

METABOLISME DU CHOLESTEROL

3^{ème} année de Pharmacie

Pr. P. LOPEZ SALL

PLAN

INTRODUCTION

I. STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS

II. BIOSYNTHÈSE

II.1. FORMATION DE MEVALONATE

II.2. FORMATION DE DERIVE ISOPRENIQUE ACTIF

II.3. FORMATION DE SQUALENE

II.4. FORMATION DE LANOSTEROL

II.5. FORMATION DE CHOLESTEROL

II.6. REGULATION DE LA BIOSYNTHESE

III TRANSPORT DU CHOLESTEROL

IV CATABOLISME ET ELIMINATION

V DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

CONCLUSION

INTRODUCTION

❑ Cholestérol:

- Substance lipidique (origine animale)
- Localisation: tissus, lipoprotéines plasmatiques.
- Formes:
 - ✓ Libre
 - ✓ Estérifiée (CE), combinée à acide gras (svt longue chaîne)
- Origine:
 - ✓ Endogène (2/3): **AcétylCoA** (foie, intestin, peau, glandes surrénales etc.)
 - ✓ Exogène (1/3): **Aliments** d'origine animale (jaune d'œuf, viande, foie et cerveau).
- Catabolisme: éliminé dans bile sous forme de cholestérol ou sels biliaires

INTRODUCTION

➤ Intérêts:

✓ Structural:

- Constituant obligatoire **membranes biologiques**,
- Régulation répartition protéines membranaires (ex : Cx ioniques)

✓ Métabolique: **précurseur** certaines molécules:

- **Acides biliaires** (émulsification lipides alimentaires)
- **Vitamine D3 ou cholécalciférol** (homéostasie calcium)
- **Hormones stéroïdes** (corticostéroïdes, hormones sexuelles)

INTRODUCTION

- ✓ Physiopathologique: implication dans développement pathologies graves.
- Variations cholestérolémie:
- ❖ Associées à défauts congénitaux métabolisme **Lipoprotéines (LP)**
-----→ état hyperlipoprotéïnémie ou hypolipoprotéïnémie.
- **LP primaires**, dues à anomalies certaines étapes formation LP, de leur transport, ou de leur catabolisme
- ❖ **LP secondaires** à pathologies:
 - Diabète
 - Dysthyroidies
 - Néphropathie

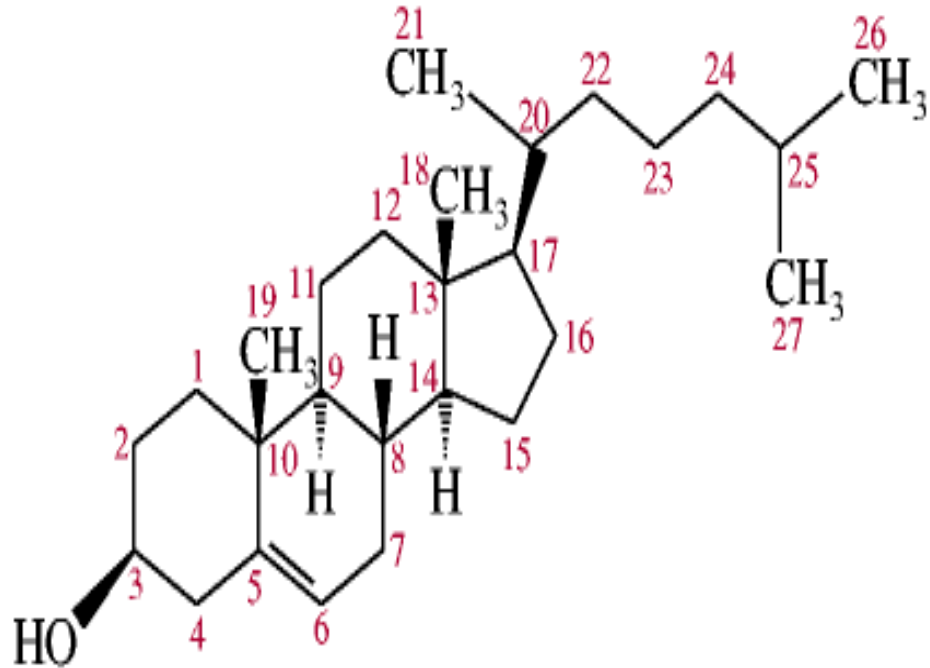
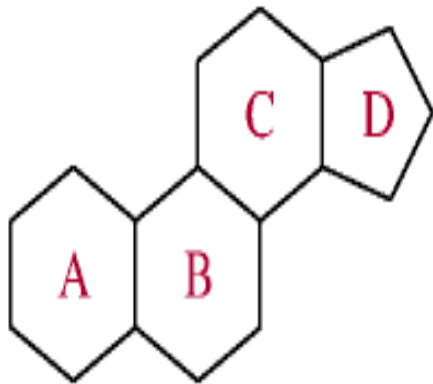
INTRODUCTION

- Maladies cardiovasculaires
 - Forte corrélation entre concentration **↑ée** cholestérol plasmatique et survenue **maladies cardiovasculaires**.
 - Cholestérol participe à genèse **athérosclérose** → obstruction vaisseaux sanguins:
 - Accident Vasculaire Cérébral ischémique (atteintes cérébrales)
 - Infarctus Du Myocarde (atteintes coronariennes)
 - Artérite des Membres Inférieurs (atteintes périphériques)

I. STRUCTURE ET PROPRIETES

I.1. Structure

- ❑ Cholestérol = **lipide neutre**, famille des stérols
- Molécule de base = noyau **Cyclopentanoperhydrophénanthréne**.



I. STRUCTURE ET PROPRIETES

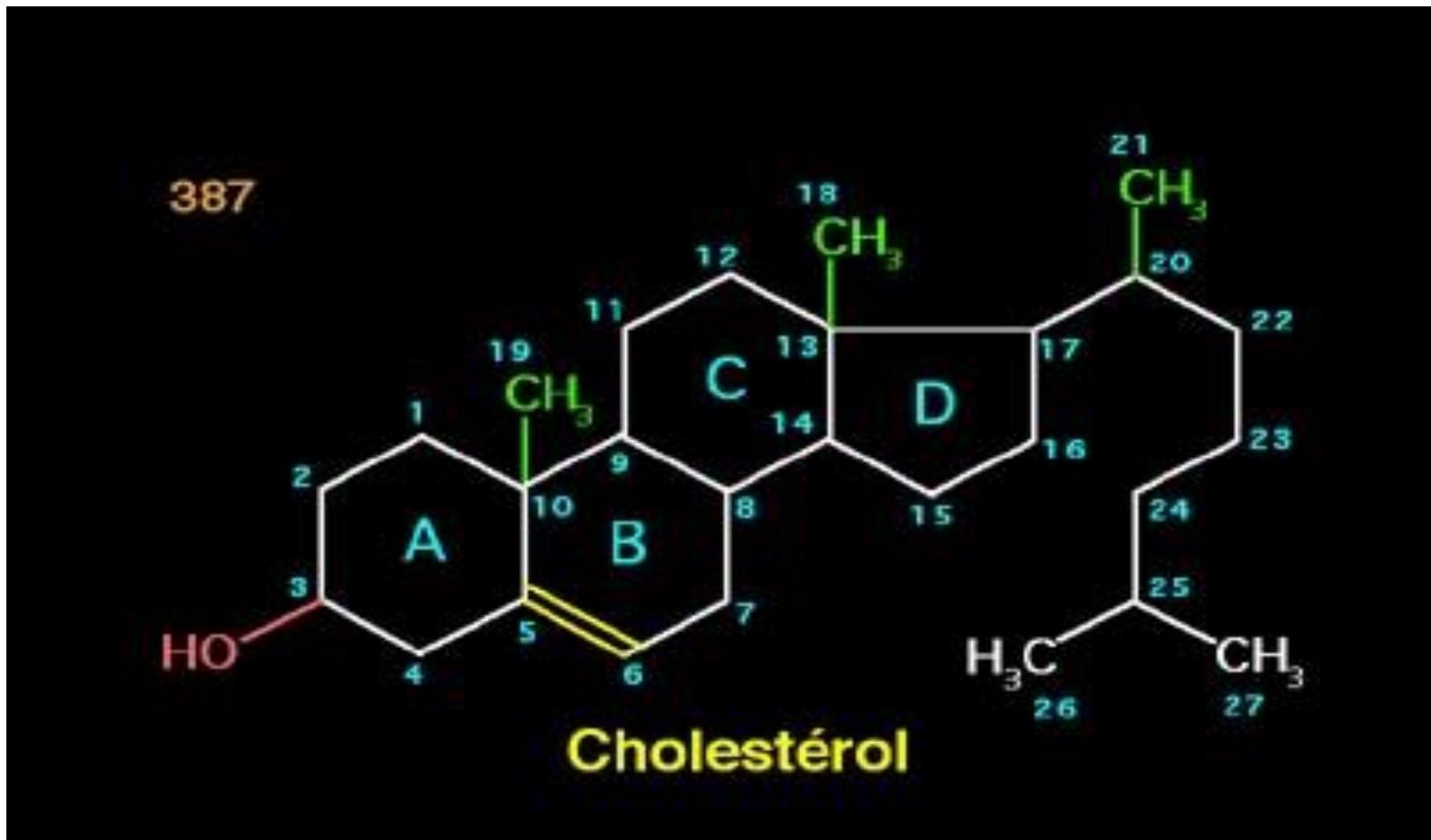
- Cyclopentanoperhydrophénanthrène: noyau à **17 carbones** constitué:
 - ✓ 3 Cycles A + B + C constituent cycle phénanthrène
 - ✓ Cycle D = cyclopentane
- Cholestérol : 27 atomes Carbone (majoritairement hydrophobe)
 - ✓ **4 cycles** :
 - **3 cycles pyraniques** A, B et C
 - **1 cycle furanique** D
 - **Ensemble = Noyau Stérane = noyau stéroïde**

I. STRUCTURE ET PROPRIETES

- ✓ **1 chaîne latérale** hydrocarbonée et saturée, branchée en C17
- ✓ **2 méthyles** branchés en C10 et C13
- ✓ **1 double liaison** entre C5 et C6.
- ✓ 1 fonction **hydroxyle** en C3 = **tête hydrophile**

I. STRUCTURE ET PROPRIETES

- Numérotation atomes « C » obéit à règles → **numérotation unique** pour cholestérol et dérivés métaboliques



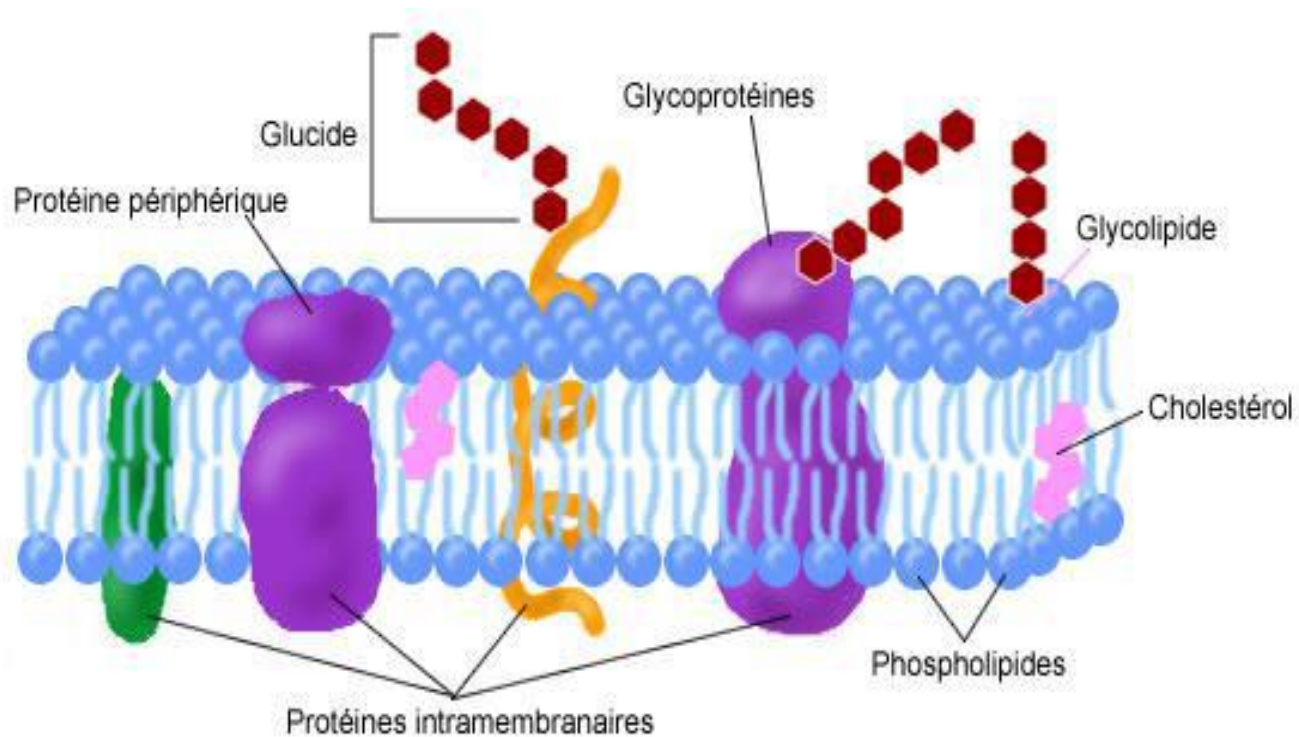
I. STRUCTURE ET PROPRIETES

I.1. Propriétés

- Deux formes :
- ✓ Forme libre **amphipathique** (partie hydrophile + partie hydrophobe).
- ✓ Forme estérifiée très **hydrophobe**.
- Forme libre **amphipathique** →
- Tendance cholestérol à s'insérer dans bicouches phospholipidiques (extrémité OH vers extérieur, partie hydrophobe vers intérieur membrane)
- Cholestérol responsable **fluidité** membranes.

I. STRUCTURE ET PROPRIETES

- ❖ Présence phospholipides sans cholestérol → rigidité



I. STRUCTURE ET PROPRIETES

- **Forme estérifiée** : estérification/ **acide gras à longue chaîne**
- **Forme estérifiée = forme de stockage** = forme anhydre présente dans vacuoles lipidiques impliquées dans transport cholestérol.
- ✓ Estérification sous influence 2 enzymes:
 - **ACAT** (Acyl CoA-cholestérol acyltransférase), localisée dans RE
 - Transfert **acyl-CoA** sur cholestérol et donc estérification, (AG utilisé sous forme active). Cholestérol est alors stocké.
 - **LCAT** (Lécithine-cholestérol acyltransférase), circulant dans sang
 - Transfert **acylCoA de Lécithine sur cholestérol**, en intervenant en extracellulaire sur LP.
 - Action réversible grâce à **cholestérol estérase**.

II. BIOSYNTHÈSE

- ❑ Cellules nucléées équipées pour synthèse cholestérol (enzymes)
- Synthèse dans fraction microsomiale (réticulum endoplasmique) et cytosolique cellule.
- Synthèse très coûteuse en énergie
- Localisation
- ✓ Niveau hépatique
- ✓ Niveau intestinal.
- Régulation /apport alimentaire.

II. BIOSYNTHÈSE

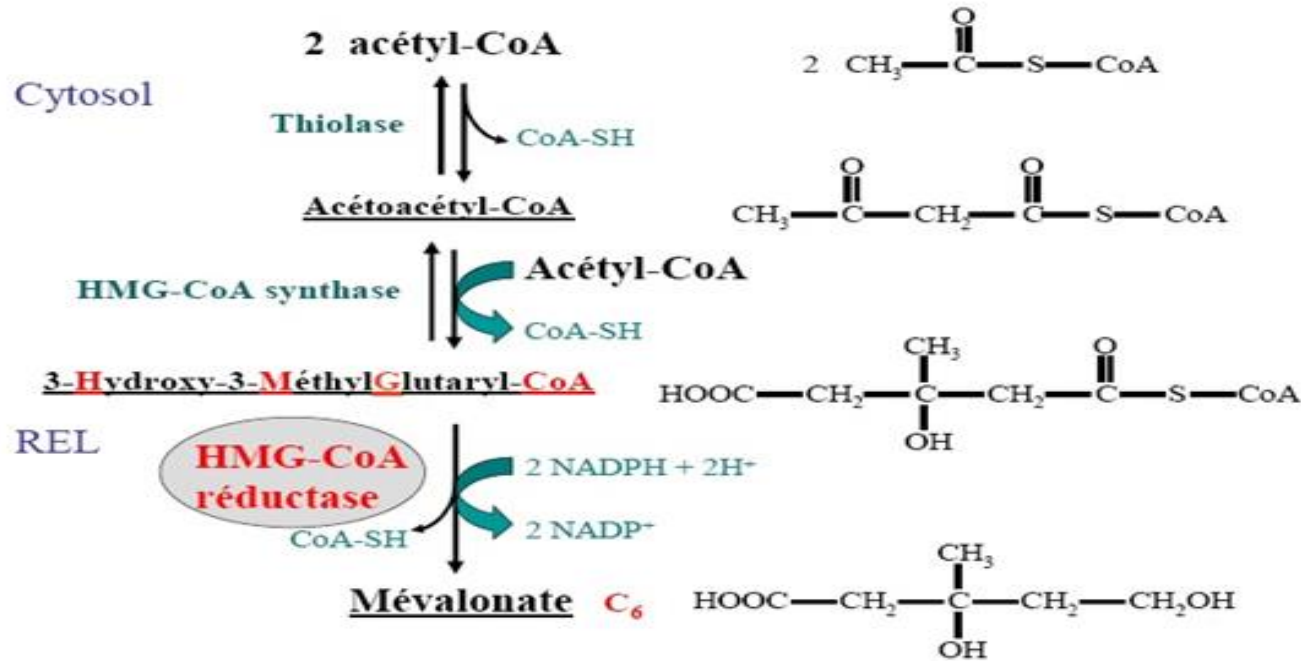
- ❑ Biosynthèse divisée en plusieurs étapes :
- Synthèse **Mévalonate**, composé à six atomes « C », à partir de acétyl-CoA
- Formation unités isopréniques à partir de mévalonate/perte CO_2 = **isopentényl-pyrophosphate**
- Condensation six unités isopréniques → intermédiaire = **Squalène**.
- Cyclisation squalène pour donner naissance au stéroïde = **Lanostérol**.
- Autres étapes ultérieures caractérisées/ perte de trois radicaux CH_3 -----> formation **Cholestérol** à partir de **Lanostérol**

II. BIOSYNTHÈSE

II. 1- Synthèse du mévalonate

- Acétyl-CoA -----> HMG-CoA, **Mévalonate**
- ❖ Voie HMG-CoA (3-hydroxy-3-méthylglutaryl-CoA) suit même séquence réactions que celles de synthèse corps cétoniques dans mitochondrie.
- ❖ Synthèse cholestérol extra-mitochondriale -----> deux voies séparées.
- ❖ Condensation 2 acétyl-CoA ----> acétoacétyl-CoA / action enzyme cytosolique = **Thiolase**.
- ❖ Foie: acétoacétate formé dans mitochondries (cétogenèse) diffuse dans cytoplasme puis activé en acétoacétyl-CoA / **acétoacétyl-CoA synthétase** + **ATP** et **CoA**.
- ❖ Acétoacétyl-CoA se condense avec acétyl-CoA → HMG-CoA, réaction catalysée/ **HMG-CoA synthase**.

II. BIOSYNTHÈSE

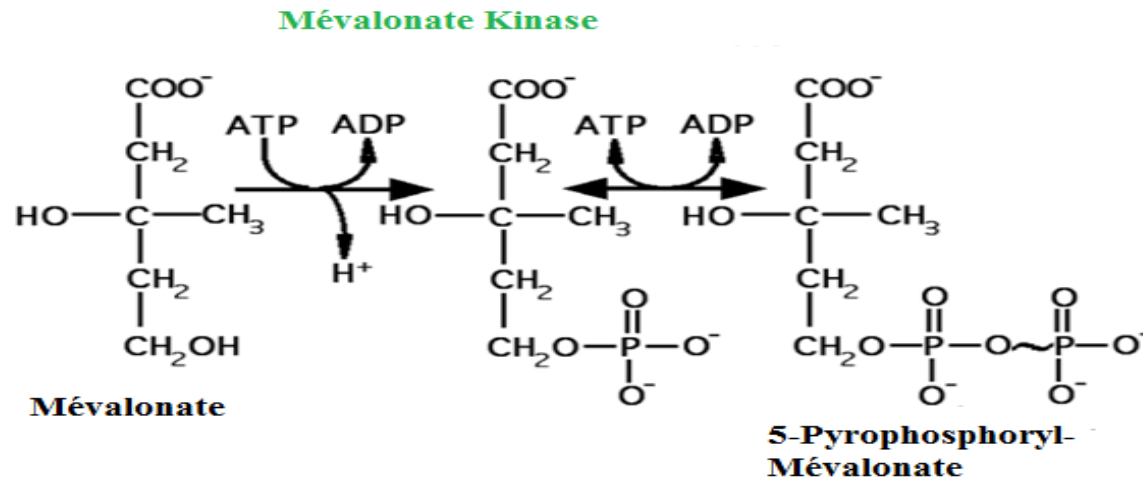


- ❖ HMG-CoA transformé en **Mévalonate** / réduction en 2 étapes en présence de NADPH et **HMG-CoA réductase**, enzyme microsomiale (= réaction limitante voie biosynthèse cholestérol)
- Enzyme = site d'action classes de médicaments très efficaces pour ↓ taux cholestérol, = inhibiteurs HMG-CoA réductase (**statines**)

II. BIOSYNTHÈSE

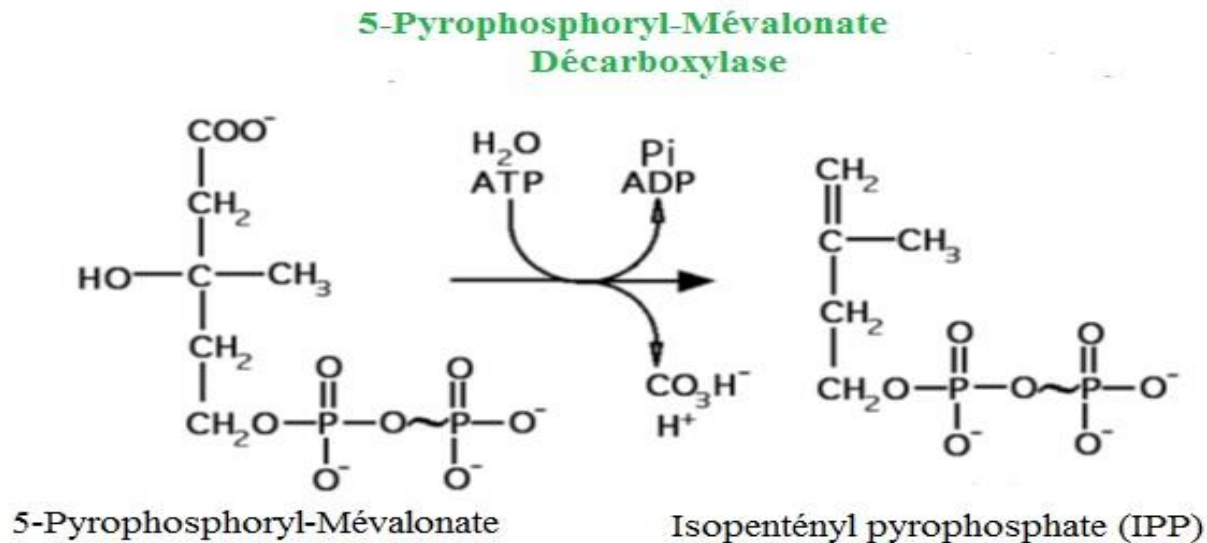
II.2. Formation de dérivé isoprénique actif = **isopentényl-pyrophosphate**

- **Mévalonate** / phosphorylation → unités isopréniques actives + formation intermédiaires phosphorylés actifs.



II. BIOSYNTHÈSE

- Décarboxylation, unité isoprénique active → **isopentényl-pyrophosphate (IPP)**, ou isopentényldiphosphate.

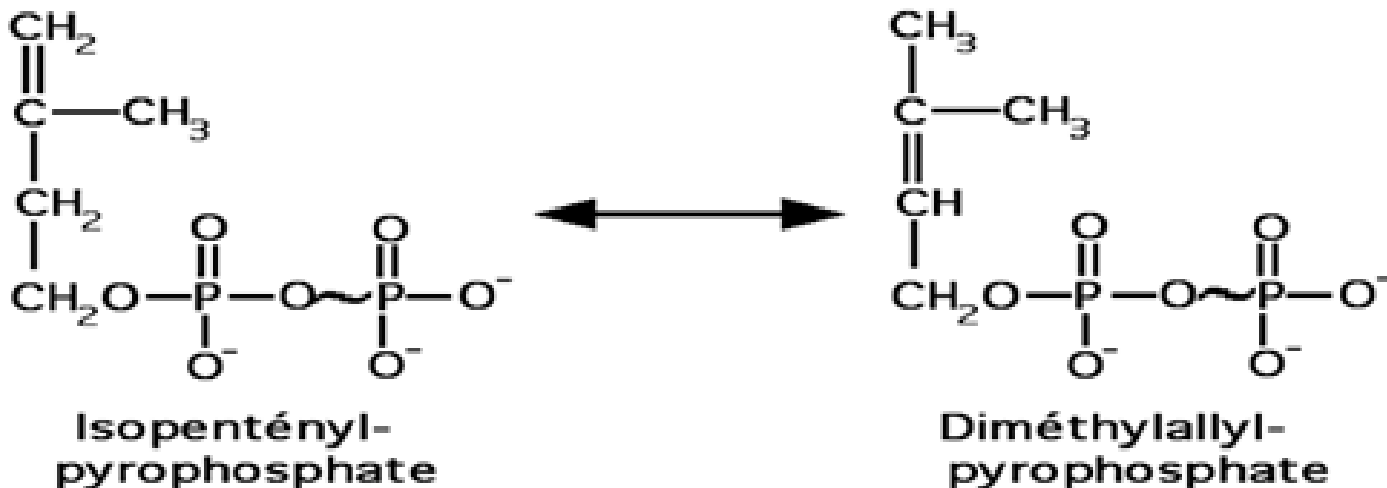


II. BIOSYNTHÈSE

II.3. Formation de Squalène

- Etape franchie via isomérisation isopenténylpyrophosphate / déplacement double liaison et formation de **diméthylallyl pyrophosphate**

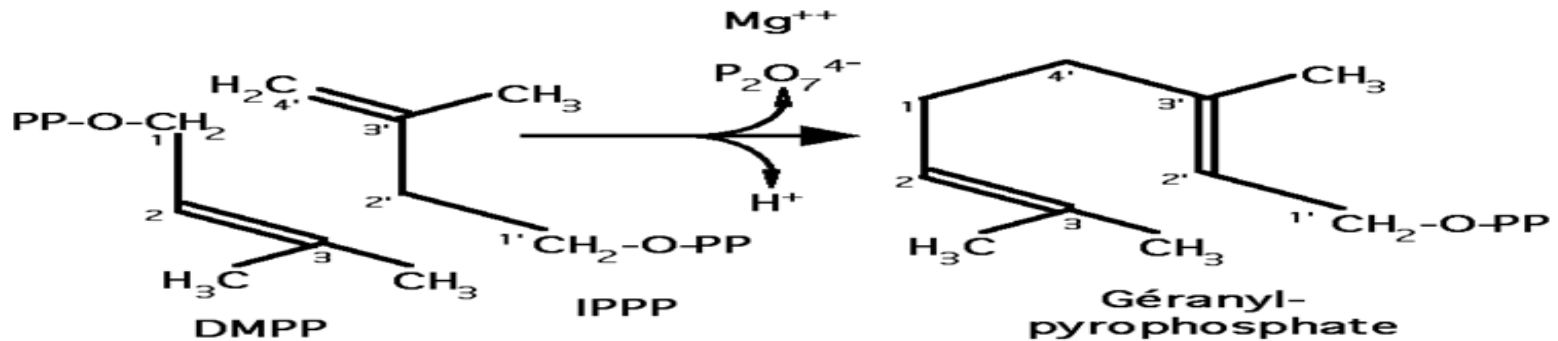
Isopentényl-pyrophosphate Isomérase



II. BIOSYNTHÈSE

- Condensation Diméthylallyl pyrophosphate avec isopenténylpyrophosphate → formation intermédiaire à 10 « C », **Géranyl pyrophosphate**
- Enzyme = **Cis-Prényl transférase ou Farnésyl-pyrophosphate synthase (I)**

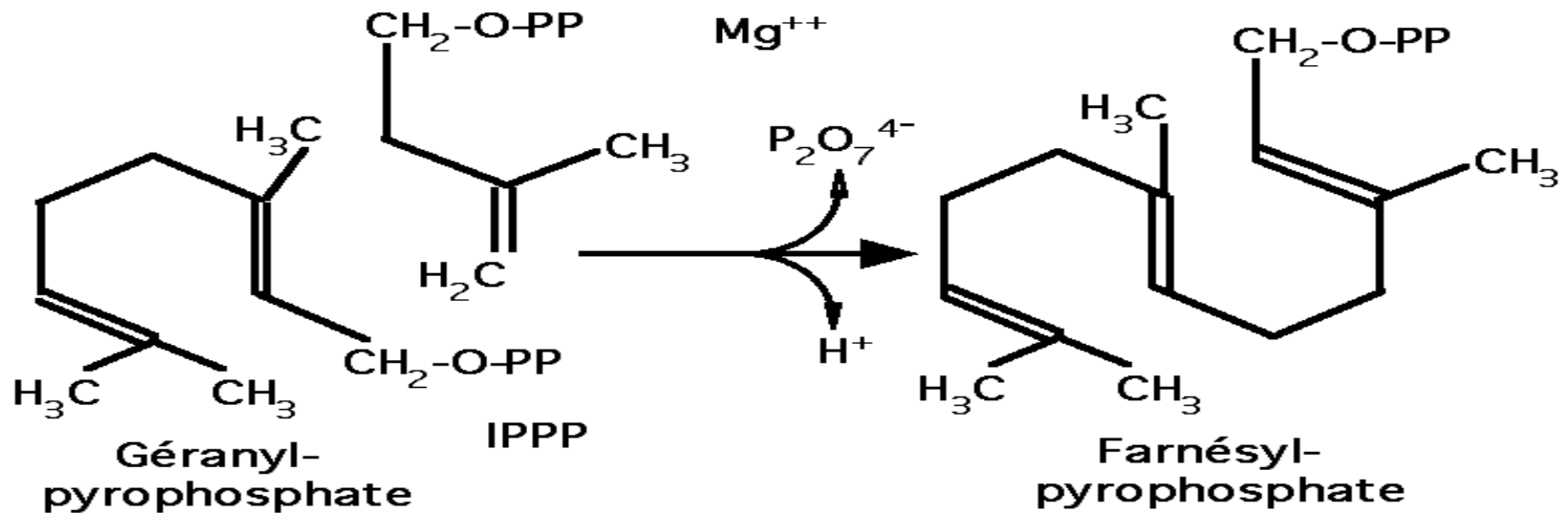
Farnésyl-pyrophosphate synthase (I)



II. BIOSYNTHÈSE

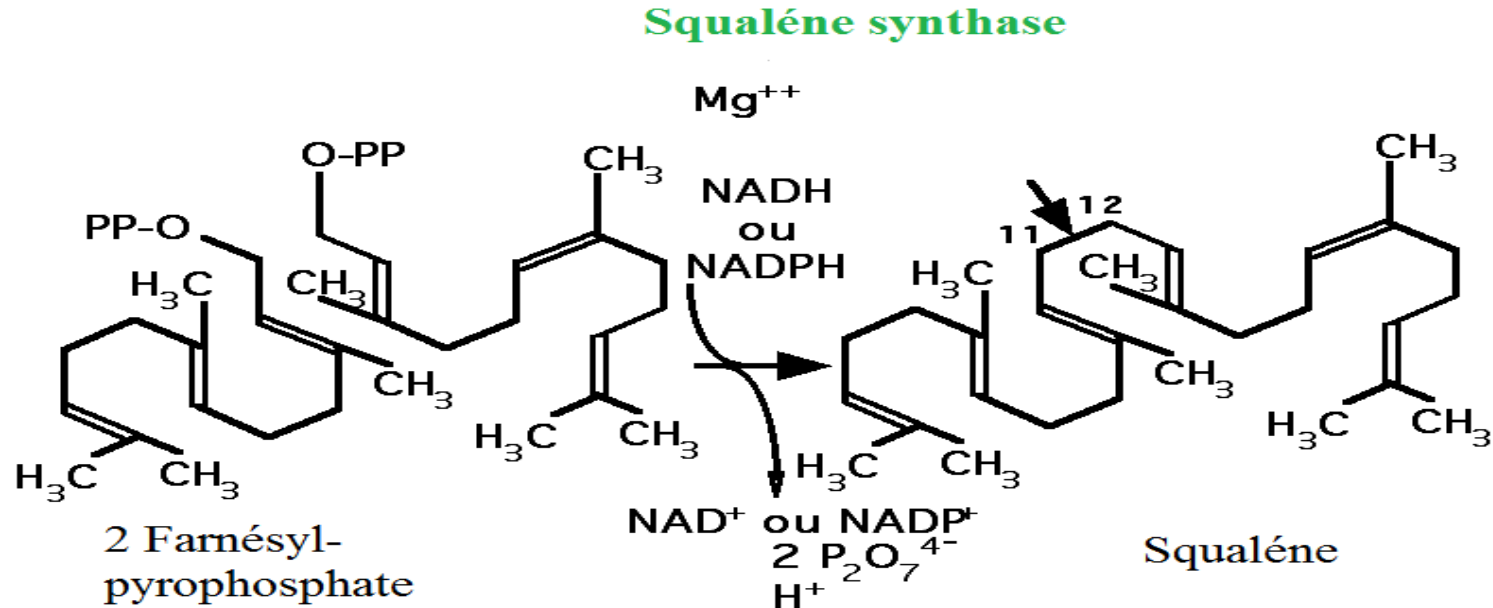
- Condensation géranyl-pyrophosphate avec isopenténylpyrophosphate → **farnésylpyrophosphate**

Farnésyl-pyrophosphate Synthase (II)



II. BIOSYNTHÈSE

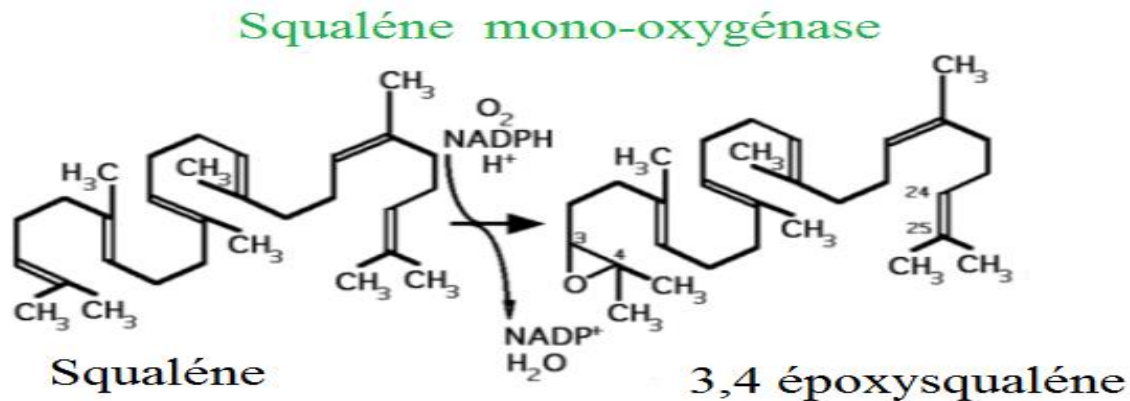
- Condensation deux farnésylpyrophosphate en joignant leur extrémité pyrophosphate →
- Éliminat° pyrophosphate avec formation pré-squalène pyrophosphate, suivie/éliminat° radical phosphorylé restant -----> **Squalène**



II. BIOSYNTHÈSE

II.4. Formation de Lanostérol

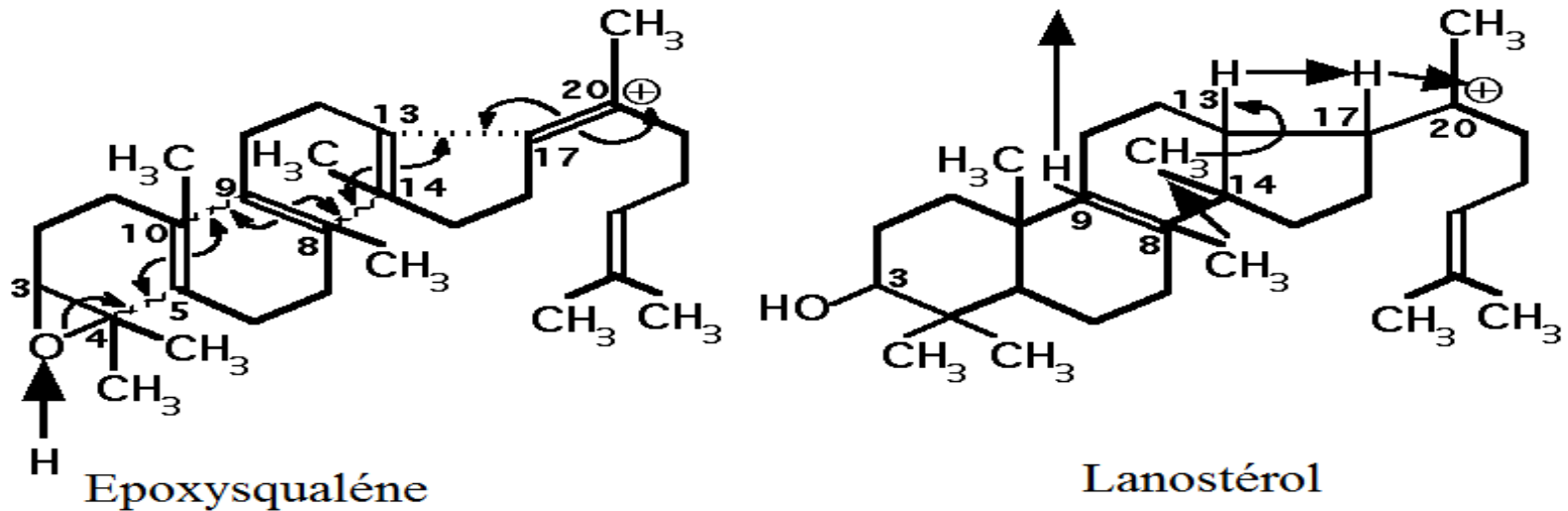
- Fermeture cycles, précédée de transformation squalène en **époxy squalène**/ **squalène époxydase = squalène mono-oxygénase =** oxydase à fonction mixte du RE.



II. BIOSYNTHESE

- Cyclisation catalysée/ **oxydosqualène = Epoxysqualène lanostérol cyclase**, au cours de laquelle groupement **CH₃** de C₁₄ va se fixer sur C₁₃, et celui du C₈, sur C₁₄

Epoxysqualène lanostérol cyclase



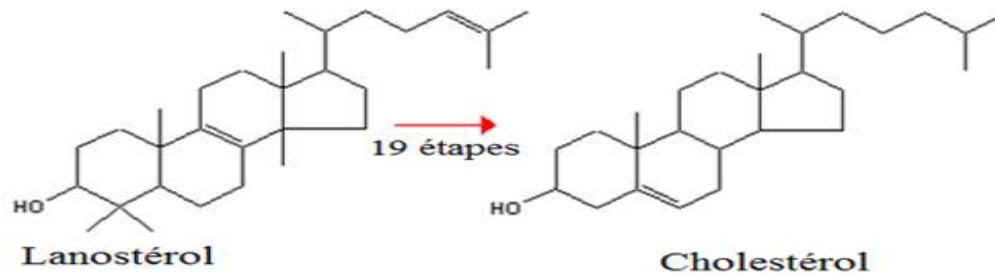
II. BIOSYNTHÈSE

II.5. Formation cholestérol

- Site: membranes réticulum endoplasmique,
- Réactions → modifications noyau stéroïde et chaîne latérale.
- ✓ Groupement CH_3 de C_{14} oxydé en CO_2 pour → 14-desméthyl lanostérol.
- ✓ Perte 2 groupements CH_3 fixés sur C_4 → **zymostérol**.
- ✓ Migration double liaison entre C_8 et C_9 vers position C_8 et C_7 transforme zymostérol en $\Delta^{7,24}$ -cholestadiénol.
- ✓ Déplacement supplémentaire double liaison du cycle B entre C_5 et C_6 comme dans cholestérol → **Desmostérol**.

II. BIOSYNTHÈSE

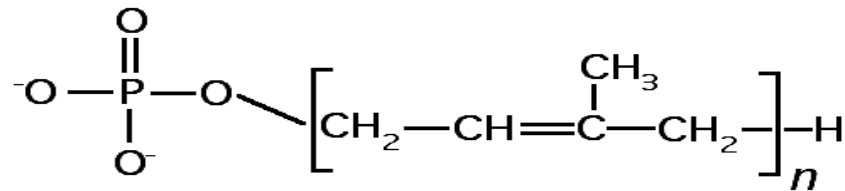
- ✓ Formation cholestérol consécutive réduction double liaison chaine latérale.
- ✓ Ordre exact déroulement étapes pas connu avec certitude.
- ✓ Intermédiaires entre squalène et cholestérol seraient attachés à protéine transporteuse spéciale.



II. BIOSYNTHÈSE

- ❑ Farnésylpyrophosphate = point de branchements dans voie synthèse autres polyisoprénoides = **dolichol** et **ubiquinone**.
- Alcool polyisoprénique, **dolichol** formé postérieurement/addition isopentényl pyrophosphate

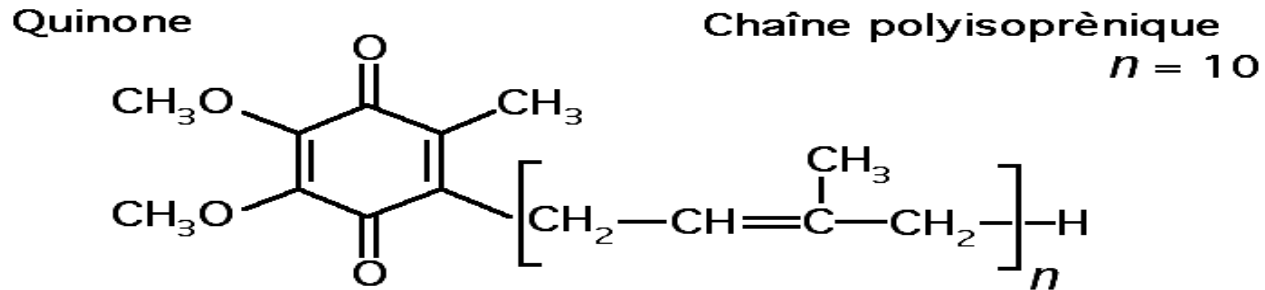
Chaîne polyisoprénique
 $n = 17$



Dolichol-phosphates

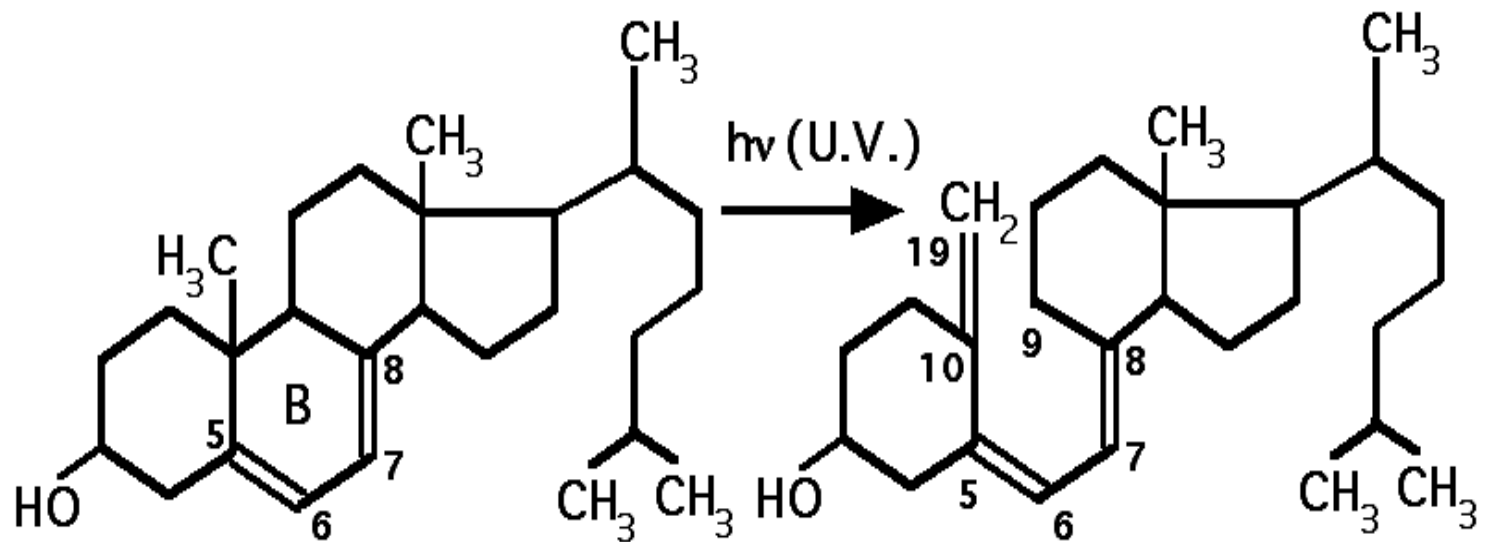
II. BIOSYNTHÈSE

- **Ubiquinone**: chaîne latérale est formée/addition de trois à sept unités isopréniques supplémentaires.



Coenzyme Q₁₀ = Ubiquinone₅₀

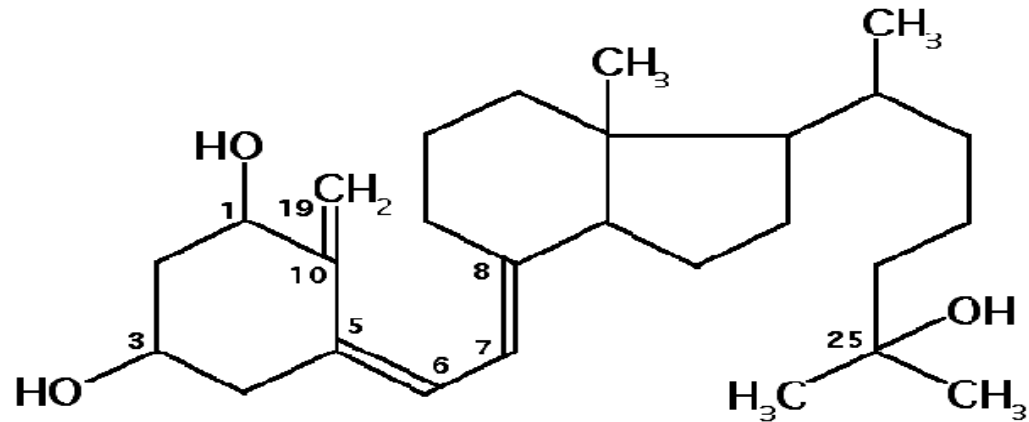
II. BIOSYNTHESE



7-déhydrocholestérol

Cholécalciférol
(vitamine D₃)

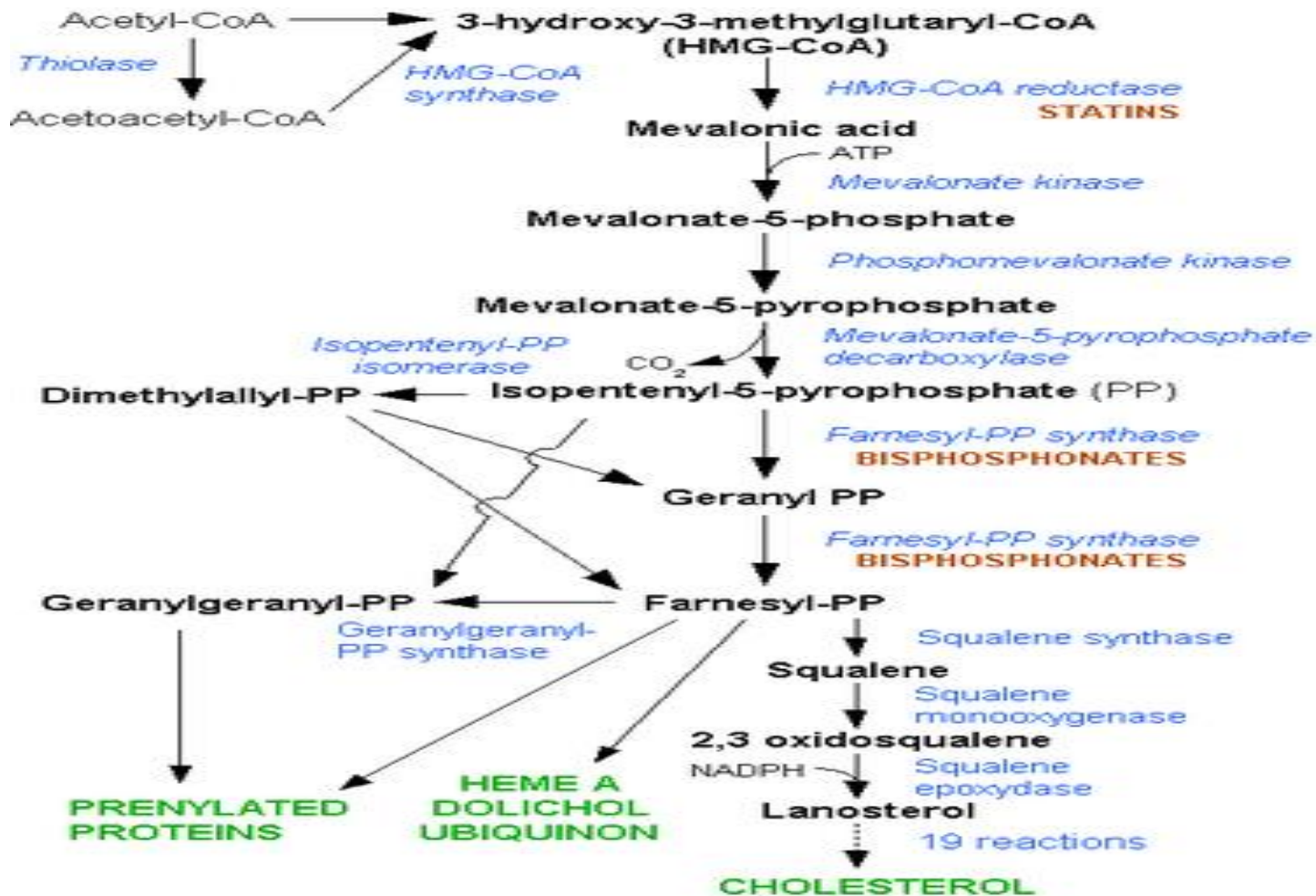
II. BIOSYNTHESE



Calcitriol

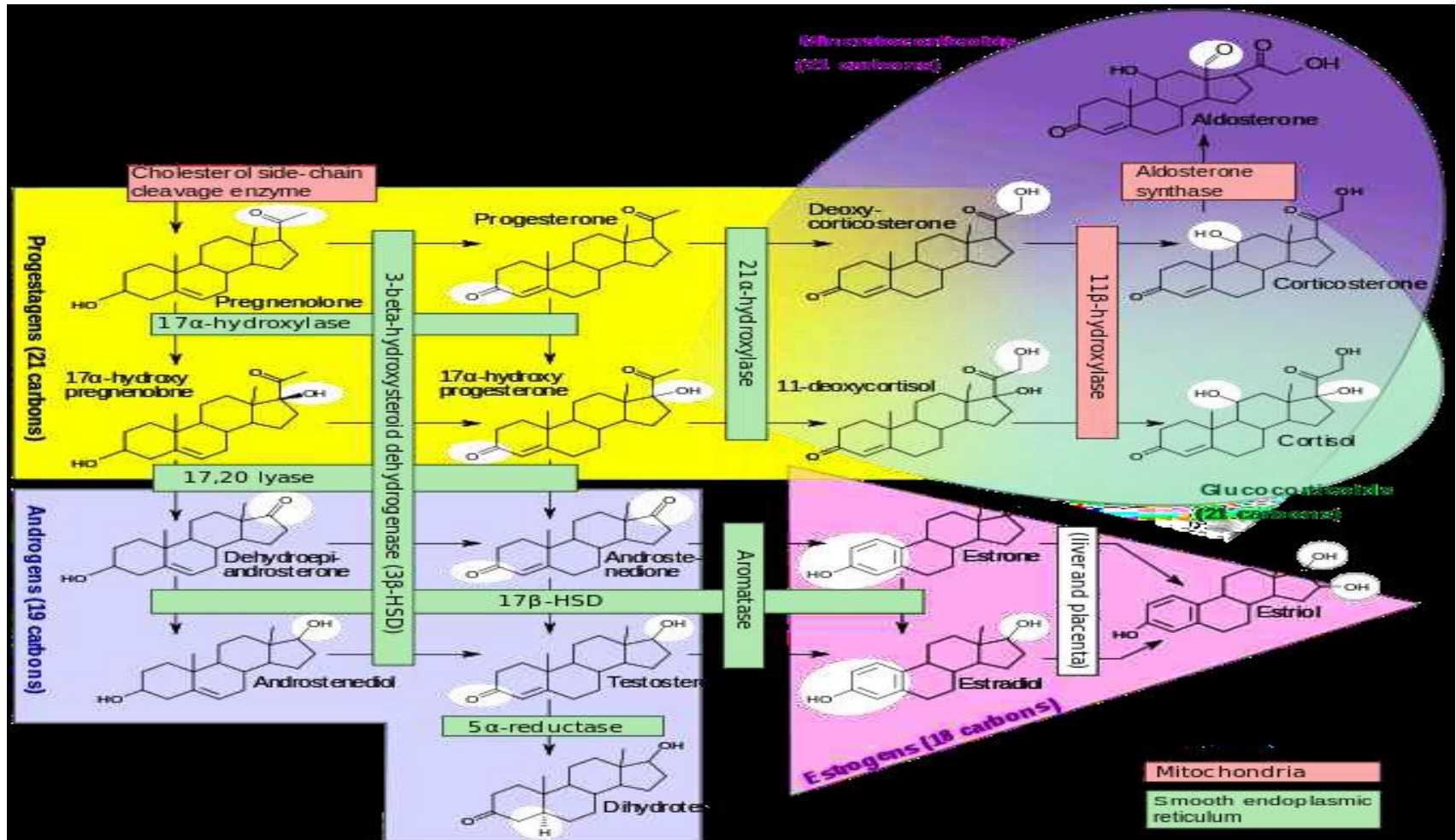
(1, 25 diOH-vitamine D₃)

II. BIOSYNTÈSE



II. BIOSYNTHESE

Biosynthèse des hormones stéroïdes



II. BIOSYNTHÈSE

II.6. REGULATION DE LA BIOSYNTHESE

□ Régulation à court terme

➤ **HMG-CoA réductase** subit deux types de régulation :

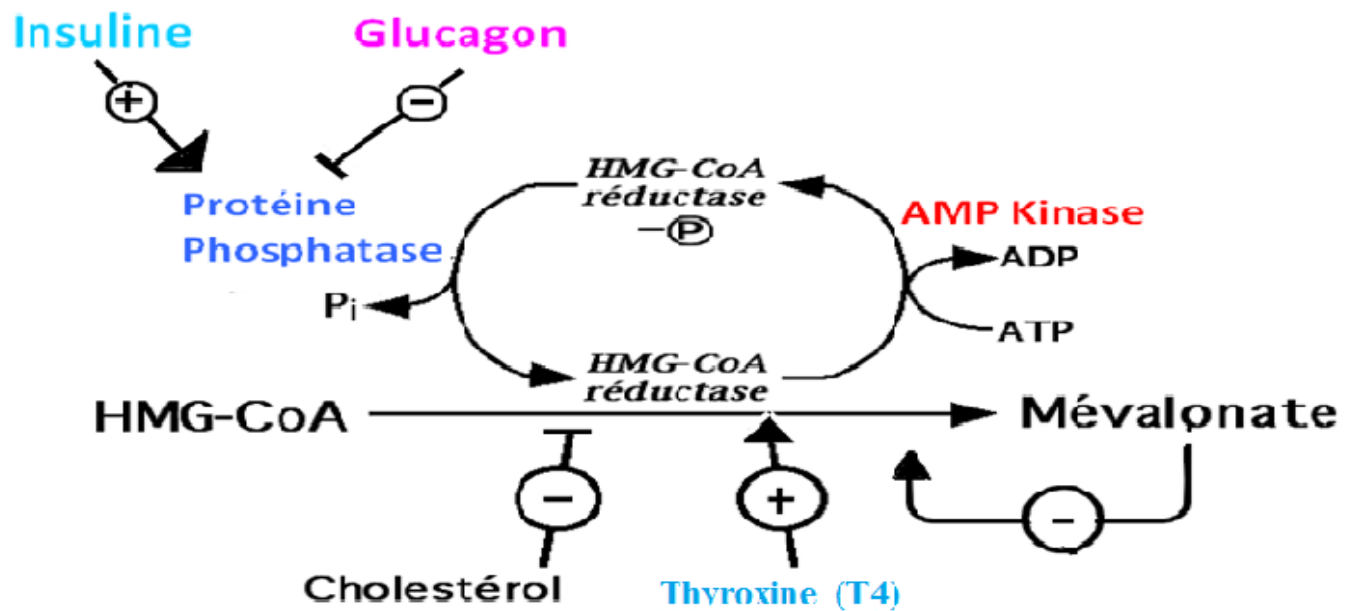
✓ Mécanisme/retroinhibition au niveau HMG-CoA réductase hépatique :

- Mévalonate = produit immédiat
- Cholestérol = produit essentiel voie biosynthèse.

✓ Mécanisme phosphorylation/ modification covalente

- enzyme inactive sous forme phosphorylée.

II. BIOSYNTHÈSE



II. BIOSYNTHÈSE

□ Régulation à long terme

➤ Cellule en périphérie, action cholestérol au niveau

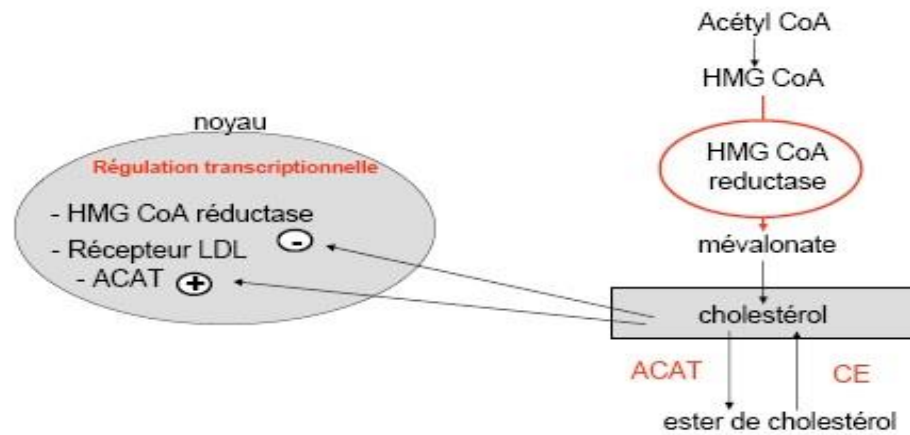
✓ **Transcriptionnel** : gènes impliqués dans métabolisme cholestérol

▪ ↓**tion** expression HMG-CoA réductase.

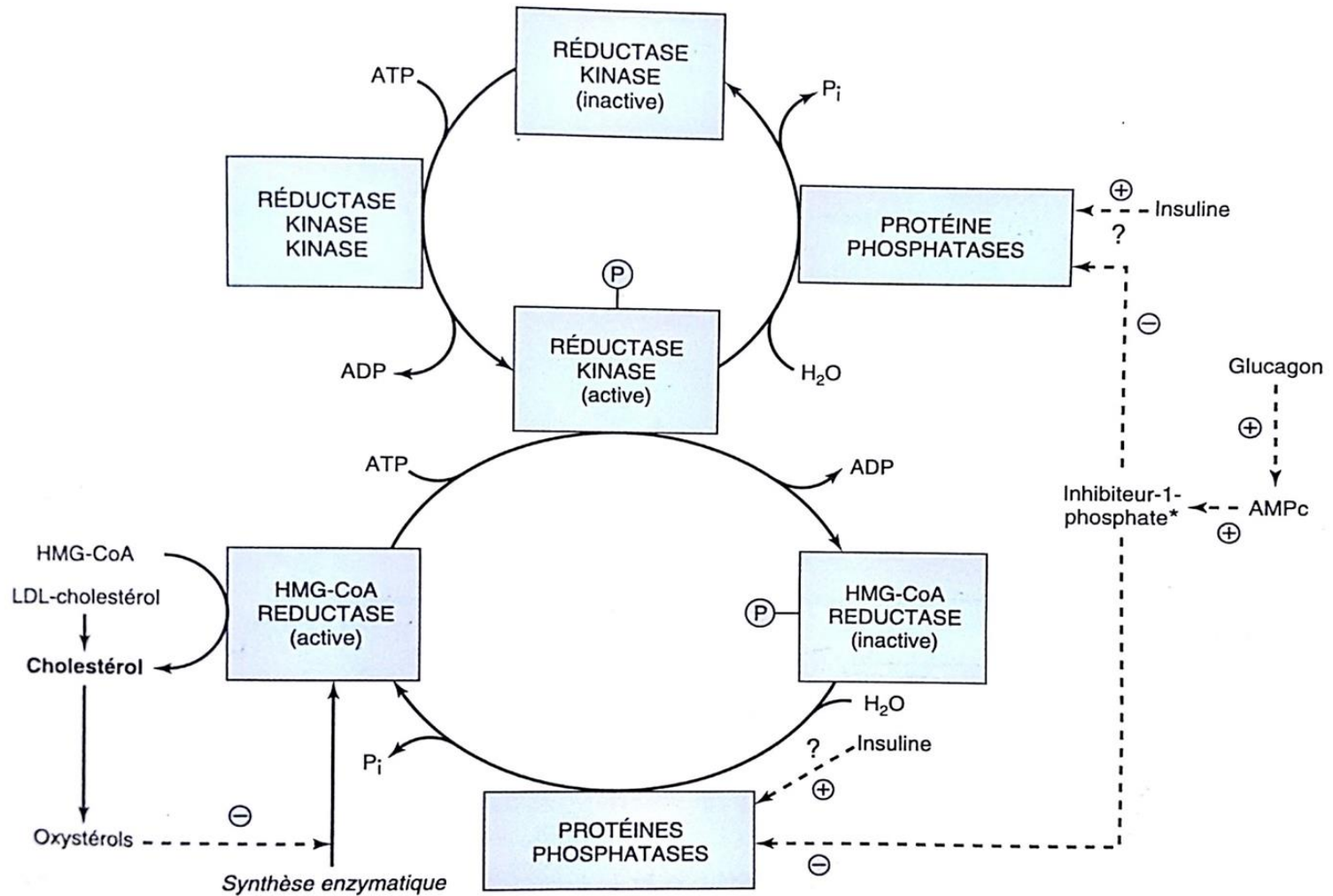
▪ ↓**tion** expression récepteur LDL.

▪ ↑**tion** synthèse ACAT → constitution réserves/estérification

II. BIOSYNTHESE



II. BIOSYNTHESE



II. BIOSYNTHÈSE

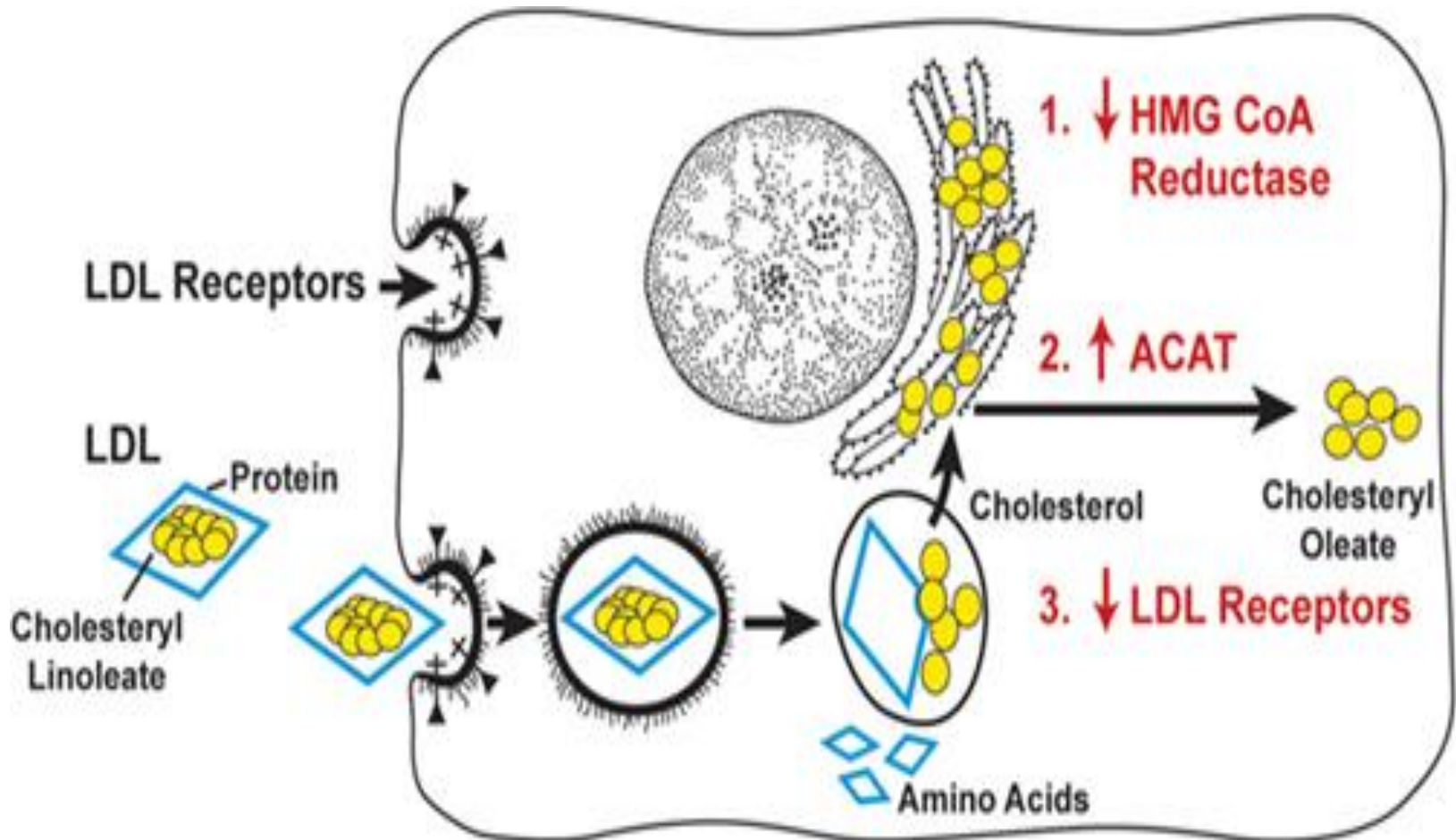
- ❑ Synthèse cholestérol inhibée/ LDL-cholestérol capturées via **récepteurs LDL**.
- Récepteurs LDL (apo B-100, E)
- ✓ Localisation: surface cellule, dans puits recouverts coté cytosolique/ protéine = clathrine
- ✓ Récepteur = glycoprotéine transmembranaire, région se liant à récepteur B-100 étant exposée du coté amino-terminal.
- LDL intactes capturées/ **endocytose**, après liaison à récepteurs.
- LDL dégradées dans **lysosomes** → hydrolyse apoprotéine et esters cholestérol, suivie/ transfert cholestérol dans cellule.

II. BIOSYNTHÈSE

- ❑ Influx cholestérol dans cellule:
- Inhibition coordonnée HMG-CoA réductase et synthèse cholestérol
- Stimulation activité ACAT
- Régulation négative synthèse récepteurs LDL.
- Nombre récepteurs LDL, à surface cellulaire régulé:
 - ✓ Besoin en cholestérol membranes
 - ✓ Synthèse hormones stéroïdiennes ou acides biliaires.
- Influx cholestérol dans cellule exercerait contrôle /diminution nombre récepteurs LDL « **down-regulation** »

Prix Nobel de médecine et physiologie (J. Goldstein et M. Brown- 1985)

II. BIOSYNTHESE



LDL Binding → Internalization → Lysosomal Hydrolysis → Regulatory Actions

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ❑ [C°] totale cholestérol plasmatique $\approx 5,2$ mmol/L, taux \uparrow avec âge
- ❑ Cholestérol transporté/ lipoprotéines plasmatiques entre différents tissus
- Proportion de cholestérol la + importante sous forme estérifiée.
- ✓ **Proportion + élevée sous forme de LDL.**
- ✓ Proportion accrue cholestérol plasmatique dans VLDL, si VLDL prédominantes.
- Cholestérol ingéré:
- ✓ Equilibre dans plasma: plusieurs jours
- ✓ Equilibre avec cholestérol tissus: plusieurs semaines.

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ✓ Cholestérol plasmatique et hépatique s'équilibrent en qqes heures suite:
- Echanges et transfert (cholestérol) entre membranes cellulaires, LP plasmatiques et membranes érythrocytes.
- Cholestérol apporté/alimentation absorbé en partie
- **Entérocytes:**
- ✓ Mélange fractions absorbée et synthétisée (70% synthèse endogène/ entérocytes)
- ✓ 80 à 90% cholestérol absorbé, estérifiés/ AG longue chaine (muqueuse intestinale).
- ✓ Incorporation cholestérol **CL** et **CE** dans **CM** (synthétisés dans entérocytes)
- ✓ Action **Lipoprotéine Lipase (LPL)** sur **CM** ----->
- ✓ Formation **Remnants chylomicrons**, (perte \approx 5% CE).

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ✓ Cholestérol ramené au foie/ **remnants de CM**
- ✓ Reste CE capté/ foie quand résidus CM réagissent avec apo E ou récepteur LDL puis sont hydrolysés en CL.
- **Hépatocytes:**
 - ✓ Utilisation cholestérol pour formation **VLDL**
 - ✓ VLDL formées dans foie transportent cholestérol dans plasma.
 - ✓ VLDL subissent nombreuses transformations dans plasma →
IDL = remnants de VLDL

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ✓ Cholestérol de **remnants VLDL** (IDL)
- IDL capturés / foie ou transformés en **LDL**
- LDL capturées/ récepteurs LDL (foie et tissus extra-hépatiques)
- ✓ **LDL chargées d'acheminer le cholestérol vers les tissus**
- **Tissus périphériques et foie**
- ✓ **Excès cholestérol (non utilisé), estérifié/LCAT, ramené vers foie/ HDL**
- ✓ LCAT responsable formation essentiel CE plasmatique
- ✓ Activité LCAT associée aux LP contenant Apo A₁
- **ApoA₁ = activateur LCAT**

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ✓ Estérfication cholestérol des HDL → création gradient $[C^{\circ}]$ et drainage cholestérol tissus et autres LP
- ✓ HDL naissantes = **HDL3** de forme **discoïdale**
- ✓ HDL ayant fixé cholestérol niveau tissus périphériques = **HDL2** de forme **sphérique**
- ✓ HDL₂ livrerait du cholestérol au foie
- ✓ **HDL participent au transport inverse cholestérol, des tissus vers le foie et facilitent ensemble métabolisme LP (VLDL et LDL)**
- ✓ Cholestérol ramené au foie est éliminé dans bile en partie, transformé en **acides biliaires** excrétés vers intestin

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

- ❑ **Protéine de transfert CE (CETP)** : facilite transfert CE de HDL vers autres LP (VLDL, IDL, LDL)
- CETP → transfère TG dans la direction opposée.
- Homme: grande partie CE formés/LCAT dans HDL.
- HDL₂ enrichie en TG, décharge CE dans foie après réaction avec **lipase hépatique** → recyclage sous forme de HDL₃.
- **Protéine de transfert phospholipides (PL)** également identifiée.
- **ABC A1** = ATP Binding Cassette Transporter A1 = récepteurs à la surface cellules périphériques
- ✓ Interactions entre HDL et récepteurs → extraction cholestérol en excès au niveau des cellules

III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL

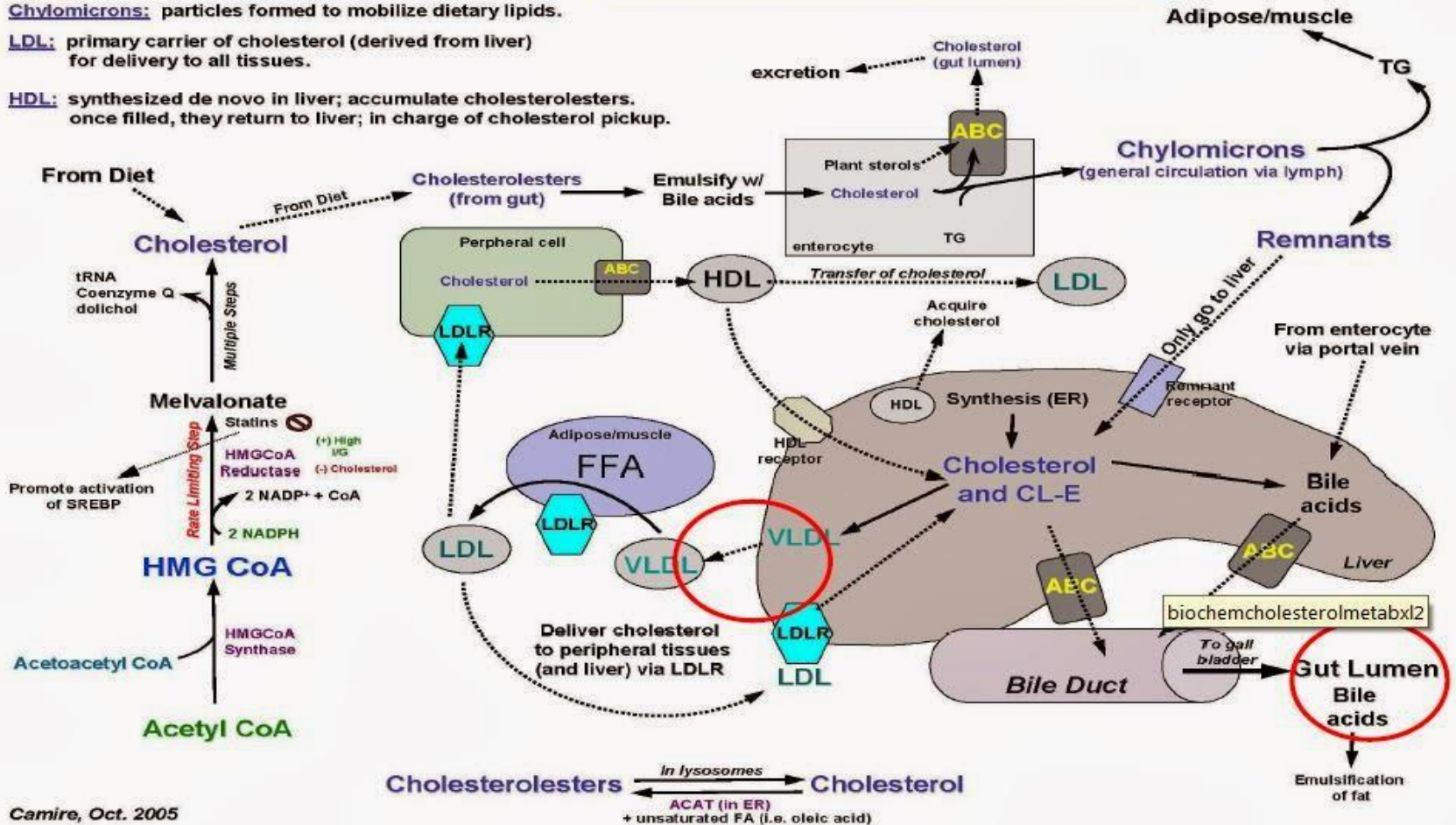
VLDL: particles formed to transport *endogenously* derived TG/CL to extra-hepatic tissues.

Chylomicrons: particles formed to mobilize dietary lipids.

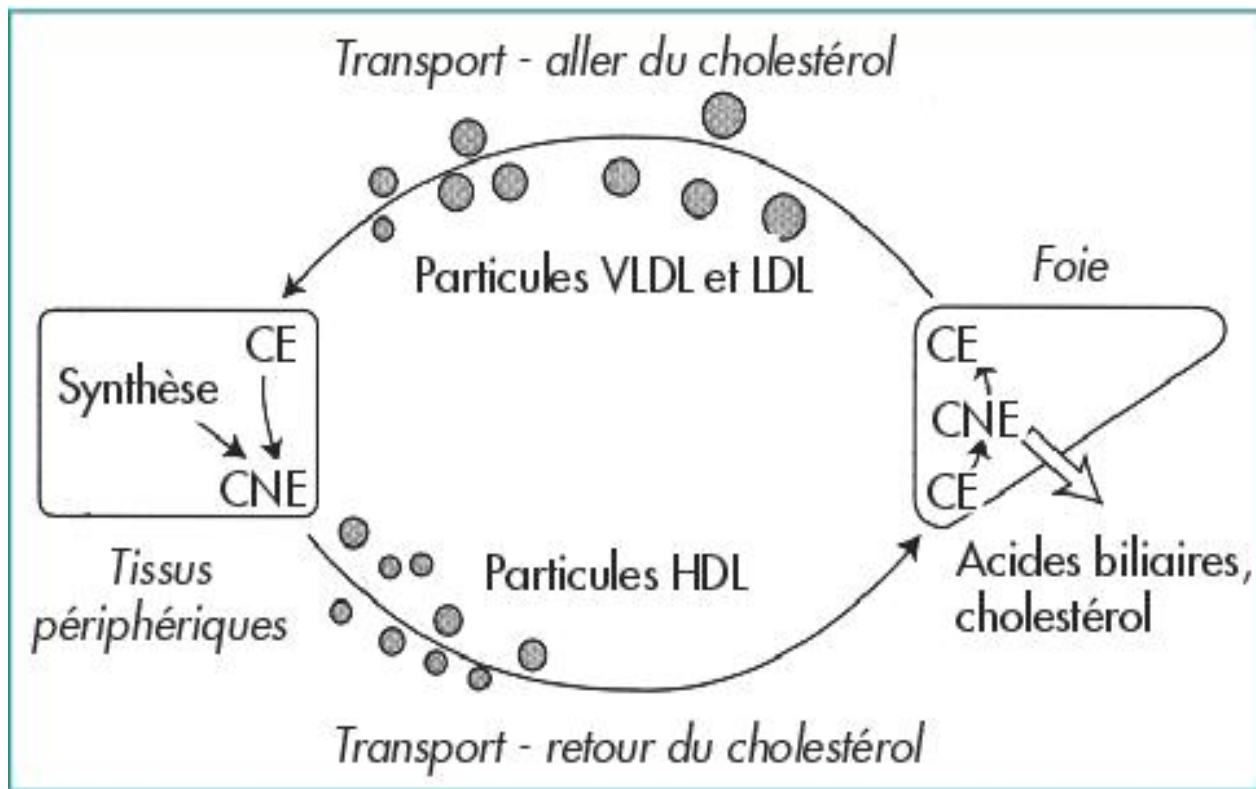
LDL: primary carrier of cholesterol (derived from liver) for delivery to all tissues.

HDL: synthesized de novo in liver; accumulate cholesterol esters. once filled, they return to liver; in charge of cholesterol pickup.

Cholesterol Metabolism #2



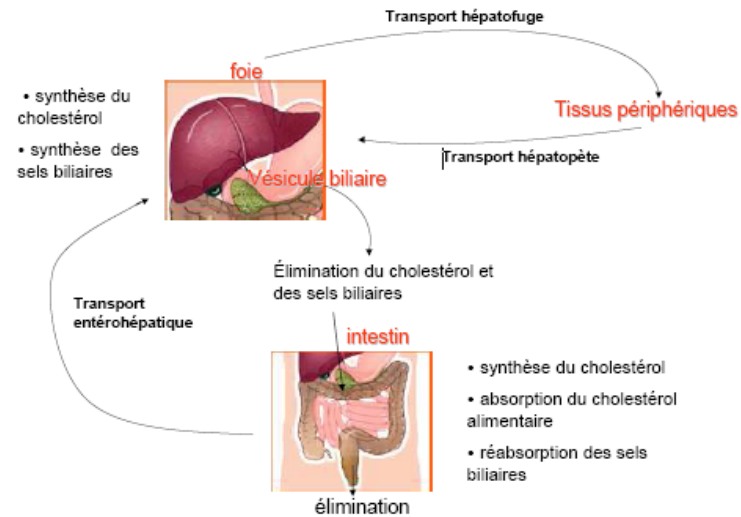
III. TRANSPORT DU CHOLESTEROL



IV.CATABOLISME ET ELIMINATION

- ❑ Entrée cholestérol dans foie, excrétion dans bile sous forme de cholestérol ou acides ou sels biliaires
- Excrétion moitié cholestérol dans fèces, après conversion en sels biliaires
- Excrétion reste excrété sous forme de cholestérol.
- Grande partie cholestérol secrété dans bile, réabsorbée.
- Grande proportion sels biliaires excrétés, réabsorbée dans circulation porte, capturée /foie, et excrétée dans bile = **circulation entéro-hépatique.**
- Sels biliaires non réabsorbés sont éliminés dans fèces.

III. CATABOLISME ET ELIMINATION



IV.CATABOLISME ET ELIMINATION

❑ Formation Acides biliaires

➤ Acides biliaires primaires

✓ Synthétisés dans foie à partir de cholestérol:

- **Acide cholique** (+ abondant)
- **Acide chénodésoxycholique**,

✓ 7α -hydroxylation cholestérol = réaction limitante biosynthèse ac biliaires.

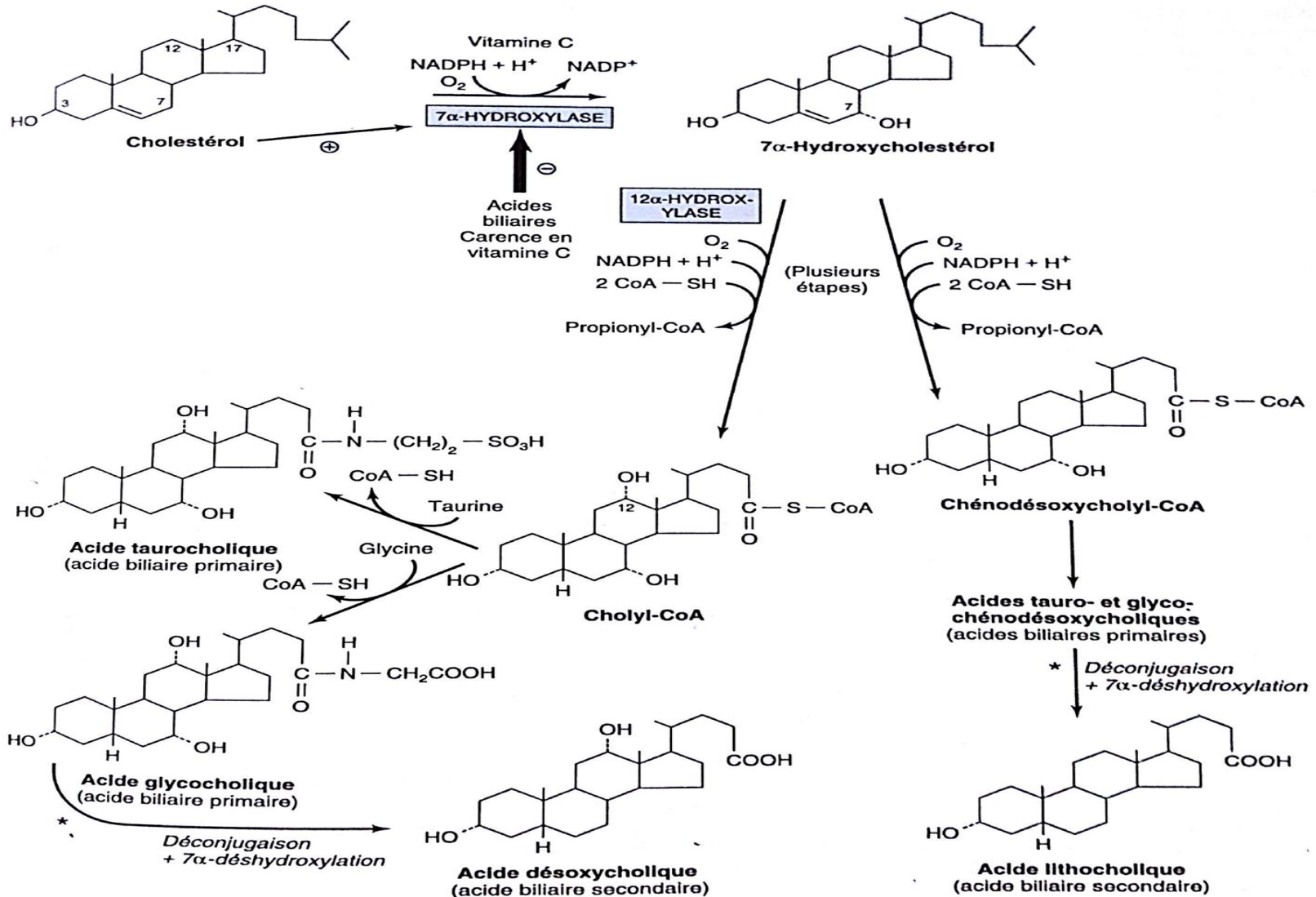
✓ Réaction catalysée/enzyme microsomiale = **7α -hydroxylase** = mono-oxygénase nécessitant O_2 , NADPH et cytochrome P-450 .

✓ Etapes suivantes hydroxylation catalysées / **monooxygénases**.

IV.CATABOLISME ET ELIMINATION

- ✓ **Vit C** stimule formation ac biliaries (7α -hydroxylation)
- Déficit Vit C → athérosclérose chez cobayes atteints de scorbut
- ✓ Ac biliaries primaires entrent dans bile sous forme conjuguée à
 - **Glycine**
 - **Taurine.**
- **Formation acides biliaries secondaires**
- ✓ Déconjugaison et 7α -déshydroxylation → acides biliaries secondaires
 - Acide désoxycholique à partir de acide cholique
 - Acide lithocholique à partir de acide chénodésoxycholique
- ❖ Etape limitante biosynthèse ac biliaries = réact° catalysée/ 7α -hydroxylase,
- ❖ Etape limitante biosynthèse cholestérol = réact° catalysée/ HMG-CoA réductase

IV. CATABOLISME ET ELIMINATION



IV.CATABOLISME ET ELIMINATION

- ❖ 7α -hydroxylase idem HMG-CoA réductase: contrôle/ modification covalente
- ❖ HMG-CoA réductase, **forme active 7α -hydroxylase = forme phosphorylée.**
- ❖ Catabolisme cholestérol contrôlé par:
 - **7α hydroxylase**, enzyme-clé formation acides biliaires
 - Taux réabsorption sels biliaires/cycle entéro-hépatique.
- Excrétion sels de bile vers intestin/ pompe (*bile salts export pump*).
- Sels = cofacteurs indispensables action lipase pancréatique (digestion lipides dans duodénum et jéjunum).
- **Ac. biliaires Iaires et Iaires:**
- ✓ Réabsorption dans iléon /cotransporteur spécifique Na et ac biliaires (*ileal sodium-dependant bile salts transporter*)
- ✓ Transport / veine porte vers foie.

IV.CATABOLISME ET ELIMINATION

- Petite partie acides biliaires traverse foie puis excrétée dans urines.
- Recaptation acides biliaires/ foie (*sodium taurocholate cotransporting polypeptide*)
- ✓ Reconjugaison comme acides biliaires primaires, sauf ac lithocholique = sulfoconjugué.
- Sels biliaires Iaires et IIaires qui en sont issus, excrétés à nouveau dans bile = **Cycle entéro-hépatique**
- Intestin: déconjugaison acides biliaires Iaires et IIaires, puis excrétion dans fèces.
- Sulfolithocholate ni déconjugué, ni réabsorbé, donc obligatoirement excrété.

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

❑ Détermination cholestérol total

- Grand nombre de méthodes.
- Description méthode enzymatique (1972) → utilisation/ plupart laboratoires à la place méthodes colorimétriques.
- Méthodes chromatographiques considérées = méthodes utilisées pour contrôle exactitude déterminations cholestérol.
- **Conditions de prélèvement**
 - ✓ Sujet après jeûne strict de 12 h
 - ✓ Sérum (tube sec)
 - ✓ Bilan répété 1 à 3 fois, à un mois d'intervalle en cas d'anomalie

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

□ Méthodes de dosage

➤ Méthodes colorimétriques

✓ Utilisation deux réactions colorées :

- ❖ Réaction de Liebermann-Burchard : développement coloration verte en présence de anhydride acétique et de H_2SO_4
- ❖ Réaction de Zak, dérivée de réaction de Tschugaeff : développement coloration rouge en présence acide acétique + chlorure ferrique + acide sulfurique.

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

➤ Méthodes enzymatiques

- ✓ Méthode utilisant système estérase/oxydase/peroxydase

Estérase



Oxydase



Peroxydase

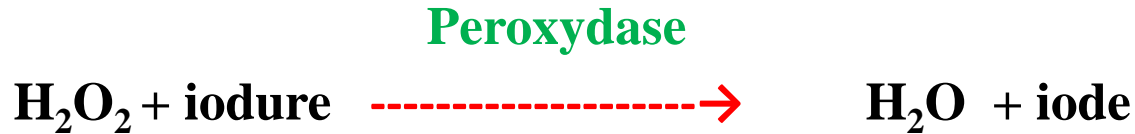


V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

- ✓ Quantification effectuée / réaction de Trinder à 500 nm
- ✓ Coloration rose dont intensité % quantité cholestérol présente dans échantillon
- ✓ Résultats très proches de ceux fournis / CPG (méthode de référence)

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

- ✓ Méthode utilisant estérase/oxydase/peroxydase en présence de iodure



- ✓ Méthode utilisant la catalase également employée
- **Chromatographie en phase gazeuse couplée à spectrométrie de masse**
- ✓ Technique de référence
- Après dilution isotopique, échantillon sérique est passé sur chromatographie en phase gazeuse suivi d'une mesure par spectrométrie de masse

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

➤ Valeurs usuelles et variations physiologiques

- ✓ Concentration plasmatique varie en fonction âge.
- Cholestérol ↑ progressivement dans plasma avec âge pour atteindre maximum vers 60 ans et décroître ensuite très légèrement.
- ✓ Variations en fonction sexe.
- [C°] plasmatique femme en période activité génitale < activité homme même âge, mais tend à le rejoindre ensuite.

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

- ✓ Valeurs délimitant hypercholestérolémie arbitraires.
- But préventif, limite supérieure [C°] plasmatique cholestérol fixée à deux écart-types au dessus moyenne de la population pour chaque groupe d'âge.
- Population dite saine dans pays industrialisés souvent considérée comme anormale du point de vue de incidence de la maladie coronarienne.
- Réunions de consensus -----> adoption limites suivantes (adulte) :

Age (ans)	risque modéré	risque élevé
- 20-29	5,17 mmol/l (2,0g /l)	5,69 mmol/l (2,2g/l)
- 30-39	5,69 mmol/l (2,2g/l)	6,21 mmol/l (2,4g/l)
- 40 et plus	6,21 mmol/l (2,4g/l)	6,72 mmol/l (2,6g/l)

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

❑ Détermination cholestérol-HDL

➤ Centrifugation sélective LP légères (VLDL, LDL)

✓ Agents précipitants

▪ Phosphotungstate / Mg^{2+}

▪ Héparine/ Ca^{2+}

▪ Sulfate de dextrane / Ca^{2+}

✓ Dosage surnageant/méthode utilisant estérase/oxydase/peroxydase

✓ Méthodes très utilisées, malgré limites

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

- Méthode dosage direct
- ✓ Utilisation 2 réactifs
 - Réactif R1, masque accessibilité LP contenant apo B (CM,VLDL,LDL) au réactif de dosage:
 - Sulfate d'alpha-cyclodextrine
 - Polyanions détergents
 - Anticorps anti- β lipoprotéines
 - Réactif R2 = réactif de dosage
 - Méthodes + en + recommandées

V. DÉTERMINATION DU CHOLESTÉROL

➤ Valeurs usuelles

- ✓ Homme: > 0,45 g/L
- ✓ Femme: > 0,50 g/L

☐ Détermination Cholestérol-LDL

➤ Formule de Friedewald

$$\text{C-LDL} = \text{CT} - \text{C-HDL} - \text{TG}/5 \quad \text{g/L}$$

➤ Valeurs usuelles

- ✓ Inférieures à 1,35 g/L

CONCLUSION

- ❑ Détermination cholestérolémie:
 - Prévention:
 - ✓ Changement régime alimentaire
 - ✓ Changement mode de vie
 - Diagnostic précoce
 - ✓ Traitement/hypolipidémiants
 - Surveillance traitement

Pathologies associées à hypocholestérolémies ou hypercholestérolémies, telles dyslipoprotéinémies primitives ou secondaires