Ther, 85 434-438.
- Gorzowski M, (2023).** Quel est le rôle du foie dans notre organisme. [en ligne] <<https://www.pharma-gdd.com>
- Nait merzoug N, (2014).**Application des tiges de dattes dans l'adsorption de polluants organiques Univ of Souk Ahras.
- Nardello-Rataj Vet Bonté F, (2008).** Chimie et cosmétiques. Une longue histoire ponctuée d'innovation.L'actualité chimique,323,324.
- National Toxicology Program, (1982).** National program. Carcinogenesis bioassay of D & C Red No. 9 (CAS No. 5160-02-1) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). Natl toxicol program tech repSer. ;225:1-168.
- Olivia E, (2022).** Anatomical description and function of liver in human body. J liver 11:137..
- Oriana C et Or .Donis C, (2015).** Centre Hepato biliare brousse anatomie du foie [en ligne], disponible sur <<http://www.Centre-hepato-bilaire-orge./maladies.foie/anatomie-foie.html>>.
- Perrin R et Sharef J, (1995).** Chimie industrielle, 2^{ém}.Edition Masson science, Paris(1136) p.
- Ramesh M et Muthuraman, (2018).** Flavoring and coloring agents:Health risks and potential problems In: Natural and artificial flavouring agents and food dyes.Elsevier;p.1-28.
- Rhiouani H; El-Hilaly J; Ísraili ZH; Lyoussi B.,(2008).** Acute and subchronic toxicity of an aqueous extract of the leaves of Herniaria glabra in rodents . Journal of Ethnopharmacology.(118):378-386.
- Riley P, (2000).** Colouring materials used in decorative cosmetics and colour matching.Poucher's perfumes,cosmetics and soaps(pp. 151-165). Springer,Dordrecht.
- Rosenbaum, J, (1991).** Intéractions cellulaires dans le foie. 7, 117.
- Rowe R; Sheskey P; Quinn M.,(2009).** Handbook of Pharmaceutical cipients.Pharmaceutical press;888 p.
- Rymbai H; Sharma R; Srivastav M., (2011).** Bio-colorants and its implications in health and food industry-a review.Int J PharmTech Res.3 (4):2228-2244.
- Sadowska-Bartosz I et Bartosz G, (2021).** Biological properties and applications of betalains. molecules. Apr 26;26(9):2520.
- Senoo, (2004).** Structure and function of hepatic satellite cells.Med Electron Microse .p.16.

- Stevens A et Lowe J, (2006).** Histologie humaine. 3^{ème} édition. Paris : Elsevier. P : 123.
- Tamini L, (1990).** Etude de effet hepatoprotecteur du *Cocculus pendulus* diels (Menispermaceae).thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire(diplôme d'état). Université Cheikh anta diop Dakar. 79p.
- Varely H; Gowenlock, A; Bell M., (1988).** practical clinical biochemistry, eighth ed. William Heinmann, Medical Books Ltd., London. 1:262.
- Vazquez-Ortega F; Lagunes I, Trigos A., (2020).** Cosmetic dyes as potential photosensiyizers of singlet oxygen generation.Dyes and pigments,176.
- Vítek L, (2012).** The role of bilirubin in diabetes, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases .frontiers in pharmacology, 3, 55.
- Walace T, (2001).** Biological tratment of a synthetic dye water and an industrial textile waste water containing azo dye compounds. These master de genie des scien Khan, R. and U.C. Banerjee, decolorization of azo dyes by immobilized bacteria, in khan, R. And U.C.Benerjee,Decolorization of azo dys by immobized bacteria in biodegradation of azo dyes, springer.p.73-84.
- Westlake G; Bunyan P; Martin A; Stanley P; Steed L., (1981).** Organophosphate poisoning effects of selected esterases of japanese quail. j Agric. Food Chem. 29, 272–778.
- Wettasinghe M; Bolling B; Plhak, L; Xiao H; Parkin K(2002) .** Phase II enzyme-inducing and antioxidant activities of beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts from phenotypes of different pigmentation. *J. Agric. Food Chem.*50, 6704–6709.
- Wink M, (1997)** Compartmentation of secondary metabolites and xenobiotics in plant vacuoles. *Adv. Bot. Res.*, 25, 141–169.
- Yahaghi L; Yaghmaei P; Hayati-Roodbari N; Irani S; Ebrahim-Habibi A .,(2020) .** Betanin effect on PPAR- α and SREBP-1c expression in NMRI mice model of steatohepatitis with fibrosis. *Physiol. Int.*, 107, 67–81.
- Yahiaoui, (2013).** Dégradation de composés organiques récalcitrants (phénol ,colorants et antibiotiques) par oxydation électrochimique directe sur électrode de plomb couplée à un traitement biologique ,thèse de doctorat en science, Université de Bejaia.
- Young D, (1995).** Effect of drugs on Clinical Lab. Tests, 4 th ed AACC Pres.
- Zou D; Brewer M; GarciaF; Feugang J; Wang J ; Zang R ; Liu H; Zou C., (2005) .** Cactus pear: A natural product in cancer chemoprevention. *Nutr. J.*, 4, 25.