

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Centre Universitaire de Mila
Institut des Sciences et de Technologie
Département des Sciences de la Nature et de la vie

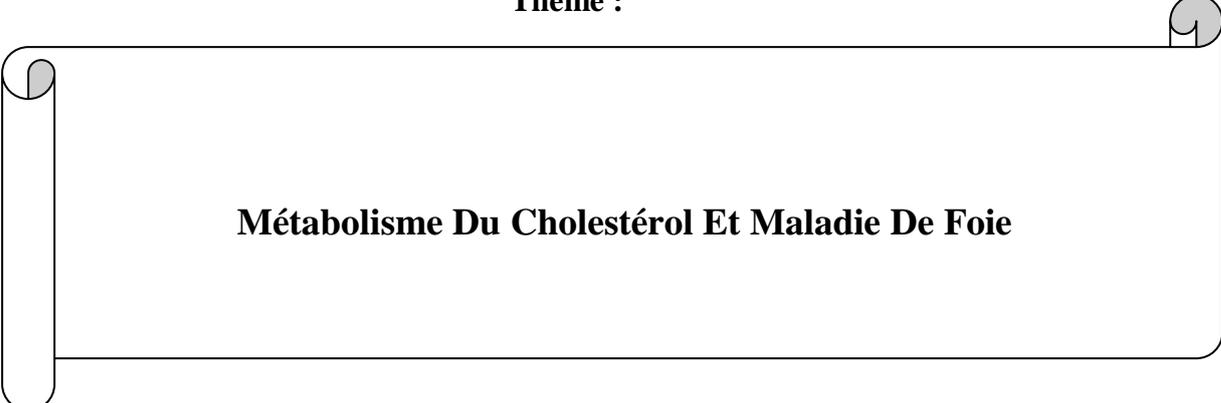
N°d'ordre :

Série :

Spécialité : Biochimie

Mini-Projet

Thème :



Métabolisme Du Cholestérol Et Maladie De Foie

Présenté par :

CHEBTA KH,

HED MESSOUD N,

HELLOU F,

Promoteur:HARRIECHE O.

Année Universitaires 2011/2012

Remerciements

Louange à dieu tout puissant de nous avoir aidé, éclairer le chemin pour achever notre travail et nos études.

Nos remerciements à nos très chers parents, frères, sœurs, collègues et amis respectives qui nous ont encouragés, soutenu durant tout notre parcours.

Un remerciement particulier à notre encadreur M^{me} Harrieche Ouahiba pour sa présence, son aide et surtout pour ses précieux conseils qui nous ont assistés pour l'accomplissement de notre projet malgré les préoccupations administratives.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tout le personnel de l'institut de Science et Technologie surtout les enseignants qui nous ont enseigné durant toutes nos années d'étude.

Nous remercions à l'avance notre examinateur pour son attention et son suivi.

Enfin nous remercions toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

Merci bien.

Khaled . Noufel . Faiza

Dédicace

A mon dieu qui nous a donné le courage pour terminer notre projet.

A mes parents qui m'ont inculqué un esprit de combativité et de persévérance et qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études.

Sans eux certainement je ne serais pas à ce niveau.

A ma trésors ma très chère mère qui sacrifier leur vie et m'a poussée a lavant pour réaliser mes rêves.

A mon père qui je souhaite il est dans le vaste paradis de mon dieu je dédie ce succès et j'espère que finalement j'atteindre leur but je n'ai jamais oublié toi et vous reste toujours dans mon cœur et une pieuse pensée.

A mes sœurs Pour ses encouragements incessants.

A mes frères Vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaite un avenir radieux, plein de bonheur et succès

A tous mes amis, pour votre sincère entité, votre soutien permanent me remontre le moral et vos conseils m'incitent à relever les défis.

A tout Personne qui me connait.

KHALED

Dédicace

A mon dieu qui nous a donné le courage pour terminer notre projet.

A mes parents qui m'ont inculqué un esprit de combativité et de persévérance et qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études.

Sans eux certainement je ne serais pas à ce niveau.

A ma trésors ma très chère mère qui sacrifier leur vie et m'a poussée a lavant pour réaliser mes rêves.

A mon père qui je souhaite il est dans le vaste paradis de mon dieu je dédie ce succès et j'espère que finalement j'atteindre leur but je n'ai jamais oublié toi et vous reste toujours dans mon cœur et une pieuse pensée.

A mes sœurs Pour ses encouragements incessants.

A mes frères Vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaite un avenir radieux, plein de bonheur et succès

A tous mes amis, pour votre sincère entité, votre soutien permanent me remontre le moral et vos conseils m'incitent à relever les défis.

A tout Personne qui me connait.

NoufeL

Dédicace

*Je tiens en tout premier lieu à remercier le dieu je voudrais dédicace
ce modeste travail*

*A mon père qu'il à été toujours pour moi et qui m'a soutenu toute
sa vie, que dieu le protège.*

*A celle qui a cru en moi, et qui m'a toujours soutenu pendant
toutes ces longues années avec ses conseils et orientations ; à toi
chère et adorable mère j'aime de plus profond de mon cœur, que
dieu le protège.*

A mes chères sœurs : Fatima & Sana & Siham & Soad

A mes chères frères : Hamza & Ramzi

A tout ma famille : Hestou

A mon ami Khaled & Noufel et son familles.

A toute mes amis avec les quelles j'ai partagé les bons moments :

Nadjet, Mariem, Nawel, Amira, Sara, Sabra

A tout Personne qui me connait.

Faiza

SOMMAIRE

Remerciement.....	I
Dédicacés.....	II
Sommaire.....	V
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VII
Liste des abréviation.....	VIII
Introduction.....	01

Partie Théorique

Chapitre 1 :Métabolisme de cholestérol

1-1-Définition.....	02
1-2-Structure de cholestérol.....	02
1-3-Les sources de cholestérol.....	03
1-3-1-Exogène(apport alimentaire).....	03
1-3-2-Endogène(biosynthèse).....	04
1-4- Métabolisme du cholestérol.....	05
1-4-1-Synthèse.....	05
1-4-2-Régulation de la biosynthèse du cholestérol.....	05
1-4-3-Dégradation du cholestérol.....	06
1-5-Les organes concernés.....	06
1-6-L'élimination du cholestérol.....	07
1-7- Le rôle de cholestérol.....	07
1-8-Captation du cholestérol par les cellules.....	08

Chapitre 2 :Maladies de foie

2-1-Définition.....	10
2-2-Anatomie.....	10
2-3-Fonction du foie.....	12
2-4-Maladies de foie liées en cholestérol.....	14
2-5-Traitement.....	14
2-6-La relation entre le métabolisme du cholestérol et les maladies de foie.....	15

Partie Pratique

1-Matériel et méthodes HDL.....	16
2-Résultats et interprétation HDL.....	18
3-Matériel et méthodes cholestérol Total.....	20
4-Résultats et interprétation.....	21
5-Matériel et méthodes LDL.....	23
6-Résultats et interprétation LDL.....	24
Conclusion.....	25
Références.....	26
Résumé	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 :Rôle des Organes dans le métabolisme du cholestérol.....	06
--	-----------

LISTE DES FIGURES

Figure n ° 01 : Structure du cholestérol.....	02
Figure n°02 :la biosynthèse du cholestérol.....	04
Figure n ° 0 3 : vue d'ensemble du métabolisme du cholestérol.....	07
Figure n° 04: capture de cholestérol par endocytose médiée par récepteur	09
Figure n°05 : Segmentation hépatique.....	11
Figure n°06. La fonction du foie.....	13
Figure n°07 : le foie joue un rôle central dans le renouvellement du cholestérol	15

LISTE DES ABREVIATIONS

ACAT : Acyl –CoA- cholesterol acyl transférase.

AMPc: Adénosine mono phosphate cyclique.

ARNm: Acide ribonucléique message.

C° : Degré Celsius.

HMG-CoA : B-hydroxyB-méthoxyglutaryl-CoA.

g/l : Gramme par litre.

m mole /l : milli mole par litre.

Mg : milligramme.

Nm : Nanomètre.

LDL : Low density lipoprotéin.

TG: Triglycérides.

u/l: Unité par litre.

VLDL : Very Low density lipoprotéin.

%: Pourcentage.

Introduction :

Le cholestérol est une molécule lipidique qui joue un rôle essentiel dans la structure des membranes de l'ensemble des cellules de l'organisme ; A coté de ce rôle , le cholestérol est le précurseur de nombreux composés dont les acides biliaires et les hormones stéroïdes. Il provient pour moitié de l'alimentation et pour moitié de sa synthèse par les cellules de l'organisme (foie et intestin, en particulier). La plus grande partie du cholestérol synthétisé par le foie est exportée sous trois formes :cholestérol biliaire, acides biliaires et , enfin, cholestérol circulant des lipoprotéines (cholestérol libre et esters de cholestérol). Nous verrons successivement la synthèse du cholestérol, puis celle des acides biliaires, la régulation du métabolisme du cholestérol et, enfin, le rôle central du foie dans ce métabolisme. (Kamoun et al .,2003).

Le cholestérol est une substance grasse complexe produite par le foie, dont le corps a besoin pour fonctionner normalement. L'alimentation ne fournit que 20 % du cholestérol présent dans l'organisme, le reste (80 %) étant fabriqué par le foie. Le cholestérol est présent sur la paroi des cellules et des membranes dans tout l'organisme, y compris le cerveau, les nerfs, les muscles, la peau, le foie, les intestins et le cœur. Le cholestérol se trouve aussi dans certains aliments, comme les abats (par exemple, le foie, les rognons, les ris, la cervelle), les fruits de mer et le jaune d'œuf. Le corps l'utilise pour fabriquer de nombreuses hormones et une partie des cellules. En fait, sans cholestérol, l'organisme ne peut fonctionner. Un problème se pose lorsque le sang contient trop de cholestérol. L'excédent se dépose dans les artères, notamment les artères coronaires, où il favorise le rétrécissement et les blocages qui provoquent les symptômes de maladie cardiaque

Le foie est responsable de plusieurs fonctions métaboliques, fournissant au corps l'énergie qui lui est nécessaire. Il régularise la production, le stockage et la libération des sucres, des graisses et du cholestérol.(Highleyman et al.,2004).

Chapitre 01

1-Métabolisme de cholestérol

1-1-Définition :

Est une biomolécule très répandue chez la plupart des animaux, absent des végétaux et des microorganismes, il est remplacé par les phytostérols. Le cholestérol est un solide blanc. Dans la cellule le cholestérol existe sous forme libre. Dans certains tissus le cholestérol est présent sous forme estérifié : c'est la forme de réserve du cholestérol.(kessous ,2009)

1-2-Structure du cholestérol :

Le cholestérol comprend également une double liaison entre les carbonnes 5 st 6 et 4 noyaux . Le noyau comprend 17 carbonnes. Il y a une chaine de 8 carbonnes et 2 méthyles , donc le cholestérol contient 27 carbonnes . Les composés ayant la structure générale du cholestérol sont appelés stérols. Le cholestérol possède de nombreux carbonnes asymétriques : 3, 8, 9, 10, 13, 14, 17 et 20 , donc de nombreux isomères sont possibles. Le cholestérol possède de plus le carbone asymétrique 5, la double liaison fait disparaitre l'asymétrie de ce carbone dans le cholestérol. (Jacques .1989)

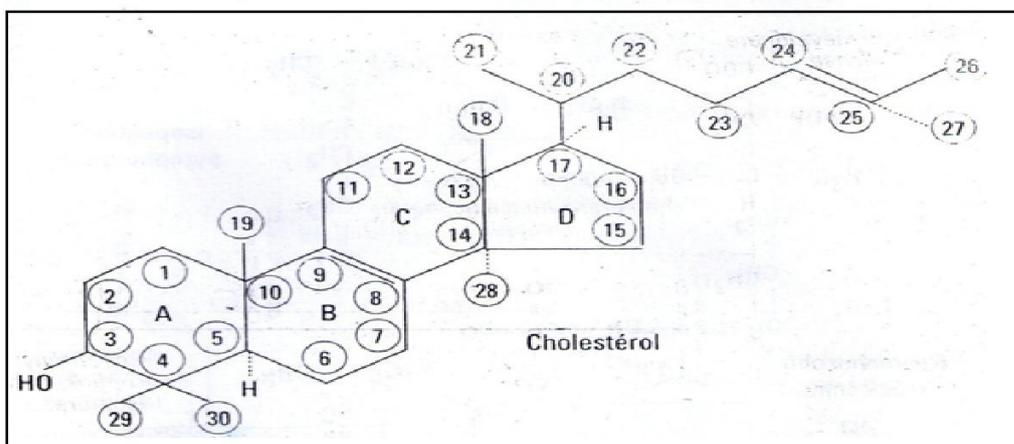


Figure n ° 01 : Structure du cholestérol.(J-Claude,1996).

1-3- Les sources de cholestérol :

Le cholestérol dans l'organisme des animaux supérieurs à une double origine :

1-3-1-Exogène (apport alimentaire) :

L'apport alimentaire quotidienne est de l'ordre de 0,5 à 1g de cholestérol par jour dont 20% sont des stérols végétaux et 0,3 à 0,6 g par jour exclusivement d'origine animal (Hecht,1989 ;Luc et al.,1991).

1-3-2- Endogène (biosynthèse) :

Le mécanisme de la biosynthèse du cholestérol est connu grâce aux travaux de K-Blache et Fidorligen .(figure n°2)(Louisot,1983).

La synthèse de cholestérol est localisée dans le cytosol des cellules hépatocytaires et entéro - cytaires et également dans les surrénales, testicules, ovaires, la peau et le système nerveux (George,1998).

Le précurseur initial dans la biosynthèse est l'acétate (Louisot,1983).

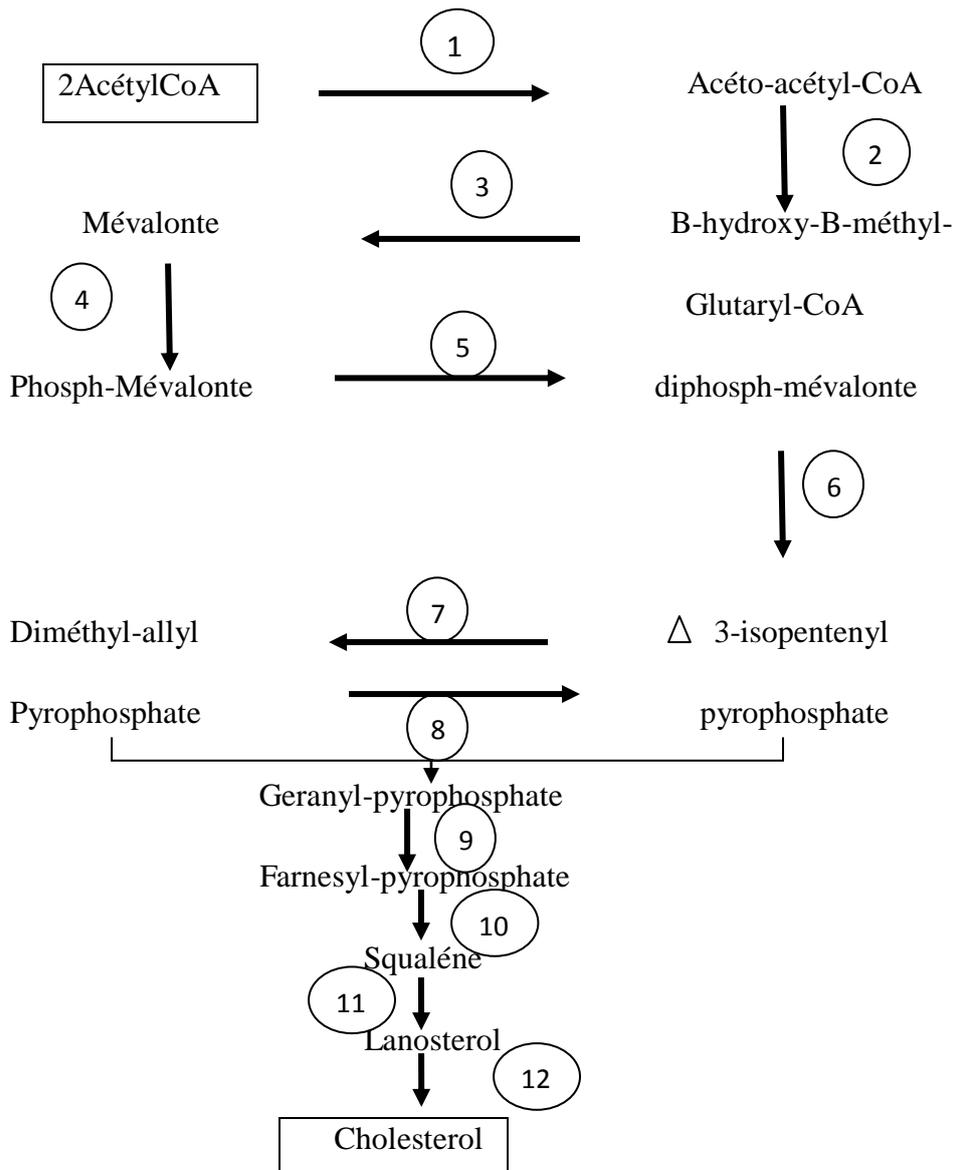


Figure n°2: la biosynthèse du cholestérol (louisot,1983)

- | | |
|---|--|
| 1. Acétyle transférase. | 7. Isopentényl-pyrophosphate 3,2
Isomérase. |
| 2. Hydroxy-méthyl-glutaryl-CoA
Synthétase. | 8. Géranyl-pyrophosphate-synthétase. |
| 3. Hydroxy métyl glutaryl CoA
reductase (HMG-CoA reductase). | 9. Géranyl-pyrophosphate synthétase. |
| 4. Mévalonte kinase. | 10. Squaléne synthétase. |
| 5. Phosphomévalonate kinase. | 11. Enzyme microsomique. |
| 6. Pyrophosphomévalonte-
Décarboxylase. | 12. Nombreuses enzymes. |

1-4-Métabolisme du cholestérol :

Le cholestérol est un constituant essentiel des membranes biologiques. C'est aussi le précurseur de composés vitaux que sont les stéroïdes hormonaux et les acides biliaires (Georges ,1998).

1-4-1- Synthèse :

L'ensemble de cette biosynthèse comporte un grand nombre d'étapes : la première étape est le passage de l'acétyl CoA au mévalonate : le mévalonate est converti en 3 isopentyl –pyrophosphate ,cette dernière est condensée avec une molécule de 3,3-diméthyl-allyle-pyrophosphate conduisant au géranyl-pyrophosphate ,qui subit une élongation pour donner le farnesylpyrophosphate une dimérisation du farnesylconduisant au squalène qui subit une cyclisation en lanostérol .Finalement la transformation en cholestérol par Nombreuses réaction (Hams et al.,2002 ;Louisot,1983).(voir figure n°2).

Le point de départ de la synthèse est l'acétyl CoA. K. Bloch a montré vers 1940 que l'acide acétique était le précurseur du cholestérol, grâce à l'utilisation de précurseur (Jacques ,1989).

Par addition d'une 3ème molécule d'acétyl CoA le tout donnant une molécule de β OH – β CH₃ – glutaryl - CoA (HMG – CoA) . cette synthèse est cytosolique (Kazi-Aoul ,1989).

1-4-2- Régulation de la biosynthèse du cholestérol :

Le cholestérol peut être obtenu soit à partir de l'alimentation soit par synthèse de novo, principalement dans le foie. Le cholestérol est transporté dans l'organisme dans des particules de lipoprotéines. La vitesse de synthèse du cholestérol est dépendant du taux cellulaire du cholestérol. Des taux élevés de cholestérol et de ses métabolites contrôlent une biosynthèse du cholestérol par :

- Rétro-inhibition de l'activité de la HMG CoA réductase, l'enzyme catalysant l'étape engagée de la biosynthèse de cholestérol.
- Diminution de la quantité de HMG CoA réductase par réduction de la synthèse et de la traduction de son ARN m.

- Diminution de la quantité de HMG CoA réductase par augmentation de sa vitesse de dégradation.

De plus, la HMG CoA réductase, comme l'acétyl CoA carboxylase d'une synthèse d'acides gras est inactivée par phosphorylation par la protéine kinase activée-AMPC-dépendante. (Hames et al.,2002).

1-4-3- Dégradation du cholestérol :

Le foie excrète le cholestérol dans la bile et le dégrade (80-90%) en acides biliaires. Cette dégradation est modulée par l'activité de la 7α -hydroxylase inhibée par le taux d'acides biliaires circulants et ramenés au foie par le cycle entéro-hépatique (kazi-Aoul,1989).

1-5- Les organes concernés :

Le métabolisme du cholestérol se déroule dans tous les tissus, mais l'intestin et le foie sont plus particulièrement concernés.(voir le tableau n°1 et figure n°3) .

Foie	Récupération du cholestérol provenant de l'intestin et des tissus périphériques. Synthèse endogène
Intestin	Absorption du cholestérol alimentaire et biliaire (cycle entérohépatique). Synthèse endogène. Transmission vers le foie.
Tissus périphériques	Récupération du cholestérol lipoprotéines. Utilisation pour synthèse les composés biologiques de structure stéroïde. Renvoi vers le foie du cholestérol en excès

Tableau n°1Rôle des Organes dans le métabolisme du cholestérol.(patrick,2000).

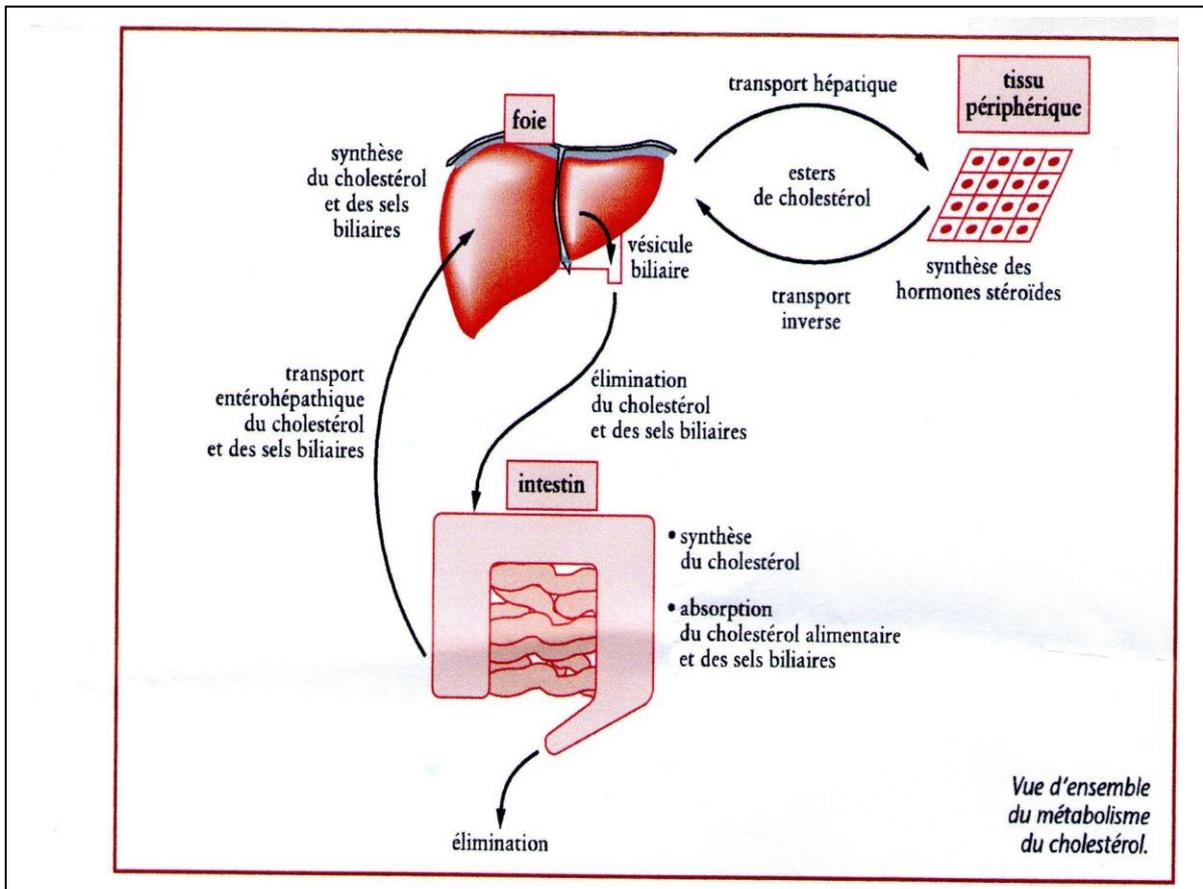


Figure n° 0 3 : vue d'ensemble du métabolisme du cholestérol.(Patrik,2000).

1-6-L'élimination du cholestérol :

A l'état normal, il existe un équilibre entre les apports (endogène et exogène) et l'élimination du cholestérol . Si notre organisme est capable de construire le noyau stérané , en revanche il est incapable d'en assurer la dégradation . D'autre part , s'agissant d'une molécule peu soluble, la seule voie d'élimination envisageable est la voie intestinale. Le cholestérol est éliminé par les voies biliaires vers l'intestin, directement ou sous forme d'acides biliaires.(Patrick,2000).

1-7- Le rôle de cholestérol :

Le cholestérol est indispensable à la vie, il est utilisé dans l'organisme comme matière première notamment pour l'enveloppe des cellules et pour la synthèse des hormones (progestérone, androgènes, œstrogènes et les glucocorticoïdes).(Hames et al.,2000).

Il contribue aussi à la formation des sels biliaires utiles à la digestion des lipides et permet la formation de la vitamine D₃ au niveau de la peau sous l'influence du soleil .(Depagne et al.,2000 ;Hames et al .,2000 ;Rullier,1995).

1-8- Captation du cholestérol par les cellules :

La plupart des cellules ont par ailleurs des récepteurs à LDL en particulier les fibroblastes, les cellules musculaires et probablement toutes les cellules des tissus périphériques.(Borel et al.,1981).

Les LDL transportent essentiellement le cholestérol du foie vers les tissus , ils sont ensuite absorbés par les cellules cibles par l'intermédiaire d'une endocytose récepteur médiée . Le récepteur LDL , une glycoprotéine transmembranaire, se lie spécifiquement à l'Apo B 100 dans le revêtement LDL. Une fois dans les lysosome les LDL sont digérés par des enzymes lysosomales, avec les esters de cholestérol qui sont hydrolysés par une lipase lysosomale libérant le cholestérol .Celui – ci est ensuite incorporé dans la membrane cellulaire et tout excès est réestérifié pour le stockage par l'acyle CoA cholestérol acyle transférase (ACAT) Figure n° 04 (Borel et al., 1981 ; Hams et al ., 2000).

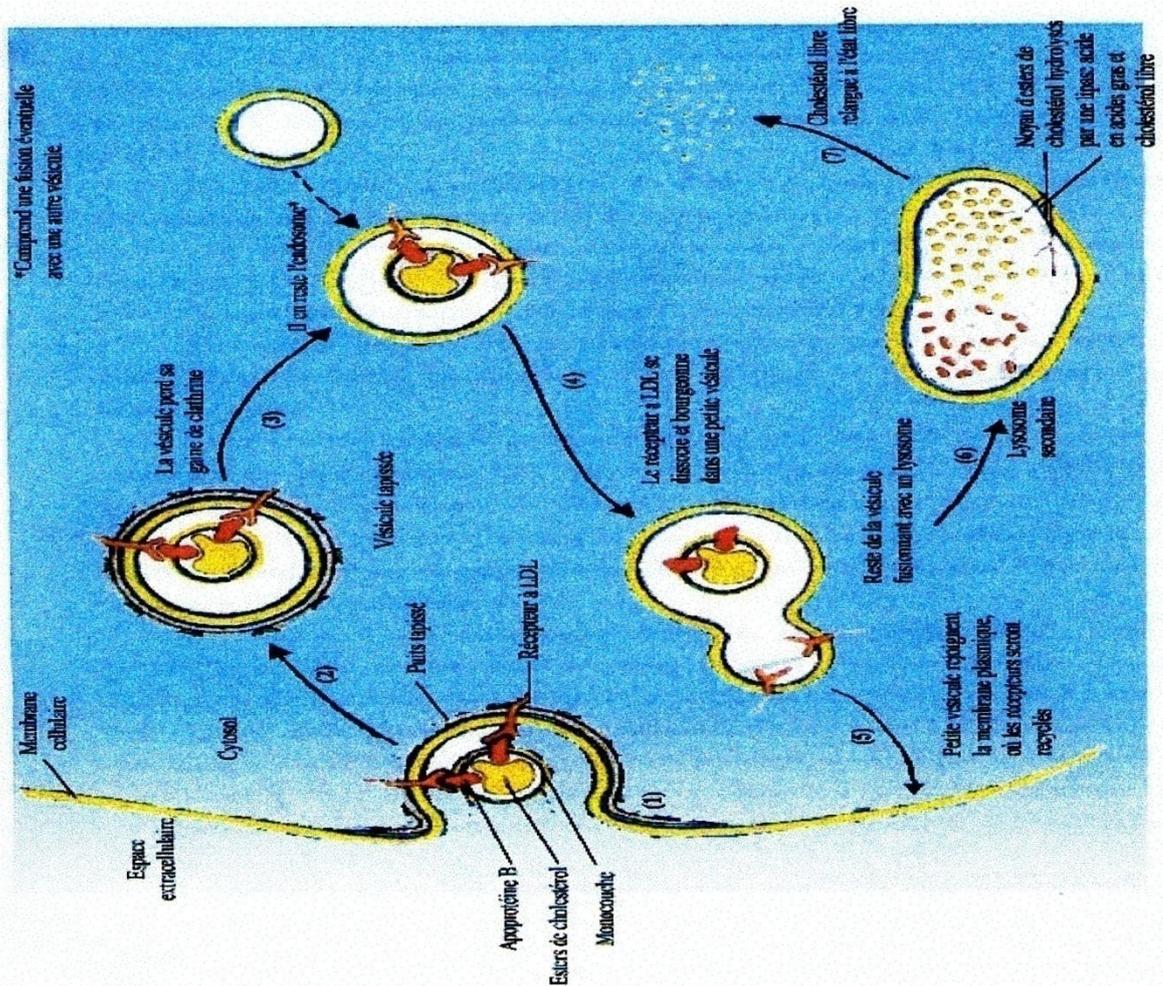


Figure n° 04: capture de cholestérol par endocytose médiée par récepteur (Rawn, 1990).

Chapitre 02

2-Maladie de foie

2-1-Définition :

Le foie est l'un des organes du corps les plus lourds (1.2-1.5kg). Il intervient dans l'une des principales fonctions, maintien du milieu intérieur. Sa position anatomique lui permet de remplir cette fonction, car presque toute l'absorption du matériel étranger se fait par l'intestin, drainé par le flux portal allant au foie ; celui-ci contrôle par conséquent la libération dans la circulation systémique des nutriments absorbés dans l'intestin. En plus de cette fonction de métabolisation des nutriments, le foie est capable de stocker et de libérer divers substrats, vitamines et minéraux, et il joue un rôle crucial dans le métabolisme des médicaments et dans celui de la bilirubine. Le foie est aussi le plus grand organe réticulo-endothélial du corps. Sa situation est importante pour extraire les bactéries et leurs produits infectants qui entrent dans le corps par l'intestin.(Davidson,2000).

2-2-Anatomie :

Le foie est traditionnellement divisé en lobes droit et gauche par le ligament falciforme, la fissure du ligament rond et la chirurgie hépatique ont conduit à une division plus utile en hémi-foies droit et gauche, division fondée sur la vascularisation hépatique. Les hémi-foies droit et gauche sont eux-mêmes subdivisés en segments, au nombre total de huit, en fonction des subdivisions des veines hépatiques et portes. Chaque segment est fait de multiples unités plus petites appelées lobules, chaque unité comprenant une veine centrale, les sinusoides qui en irradient séparés les uns des autres par une seule lame de cellules hépatiques, et des espaces portes périphériques. Cependant, le lobule hépatique n'a pas de signification fonctionnelle. L'unité fonctionnelle du foie est l'acinus hépatique, qui est anatomiquement presque l'inverse du lobule hépatique. Le sang pénètre dans l'acinus par un rameau terminal de la veine porte et par une branche terminale de l'artère hépatique, situés tous deux dans un espace porte. Il passe dans les sinusoides hépatiques, et il gagne ensuite plusieurs veinules hépatiques à la périphérie de l'acinus. Par contre, le flux biliaire suit une direction opposée dans les canalicules biliaires, vers les ductiles biliaires intralobulaires (cholangioles), puis dans les canaux biliaires interlobulaires situés dans les espaces portes. Les hépatocytes de chaque acinus peuvent être divisés fonctionnellement en trois

zones différentes, en fonction de leur position par rapport à l'espace porte terminal.
(Davidson,2000).

L'apport sanguin hépatique est double :

- par la veine porte qui draine le territoire splanchnique (veine splénique, veine mésentérique supérieure et veine mésentérique inférieure) et apporte les 2/3 du volume sanguin hépatique ;
- par l'artère hépatique issue du tronc coeliaque.

L'ensemble veine porte - artère hépatique constitue, avec le canal cholédoque, le pédicule hépatique. La ramification de ce pédicule permet d'isoler 7 segments (Figure 5) dont la connaissance est nécessaire pour la prise en charge radiologique, chirurgicale et anatomo-pathologique des pathologies tumorales.(Source :<http://www.hepatoweb.com>).

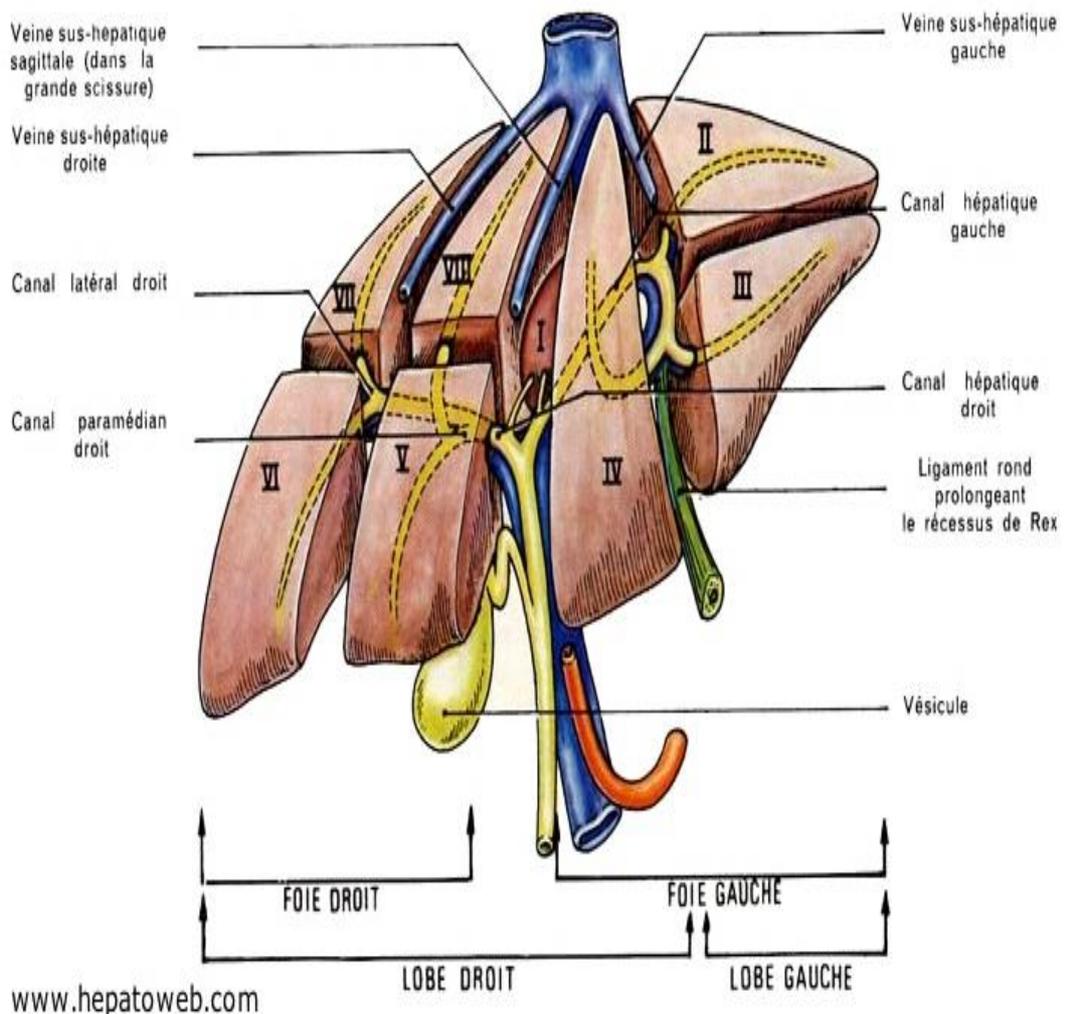


Figure n°5 :Anatomie du foie (source : <http://www.hepatoweb.com>)

Le sang quitte le foie par trois veines sus-hépatiques principales (droite, médiane et gauche) et des veines accessoires qui drainent le segment 1 (ou lobe de Spiegel), ce qui explique l'hypertrophie de ce segment en cas d'obstruction des veines principales. Les veines sus-hépatiques principales délimitent 4 secteurs (Figure 1) composés chacun de 1 à 2 segments : latéral gauche (segments 2 et 3), paramédian gauche (segment 4), paramédian droit (segments 5 et 8) et latéral (ou postérieur) droit (segments 6 et 7). Elles se jettent dans la veine cave inférieure.(J.Isselbacher et al.,1995).

2-3- Fonction du foie :

Le foie joue un rôle majeur dans l'homéostasie des protéines, des glucides et des lipides (Fig.6). La glycolyse, le cycle de Krebs, la biosynthèse et la dégradation des acides aminés et la phosphorylation oxydative sont tous des processus métaboliques qui se déroulent dans les hépatocytes, qui sont riches en mitochondries. Le foie contient un système réticulo-endothélial élaboré pour la synthèse et la dégradation des cellules sanguines. Les cellules hépatiques métabolisent, détoxifient et éliminent des composés endogènes et exogènes. L'élimination des produits finaux hydrosolubles résultant du métabolisme des nutriments et des toxines, et des facilitateurs de la digestion comme les acides biliaires, a lieu dans l'arbre biliaire.(Allan.2004).

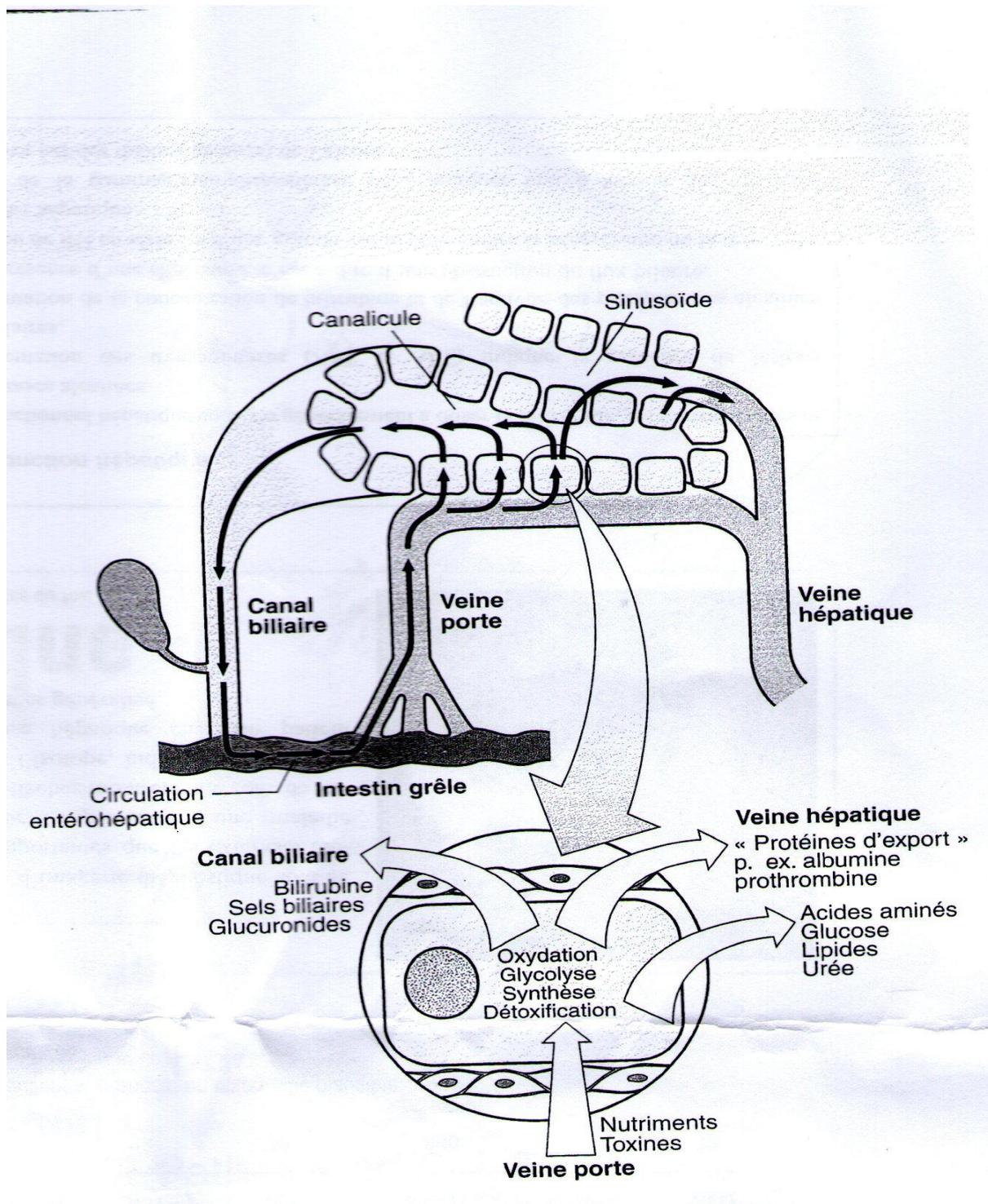


Figure n°06 : La fonction du foie.(Allan,2004).

2-4-Les maladies du foie liée en cholestérol :

LA STÉATOSE HÉPATIQUE

La malbouffe attaque votre foie! La stéatose hépatique, couramment appelée « foie gras » progresse aussi rapidement que l'obésité et le diabète. Est-ce dangereux? Y a-t-il quelque chose à faire?

Pour décrire cette « nouvelle » maladie, on peut lire dans le Larousse Médical que : “ La stéatose est une accumulation de graisses à l'intérieur de cellules qui, à l'état normal, n'en contiennent que de très faibles traces. Les graisses accumulées sont en général des triglycérides. Le foie, qui joue un rôle majeur dans leur métabolisme, est le siège le plus habituel de cette surcharge ”.

Les débuts de cette affection sont asymptomatiques. La plupart du temps, on la découvre à la suite d'une échographie abdominale ou d'analyses de sang. Quant à vous, vous plaignez souvent d'avoir les jambes lourdes, de souffrir de migraine, de reflux gastriques, de brûlements d'estomac et de baisse d'énergie rapide au cours de la journée.

(Cet article a été publié dans la revue Mieux-Être – numéro 24 – Novembre 2008).

2-5-Traitement :

- Perte de poids;
 - Exercice;
 - Régime à indice glycémique faible, plus efficace qu'un régime hypolipidique;
 - Des antioxydants, notamment la vitamine E, du sélénium et de la bétaine, peuvent être bénéfiques et des études sont en cours;
 - l'acide ursodéoxycholique a bénéficié à certains patients souffrant d'un niveau d'enzymes hépatiques élevé;
 - Les patients adultes réagissent positivement aux agents qui augmentent la sensibilité à l'insuline et des études sont en cours chez les patients pédiatriques.
- (Markus H.Heim.2011).

2-6- La relation entre le métabolisme du cholestérol et les maladies de foie :

Le foie joue un rôle central dans le métabolisme du cholestérol :

Le foie possède tous les enzymes nécessaires au métabolisme du cholestérol .Les quatre protéines majeures de ce métabolisme sont la 3-hydroxy-3-méthyl glutaryl-CoA réductase ou HMG-CoA réductase (synthèse du cholestérol), l'acylcholestérol acyltransférase ou ACAT (estérification du cholestérol), la cholestérol 7 α -hydroxylase (synthèse des acides biliaires) et le récepteur des LDL (capture du cholestérol circulant). L'homéostasie du cholestérol dépend donc de la présence de ces quatre protéines qui sont toutes « dépendantes des stérols ».(Kamoun et al,2003).

Au cours d'un repas, le foie joue un rôle clef dans la circulatier du cholestérol et, par conséquent, dans celle des VLDL contribuant ainsi à fournir du cholestérol à l'organisme. Sous l'influence de l'insuline, l'HMG-CoA réductase est activée ; cette hormone active également l'acétyl-CoA carboxylase, l'enzyme clef de la synthèse des acides gras, ainsi que la glycérol-3-phosphate acyltransférase. (Kamoun et al, 2003).

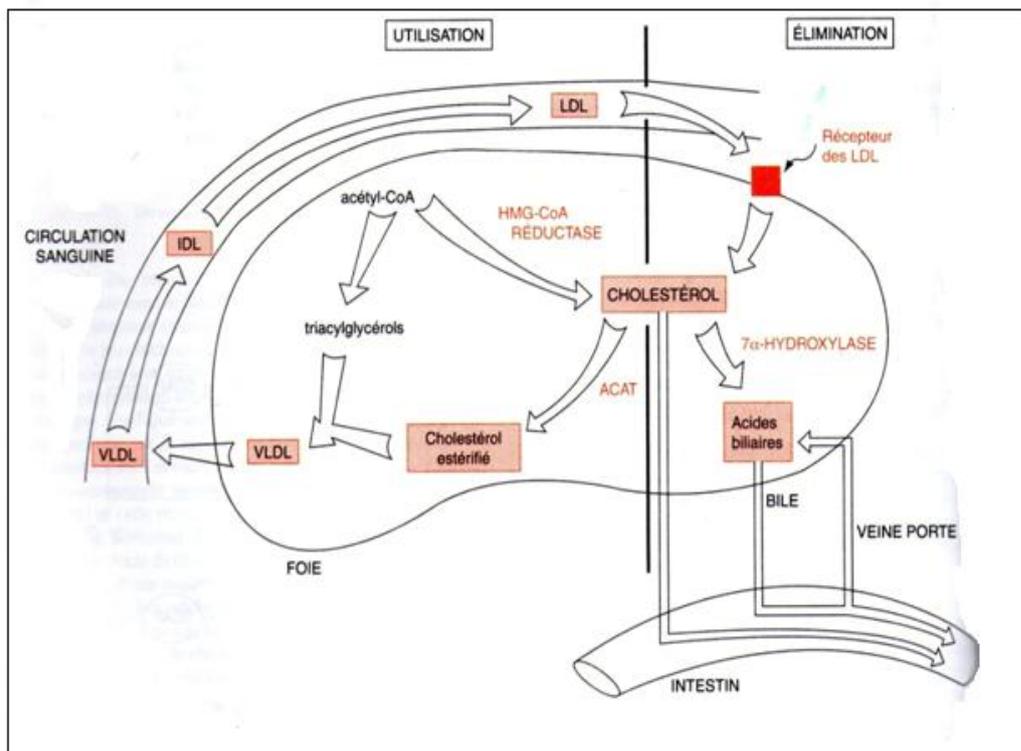


Figure n°7 : Rôle du foie dans le renouvellement du cholestérol : ACAT (acyl cholestérol acyl transférase).(Kamoun et al, 2003).

Partie Pratique

PARTIE PRATIQUE

DOSAGE DU CHOLESTEROL-HDL

Détermination du cholestérol-HDL par méthode enzymatique

Le cholestérol-HDL est une lipoprotéine qui est considérée comme étant du bon cholestérol. Il est véhiculé vers le foie pour être métabolisé et excrété sous forme de sels biliaires. Il n'est pas athérogène par opposition au reste du cholestérol lié a fractions VLDL-LDL.

1 – Principe :

Après avoir être précipité par l'acide phosphotungstique, en présence d'ions magnésium, les chylomicrons et les lipoprotéines de faible densité (LDL) et de très faible densité (VLDL) contenus dans le sérum, on procède au dosage enzymatique des lipoprotéines de haute densité (HDL) contenues dans le surnageant obtenu après centrifugation.(Spinreact,2010).

2- Echantillons :

Le Cholestérol-HDL est dosé chez un sujet à jeun depuis 12 heures environ. Le prélèvement est effectué sur le sérum ou le plasma recueilli sur héparinate de lithium qui peuvent être congelés à moins 20°C pendant 3 mois. Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation. Il faut séparer le plus rapidement possible le sérum ou le plasma du culot globulaire (dans les 2 heures qui suivent le prélèvement).Il faut signaler toute prise de médicament hypolipémiant.(Spinreact,2010) .

4- Réactifs :

Ce sont des coffrets commercialisés dont il faut suivre le protocole fixé par le fabricant. Ils contiennent en général les réactifs suivants :(Spinreact,2010).

Le réactif précipitant :

Acide phosphotungstique	14 mmol/l
Chlorure de magnésium	1 mmol/l

PARTIE PRATIQUE

Le réactif de dosage de la fraction cholestérol-HDL

• Réactif 1 :

Tampon phosphate PH 6,9	50 mmol/l
Phénol	24 mmol/l
Cholette de sodium	0,5 mmol/l

Réactif 2 :

Cholestérol estérase	>200 U/l
Cholestérol oxydase	>250U/l
Peroxydase	>1000U/l
Amino 4 antipyrine	0,5 mmol/l

Etalon : Cholestérol-HDL n =0,5g/l = (1,29 mmol/l)

Si le réactif apparaît trouble ou coloré, il doit être rejeté.(Spinreact,2010).

5- Mode opératoire :

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

- Longueur d'onde : 500 nm
- Température d'incubation : 37°C
- Zéro de l'appareil : blanc réactif
- Domaine de linéarité :Jusqu'à 2,75g/l
- Stabilité de la coloration : 30 minutes à 20°C-25°C ou 10 minutes à 37°C La méthode est linéaire jusqu'à 2,75g/l. Si la concentration en cholestérol-HDL est supérieure à cette valeur, il faut recommencer le dosage sur l'échantillon dilué au 1/2 avec une solution de NaCl à 9g/l; en n'oubliant pas de tenir compte de cette dilution avant de rendre le résultat qui sera multiplié par 2.(Spinreact,2010).

PARTIE PRATIQUE

5-1 Précipitation de la fraction cholestérol-LDL :

Le réactif précipitant est préparé en mélangeant 4 volumes d'acide phosphotungstique avec un volume de chlorure de magnésium. Ech 500 μ l + Réactif précipitant 50 μ l.

Il ne faut pas traiter l'étalon, bien mélanger et attendre 10 minutes puis centrifuger pendant 15 minutes à 5000 tr/mn. Séparer le surnageant limpide du précipité dans les 2 heures qui suivent la centrifugation.(Spinreact,2010).

5-2 Dosage de la fraction cholestérol-HDL :

Dissoudre le réactif 2 dans le réactif 1 pour obtenir la solution de travail. Cette solution est stable 2 semaines à 20-25 °C et 1 mois à +4°C.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Surnageant	---	---	50 μ l
Etalon	---	50 μ l	---
Réactif	1ml	1ml	1ml

Mélanger et lire les densités optiques (DO) des spécimens après 5 minutes d'incubation à 37°C.

Calcul : Cholestérol-HDL (g/l) DO échantillon x n/ DO étalon

n = Concentration de l'étalon cholestérol-HDL en g/l.

Il faut multiplier le résultat obtenu par 1,1 pour tenir compte de la dilution effectuée lors de la phase de précipitation.

Le taux de Cholestérol-LDL peut être calculé par la formule de Friedenwald :

Cholestérol -LDL== Cholestérol total- (Triglycérides/5 + Cholestérol-HDL)

Cette formule n'est applicable que lorsque la concentration de Triglycéride dans le sang ne dépasse pas 3g/l.(Spinreact,2010) .

6- Valeurs normales :

Elles varient légèrement avec l'âge et le sexe.

• Sérum - plasma : Homme 0,4 à 0,5 g/l, Femme 0,5 à 0,6 g/l, Enfant 0,3 à 0,4 g/l (Source : Fédération Française de Cardiologie).

PARTIE PRATIQUE

7- Variations physiopathologiques :

Ce qui compte pour l'interprétation de ce paramètre est le rapport cholestérol total sur cholestérol-HDL qui doit être voisin de 2,5 à 3.

Le risque athérogène apparaît dès que ce rapport augmente ou lorsqu'il y a une baisse du cholestérol-HDL ou une augmentation du cholestérol-LDL. Cette analyse rentre dans le cadre du bilan lipidique qui évolue les facteurs de risque observés dans les maladies cardiovasculaires notamment l'athérosclérose.

Serum ou plasma :

Augmentation : Sexe féminin/ Activité physique intense/ Vit. C/ Médicament (clofibrate)

Diminution : Obésité/ tabac/ Alcoolisme/ Athérosclérose

PARTIE PRATIQUE

DOSAGE DU CHOLESTEROL TOTAL

Détermination du cholestérol total par méthode enzymatique

1- principe :

La détermination du cholestérol total par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :

Cholestérol estérifié+H₂O→cholestérol estérase→cholestérol+acides gras

Cholestérol+O₂→cholestérol oxydase→cholestène-4-one-3+H₂O₂

2H₂O₂+phenol+amino-4-antipyrine→peroxydase→quinone+4H₂O

phenol+amino-4-antipyrine: chromogène réduit incolre (Spinreact,S.A.U ,2007).

2-Echantillons :

Même l'échantillons de dosage du cholestérol-HDL

3-Mode opératoire :

Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes.

☐ longueur d'onde : 500nm

☐ Température d'incubation : 37°C

☐ Zéro de l'appareil : blanc réactif

- domaine de linéarité : jusqu'à 5g/l
- stabilité de la coloration : 30mn à 20°C-25°C ou 10mn à 37°C

La méthode est linéaire jusqu'à 5g/l. si la concentration en cholestérol est supérieure à cette valeur, il faut recommencer le dosage sur un échantillon dosé au ½ avec une solution de Na cl à 9g/l, en n'oubliant pas de tenir compte de cette dilution avant de rendre le résultat qui sera multiplié par 2.

PARTIE PRATIQUE

	Blanc réactif	Etalon	Echantillon
Echantillon	---	---	10µl
Etalon	---	10µl	---
Solution de travail	1ml	1ml	1ml

Mélanger et lire les densités optiques des spécimens après incubation de 5 minute à 37°C.

Calcul :

$$\text{Cholestérol (g/l)} = (\text{DO échantillon} / \text{DO etalon}) * n$$

n= concentration de l'étalon cholestérol en g/l. (Spinreact, 2007).

4- Valeurs normales :

Elles varient légèrement avec l'âge et le sexe.

Sérum-plasma : Adulte 1.5 à 2.2g/l (OMS < 2g/l)

Nourrisson 1 à 1.5g/l

(Source : Fédération Française de Cardiologie).

5- Variations physiopathologiques :

Sérum Ou Plasma

Augmentation :

- Repas riche en graisse animale
- Age > 45 ans
- Grossesse
- Hypercholestérolémie congénitale
- cholestase hépatique
- Diabète sucré, Hypothyroïdie
- Goutte, Pancréatite Syndrome néphrotique

Diminution :

- Jeûne
- Insuffisance hépatique
- Hyperthyroïdie
- Malnutrition
- Maladie métabolique congénitale

PARTIE PRATIQUE

DOSAGE DU CHOLESTEROL-LDL

Ce dosage se fait selon la méthode d'Assmann, 1984 :

1-Principe:

Les lipoprotéines de faible densité (LDL) Présentés dans l'échantillon précipitent en présence de sulfate de polyvinyle, la concentration de LDL-c est calculée en faisant la différence entre les valeurs du cholestérol dans le sérum et dans le surnageant obtenue après centrifugation à 3000-5000 tours pendant 10 minutes, enfin le cholestérol est quantifié spectrophotométriquement grâce aux réactions déjà citées dans le dosage du cholestérol .

2-Réactifs:

20 ml: sulfate de polyvinyle 3 g/l

Polycitrylène glycol 3 g/l

3-Mode opératoire :

Pour la précipitation on pipeter dans des tubes a centrifugeuse l'échantillon à analyser .

Echantillon	0.2 ml
Réactif	0.1 ml

Agiter et laisser pendant 15 minutes à température ambiante, puis centrifuger pendant 15 minutes à un minimum de 4000 tours par minute, le surnageant est recueilli pour la colorimétrie, placer le réactif de cholestérol à température ambiante puis pipeter dans des tubes essais.

	Blanc	Etalon	Echantillon
Eau distillée	20µ l	-	-
Etalon cholestérol	-	20µl	-
Surnageant échantillon	-	-	20µl
Réactif de cholesterol			

PARTIE PRATIQUE

Bien agiter et incuber les tubes pendant 30 minutes de 16 à 25° Cou pendant 10 minutes à 37 ° C.

Enfin lire l'absorbance de l'étalon et l'échantillon face au blanc à 500 nm, la couleur est stable au mois 30 minutes.

Le résultat est donné par la formation suivante :

$$\frac{D.O.Echantillon}{2D.O.Etalon} \cdot 1,5.200 = \text{mg/dl Cholestérol dans le surnageant}$$

LDL-c = cholestérol total – cholestérol dans le surnageant en considérant que le facteur de dilution de l'échantillon est 1,5 et que la concentration de l'échantillon est de 200 mg/dl

*Méthode de Friedewald (Turpin et Brukert, 1999):

A cause du manque de donnée relative à LDL-C (bilan incomplets) de certaines personnes, on a utilisé la méthode de Friedewald (Turpin et Brukert, 1999) qui est basée la formule suivante:

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{CT-HDL-cholesterol} - \frac{TG}{5}$$

Cette formule est valable à condition que les triglycérides soient inférieures à 4g/l

4- Valeurs normales:

Homme	mmol/l: 2.84 – 4.13	g/l : 1.10 – 1.60	mg/dl : 110-160
Femme	mmol/l: 2.58 – 3.87	g/l : 1.00 – 1.50	mg/dl : 100-150
Source : Fédération Française de Cardiologie.			

Tableau n°3: Le cholestérol LDL « mauvais »

Conclusion :

Le cholestérol circule dans le sang mais c'est une substance lipidique, qui ne peut se déplacer sans aide dans un milieu aqueux. Il est transporté par des protéines spécialisées dans le transport du gras : les lipoprotéines. La nature de celles-ci détermine ce qu'on appelle un « bon » et un « mauvais » cholestérol .

- Les lipoprotéines à basse densité ou LDL constituent le "mauvais" cholestérol. Elles vont chercher le cholestérol au foie, la manufacture principale, pour le transporter vers les cellules. Lorsque la quantité de cholestérol transportée par les LDL est excessive, les surplus collent à la paroi des artères. Ces dépôts donc peuvent provoquer des troubles cardio-vasculaires.

- Les lipoprotéines à haute densité ou HDL représentent le "bon" cholestérol. Car elles ramassent l'excès de cholestérol présent dans le sang et les cellules, et peuvent même s'attaquer au cholestérol collé aux artères. Elles le ramènent au foie qui se charge alors de l'éliminer par la bile. Plus le taux sanguin de HDL-cholestérol est élevé, plus le risque d'athérosclérose est faible. Le HDL uni aux acides gras essentiels des huiles est assimilable par l'organisme.

- Le foie joue un rôle important dans le métabolisme du cholestérol. Son dysfonctionnement entraîne des maladies métaboliques liées à l'augmentation ou à la diminution du taux de cholestérol.

- Néanmoins ,en outre , le cholestérol peut s'accumuler ,avec les TG ,dans le foie en aboutissant à la stéatose dont le traitement est un régime alimentaire contrôlé.

RÉFÉRENCES :

- 1) Kessous .c, 2009. Biochimie structural. Place centrale de Ben Aknoun (Alger), P 153.
- 2) Rullier.B ,1995. Hygiène alimentaire. nathan .100-104-154p.
- 3) Hames.B.D,Hooper.N. M et Houghton.J.D, 2006. L'essentiel en Biochimie. Port Royal Livres, 318 p
- 4) Dupagne.D,pecquet.C,Groleau.P,Ban jean.M.C, et Duan.P.A,2000.le dictionnaire des médicaments, vidal.P.,1283.
- 5) Hecht.Y,1989.du cholestérol aux acides biliaires AM.j.clin.Nutr.,27,P.133-134-137.
- 6) Luc.G,lecerf.j.M,Bard.j.M,HACHulla.E,Fuchart.j.c et Devulder.B,1991. Cholestérol et athérosclérose. Masson.paris,P.195-198.
- 7) Louisot.p,1983. Biochimie général et médicale.
- 8) Hennen.G,1998.Biochimie 1er cycle.Dunod,paris P.301-303.
- 9) T.kazi-Aoul,1989. Cours de Biochimie Etude des lipides et des lipoprotéines.Office des publications universitaires 1.P.49-54-55.
- 10) Source : <http://www.hepatoweb.com>)
- 11) A Gaw,MD.Michael J.RobertA.Denis St,2004.Biochimie clinique. MCP,45774 Saran cedex (France),P.52.
- 12) Borel .J, chanard.J, Gaugeon.J, lentenegger.M.M et Zeitoun.P, 1981. Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie. Maloine , P.82-84-89-90-91-92-94.
- 13) Davidson .2000.Medecin intern,editions maloine.
- 14) revue Mieux-Être – numéro 24 – Novembre 2008.
- 15) J.C DAVID .1996.Biochimie métabolique.éditions médicales internationaleles,P.259.
- 16) Patrick lustenberger J . A .2000.Biochimie et Biologie Moléculaire paris.p.323.
- 17) J. Kruh. 1989.Biochimie études médicales et biologiques.Hermann paris.P.160-163.

18) C. Bernsmeier, M. H. Heim.2011. Stéatose hépatique. Forum Med Suisse. 11(4).

P.56-57.

19) L. Highleyman et A. Franciscus, HCSP Publications.2004. une introduction au foie.

HCSP • VERSION 1. P250.

20) Spinreact,s.a, 2010.

21) Source : Fédération Française de Cardiologie. 2003.

22) Spinreact, S.A.U ,2007.

.23) M.H. Heim .2011. Stéatose hépatique non alcoolique et stéatohépatite non

alcoolique. P .56-57.

Résumé :

La majeure partie de cholestérol est fabriquée dans le foie (80%) par contre la petite quantité est apportée par notre alimentation (20%) il est nécessaire pour que le corps fonctionne normalement. Selon la densité de lipoprotéine il ya deux types : lipoprotéine à basse densité ou LDL (mauvais cholestérol) et lipoprotéine à haute densité ou HDL (bon cholestérol).

- Le foie joue un rôle important dans le métabolisme du cholestérol. Son dysfonctionnement entraîne des maladies métaboliques liées à l'augmentation ou à la diminution du taux de cholestérol.

- Néanmoins ,en rotteur , le cholestérol peut s'accumuler ,avec les TG ,dans le foie en aboutissant à la stéatose dont le traitement est un régime alimentaire contrôlé.

Mots clés : cholestérol, HDL, LDL, foie, stéatose.

Summary:

A major part of cholesterol is produced in the liver (80%) against the small amount is contributed by our diet (20%) is necessary for the body functioning normally. According density lipoprotein has two types: low-density lipoprotein or LDL (bad cholesterol) and high density lipoprotein or HDL (good cholesterol).

Liver plays an essential role in metabolism cholesterol. and he is not working inside the metabolism diseases that is related to the increase or decrease of the amount cholesterol.

Although the aggregation of cholesterol with TG in the liver that is a result of the desense of steatosis that treated with a diet.

Keywords: cholesterol, HDL, LDL, liver, steatosis.

ملخص :

إن الجزء الأكبر من الكولسترول يصنع في الكبد بحوالي (80%) بالمقابل الجزء الأصغر محمول بواسطة الأغذية (20%) وهو ضروري للجسم . حسب كثافة الليبوبروتينات هناك نوعين منها : ليبوبروتينات منخفضة الكثافة أو LDL (كولسترول ردي) ليبوبروتينات ثقيلة الكثافة أو HDL (كولسترول جيد) .

يلعب الكبد دور هام في ميثابوليزم الكولسترول وهو غير وظيفي داخل الأمراض الميثابوليزمية المرتبطة بزيادة أو انخفاض في نسبة الكولسترول .

إلا أن تجمع الكولسترول مع ثلاثي الغليسريد في الكبد ينتج عنه مرض الغدد الدهنية الذي يتم معالجته بإتباع حمية غذائية .

كلمات المفتاح : الكولسترول ،ليبوبروتينات ثقيلة الكثافة ،ليبوبروتينات منخفضة الكثافة ، الكبد، داء الغدد الدهنية.