

MÉTABOLISME PROTÉIQUE CHEZ LE DIABÉTIQUE : NOUVEAUTÉS PHYSIOPATHOLOGIQUES ET ESPOIRS THÉRAPEUTIQUES

par

L. CYNOBER*, C. SCHNEID**, M.-C. BLANC*,
C. MOINARD***, S. DARQUY** et J.-P. DE BANDT*

INTRODUCTION : DE L'IMMUNODÉPRESSION À L'IMMUNONUTRITION

L'altération du statut immunitaire du patient diabétique est maintenant bien établie [1]. Ce phénomène est certainement multifactoriel mais la carence en certains acides aminés (AAs) ou une anomalie de la transduction des signaux qu'ils induisent pourraient être contributives. Ces acides aminés sont la taurine (TAU), la glutamine (GLN) et l'arginine (ARG). Apportés en quantités pharmacologiques, ils ont des propriétés immunomodulatrices indéniables, bien démontrées dans d'autres situations, comme par exemple chez le patient de réanimation [2]. Ces mêmes acides aminés, en particulier l'ARG et la GLN ou leur précurseur, l' α -cétoglutarate d'ornithine, sont également des modulateurs de l'insulino-sécrétion. Ceci n'est peut-être pas un hasard : les acides aminés stimulent la sécrétion d'insuline laquelle favorise le transfert des acides aminés dans la cellule où insuline et acides aminés exercent une action synergique sur les synthèses protéiques selon des processus de contrôle transcriptionnel en partie communs.

ALTÉRATIONS DE L'IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE CHEZ LE DIABÉTIQUE

L'immunité non spécifique est perturbée chez le diabétique et ceci explique en partie l'augmentation de la susceptibilité aux infections chez ces malades.

* Service de Biochimie A, Hôtel-Dieu. Laboratoire de Biologie de la Nutrition EA 2498, Faculté de Pharmacie, Paris, France.

** INSERM U341, Hôtel-Dieu. Laboratoire de Biologie de la Nutrition EA 2498, Faculté de Pharmacie, Paris, France.

*** Laboratoire de Biologie de la Nutrition EA 2498, Faculté de Pharmacie, Paris, France.

Par exemple, la production de peroxyde d'hydrogène par les polynucléaires neutrophiles (PNN) de patients diabétiques est réduite (*in* [3]). Le mécanisme sous-jacent à ces anomalies n'est pas clairement identifié et plusieurs hypothèses qui concernent les acides aminés peuvent être émises :

- moindre disponibilité de certains AAs (tels que la glutamine), massivement utilisés dans la néoglucogenèse (voir *infra*) ;
- diminution de la capacité de transport d'AA dans ces cellules et/ou anomalies de leur métabolisme intracellulaire et/ou altération de leur capacité à générer des messages ;
- accumulation de sorbitol (formé via l'aldose réductase) dans ces cellules, d'où un effet de chasse (et donc une déplétion) d'osmolites, tels que la TAU, impliqués dans les échanges ioniques et le contrôle du volume cellulaire [3] qui joue un rôle clé dans la régulation des synthèses protéiques (voir *infra*).

De plus, l'oxydation du sorbitol nécessite des co-enzymes réduites (NADPH, H⁺). Ainsi, l'activation de la voie des polyols entraîne une déplétion de NADPH, H⁺ laquelle, à son tour, est responsable d'une synthèse insuffisante de glutathion réduit et de monoxyde d'azote (NO^{*}) [4].

De même, il a été montré [5] que des macrophages provenant de souris db/db (diabète de type 2) répondaient moins bien que les cellules provenant d'animaux sains, à une stimulation (LPS+ IFN γ), en termes de production de TNF α et d'interleukine 1.

Taurine

La TAU est un acide β -aminé, produit du catabolisme de la cystéine. Elle possède de nombreuses propriétés physiologiques qui sont résumées dans le tableau I.

La TAU est exceptionnellement concentrée dans les leucocytes et les plaquettes (de l'ordre de 10 à 50 mM ; versus 50 μ mol/l dans le plasma). Les concentrations les plus élevées sont trouvées dans les PNN où la TAU peut être métabolisée en N-chlorotaurine. Non seulement cette synthèse permet de neutraliser l'acide hypochloreux produit par le système myéloperoxydasique de ces cellules, mais, de plus, la N-chloroTAU est elle-même un agent anti-radicalaire, en particulier vis-à-vis des espèces carbonylées [3]. L'incubation, en présence de TAU, de cellules endothéliales provenant de veines ombilicales humaines, réduit le phénomène apoptotique induit par l'exposition au glucose à très forte concentration (30 mM) [6]. Cette action de la TAU passerait par sa capacité à inhiber, d'une part, la production de radicaux libres oxygénés (RLO) et, d'autre

TABLEAU I. — PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DE LA TAURINE

Formation des acides biliaires
Osmorégulation et contrôle du volume cellulaire
Transport d'ions (Na ⁺ , Cl ⁻ , échange Na ⁺ -Ca ²⁺)
Inhibition de la phosphorylation de protéines
Système de photoréception (rôle dans la vision)
Lutte anti-radicalaire (via la synthèse de N-chlorotaurine)
Neutralisation de composés réactifs carbonylés
Développement tissulaire péri-natal

part, l'augmentation de la concentration intracellulaire en calcium induites par le glucose [6].

Glutamine (GLN)

La GLN possède de nombreuses propriétés régulatrices ; en particulier, elle est un substrat énergétique privilégié des cellules immunitaires et est indispensable à la multiplication et à la fonctionnalité de ces cellules [7]. Des travaux récents [8, 9] suggèrent que la GLN réprime une surproduction excessive de cytokines pro-inflammatoires, peut-être en stimulant la synthèse de celles douées de propriétés anti-inflammatoires. Chez le diabétique, la GLN est massivement utilisée dans la néoglucogenèse hépatique (cette voie étant normalement réprimée par l'insuline) la détournant ainsi d'autres tissus qui en ont pourtant un besoin crucial. À ceci pourraient s'associer des anomalies des messages générés par cet AA : nous avons très récemment [10] envisagé si une modification du métabolisme ou de la transduction du signal généré par la GLN pouvait expliquer la dysimmunité notée lors des états d'insulino-résistance. Des macrophages provenant de rats Zucker obèses ou non obèses ont été incubés avec différentes concentrations de GLN. La production de NO• diminue en réponse à la GLN (2 mM) chez les rats sains mais pas chez les obèses. Par contre, la réponse à la GLN est conservée pour la production de TNF α mais avec des valeurs de base (*i.e.* incubation sans glutamine) plus faibles chez les obèses.

Arginine (ARG)

L'ARG est également un acide aminé doué de propriétés étonnantes. Il a la capacité de stimuler la sécrétion d'insuline et de réguler la fonctionnalité des cellules immunitaires [11]. Cette action est largement dépendante de la synthèse de NO•. Nous avons conduit avec l'ARG la même expérience que celle décrite plus haut avec la GLN [10]. Là encore des anomalies sont observées chez les rats obèses : surproduction de NO•, diminution de la sécrétion de TNF α . La surproduction de NO• par les macrophages est retrouvée dans d'autres modèles de rat diabétique (db/db [5] et DP-BB [12]) et pourrait être impliquée dans la destruction des îlots, responsable de certains diabètes [5]. Le NO• est donc, en la circonstance, une molécule *Ying* et *Yang*.

MANIPULATION QUALITATIVE DES APPORTS EN AAs CHEZ LE DIABÉTIQUE : VERS UNE MISE EN ŒUVRE DE L'IMMUNONUTRITION CHEZ CES PATIENTS

Taurine

Il existe encore peu de données dans ce domaine prometteur : une étude réalisée chez le rat hyperlipidémique indique qu'un apport en taurine améliore la bactéricidie des PNN (*in* [3]).

Alpha-cétoglutarate d'ornithine (ACO)

ACO ET HOMÉOSTASIE GLUCIDIQUE

L'ACO est une molécule ancienne initialement utilisée pour ses propriétés anti-hyperammoniémiantes (*in* [13]). C'est un peu par hasard que son action régulatrice sur le métabolisme protéique a été découverte ainsi que, plus récemment, son aptitude à stimuler la sécrétion de l'insuline et à moduler l'action de cette hormone.

L'administration de 10 g d'ACO à des sujets sains à jeun entraîne une augmentation de l'insulinémie, maximale à la 30^e minute [14]. La même expérience a été répétée en administrant l'ACO après un petit déjeuner. Dans ce cas, l'augmentation de l'insulinémie est bien plus importante que chez les sujets ayant reçu seulement le petit déjeuner [15] ou l'ACO à jeun [14]. Ces résultats ont été retrouvés par Schneid et coll. [16] chez le rat à l'état nourri après administration intraveineuse d'ACO. Cette molécule (25 mg/kg) provoque la même insulino-sécrétion que le glucose (0,8 g/kg) et, de façon très intéressante, le premier potentialise les effets du second (ACO + GLC : +35 % et 54 % vs GLC et ACO respectivement ; $p < 0,05$). L'action de l'ACO a également été retrouvée *in vitro* dans deux modèles d'îlots de Langerhans (incubés ou périfusés) [17], ce qui suggère que l' α -cétoglutarate et/ou l'ornithine sont les médiateurs de cette action (directement ou après métabolisation au sein des cellules β), plutôt que leurs métabolites générés *in vivo* (glutamate, GLN, ARG par exemple).

Dans ce même modèle de périfusion, nous avons montré [18] que les contributions individuelles de l' α -cétoglutarate et de l'ornithine étaient marginales et que les deux constituants de l'ACO étaient nécessaires, ce qui avait déjà été mis en évidence chez l'homme sain [14] et pour d'autres effets de l'ACO [19]. Enfin, l'utilisation d'inhibiteurs métaboliques a permis de montrer que l'action de l'ACO passait par la synthèse de NO^{*} et de glutamine mais pas par celle des polyamines aliphatiques [20].

Chez les malades hypercataboliques (déjà hyperinsulinémiques), l'action de l'ACO est plutôt caractérisée par une amélioration de la tolérance au glucose [21].

ACO ET IMMUNITÉ

Plusieurs travaux récents soulignent l'action régulatrice de l'ACO sur l'immunité cellulaire non spécifique.

Ainsi, chez des rats rendus hypercataboliques et immunodéprimés par injection répétée de dexaméthasone, l'administration d'ACO par voie entérale permet la restauration de la sécrétion de TNF α [22] et un accroissement de la production de NO^{*} [23] par les macrophages stimulés par le LPS [23], une augmentation des fonctions phagocytaires (jugées sur la production d'H₂O₂) des PNN et des monocytes [22], ainsi que de la production de RLO par les PNN [24].

L'action de l'ACO sur la production de NO^{*} a été retrouvée dans un modèle de rats cancéreux, ce dernier travail indiquant également que l'ACO stimule l'activité cytotatique des macrophages et cytotoxique des cellules NK [25].

L'utilisation d'inhibiteurs métaboliques indique que l'action de l'ACO sur la production de TNF α n'est pas dépendante de la synthèse de GLN, d'ARG ou de celle des polyamines. En revanche, les effets sur la production de NO^{*} seraient GLN et polyamines-dépendants [23], tandis que ceux sur la production de RLO seraient ARG et polyamines-dépendants [24].

LA RÉGULATION DU VOLUME CELLULAIRE : UN LIEN ENTRE L'INSULINO-SÉCRÉTION, L'IMMUNORÉGULATION ET L'ANABOLISME PROTÉIQUE

La plupart des cellules sont capables de réguler leur volume en fonction des conditions osmotiques.

L'augmentation de l'hydratation cellulaire (appelée *swelling*) active divers systèmes de transport membranaire, ce qui conduit à la perte nette d'osmolytes intracellulaires et d'eau, et ceci permet le retour à un volume cellulaire normal. Le processus inverse de rétraction du volume cellulaire, appelé *shrinkage*, implique, lui aussi, l'activation de systèmes de transport d'osmolytes, en sens inverse [26].

Or, le processus de *swelling* pourrait être impliqué dans l'insulino-sécrétion et, de façon extrêmement intéressante, il a été montré [27] que le diabète insulino-dépendant diminue fortement l'efflux de taurine en réponse à un choc hypo-osmotique. Le *swelling* est impliqué dans le contrôle du *turnover* protéique par l'insuline et la glutamine au niveau du foie [28] et peut-être du muscle [29].

Ce processus existe également dans le macrophage [30] et les cellules endothéliales [26] et il joue un rôle important dans la fonctionnalité de ces cellules [30].

L'insuline et les acides aminés partagent une autre voie de signalisation commune : ils activent la protéine kinase mTOR, laquelle est responsable de la phosphorylation de protéines telles que 4E-BP1 et S6K1 inductrices, au niveau transcriptionnel, de la synthèse protéique [31, 32]. L'existence d'un lien entre le système mTOR et la régulation exercée par les variations de volume cellulaire (qui implique aussi des systèmes kinasiques) reste à étudier.

CONCLUSION

Les altérations du métabolisme protéique chez le diabétique et ses conséquences, en particulier en termes de statut immunitaire et d'insulino-sécrétion, n'ont certainement pas été suffisamment étudiées jusqu'à présent. Nos connaissances récemment acquises dans le domaine physiopathologique laissent penser que l'administration d'immuno-pharmaco-nutriments aux diabétiques pourrait être bénéfique, en particulier sur leur état immunitaire. Ces études restent à réaliser [33].

BIBLIOGRAPHIE

1. JOHNSTON CLW. Infection and diabetes mellitus. *In* : Pickup J, Williams G Eds. Textbook of diabetes. Oxford, Blackwell Science, 1997 : 70.1-70.14.
2. CYNOBER L. Les pharmaco-nutriments azotés : du tube à essai à la pratique clinique. *Nutr Clin Métabol*, 2001, 15 : 131-143.
3. HANSEN SH. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev*, 2001, 17 : 330-346.
4. BONNEFONT-ROUSSELOT D, BASTARD JP, JAUDON MC, DELATTRE J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab*, 2000, 26 : 163-176.

5. ZYKOVA SN, JENSSEN TG, BERDAL M et al. Altered cytokine and nitric oxide secretion in vitro by macrophages from diabetic type II-like db/db mice. *Diabetes*, 2000, 49 : 1451-1458.
6. WU QD, WANG JH, FENNESSY F et al. Taurine prevents high-glucose induced humans vascular endothelial cell apoptosis. *Am J Physiol*, 1999, 277 : C1229-C1238.
7. CYNOBER L. Médiateurs de l'inflammation : Contrôle par les nutriments azotés. *Nutr Clin Métabol*, 2000, 14 : 194-200.
8. DE BAUX AC, O'RIORDAIN MG, ROSS JA et al. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition reduces blood mononuclear cell interleukin-8 release in severe acute pancreatitis. *Nutrition*, 1998, 14 : 261-265.
9. COEFFIER M, MIRALLES-BARRACHINA O, LE PESSOT F et al. Influence of glutamine on cytokine production by human gut in vitro. *Cytokine*, 2001, 13 : 148-154.
10. BÉZIEL A, BLANC MC, MOINARD C et al. Arginine, glutamine et fonctionnalité des macrophages au cours des états d'insulino-résistance. *Nutr Clin Métabol*, 2001, 15 suppl.1 : 35 (résumé).
11. WU G, MEININGER CJ, KNABE DA et al. Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2000, 3 : 59-66.
12. LAU A, RAMANATHAN S, POUSSIER P. Excessive production of nitric oxide by macrophages from DP-BB rats is secondary to the T-lymphopenic state of these animals. *Diabetes*, 1998, 47 : 197-205.
13. CYNOBER L. The use of α -ketoglutarate salts in clinical nutrition and metabolic care. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 1999, 2 : 33-37.
14. CYNOBER L, COUDRAY-LUCAS C, DE BANDT JP et al. Action of ornithine α -ketoglutarate, ornithine hydrochloride, and calcium α -ketoglutarate on plasma amino acid and hormonal patterns in healthy subjects. *J Am Coll Nutr*, 1990, 9 : 2-12.
15. CYNOBER L, VAUBOURDOLLE M, DORE A, GIBOUDEAU J. Kinetics and metabolic effects of orally administered ornithine α -ketoglutarate in healthy subjects fed with standardized regimen. *Am J Clin Nutr*, 1984, 49 : 514-520.
16. SCHNEID C, DE BANDT JP, CYNOBER L et al. Ornithine α -ketoglutarate potentiates glucose-induced insulin secretion in vivo. *Diabetologia*, 2001, 44 suppl. 1 : A139 (résumé).
17. SCHNEID C, DARQUY S, REACH G et al. In vitro insulin secretion stimulation in pancreatic rat islets by ornithine 2-oxoglutarate. *Diabetologia*, 2000, 43 suppl. 1 : A134 (résumé).
18. SCHNEID C, DARQUY S, REACH G et al. α -cétoglutarate d'ornithine et sécrétion d'insuline par les îlots de Langerhans : rôle de l'ornithine et de l' α -cétoglutarate. *Nutr Clin Métabol*, 2000, 14 suppl. 2 : 131 (résumé).
19. LE BOUCHER J, COUDRAY-LUCAS C, LASNIER E et al. Enteral administration of ornithine α -ketoglutarate or arginine α -ketoglutarate : a comparative study of their effects on glutamine pools in burn-injured rats. *Crit Care Med*, 1997, 25 : 293-298.
20. SCHNEID C, DARQUY S, REACH G et al. Étude des mécanismes impliqués dans la sécrétion d'insuline induite par l' α -cétoglutarate d'ornithine dans un modèle d'îlots de Langerhans de rat. *Diabetes Metab*, 2001, 27 suppl. 1 : 61 (résumé).
21. VAUBOURDOLLE M, LIORET N, CYNOBER L et al. Influence of enterally administered ornithine α -ketoglutarate on hormonal patterns in burn patients. *Burns*, 1987, 13 : 349-356.
22. MOINARD C, CHAUVEAU B, WALRAND S et al. Phagocyte functions in stressed rats : comparison of modulation by glutamine, arginine and ornithine 2-oxoglutarate. *Clin Sci*, 1999, 97 : 59-65.
23. MOINARD C, CALDEFIE F, WALRAND S et al. Involvement of glutamine, arginine and polyamine in the action of ornithine α -ketoglutarate on macrophage functions in stressed rats. *J Leukoc Biol*, 2000, 67 : 834-840.
24. MOINARD C, CALDEFIE F, WALRAND S et al. Effect of ornithine 2-oxoglutarate on neutrophil in stressed rats : evidence for the involvement of nitric oxide and polyamines. *Clin Sci*, 2002, 102 : 287-295.
25. ROBINSON LE, BUSSIÈRE FI, LE BOUCHER J et al. Amino acid nutrition and immune function in tumour-bearing rats : a comparison of glutamine-, arginine- and ornithine 2-oxoglutarate-supplemented diets. *Clin Sci*, 1999, 97 : 657-669.
26. DALL'ASTA V, BUSSOLATI O, SALA R et al. Amino acids are compatible osmolytes for volume recovery after hypertonic shrinkage in vascular endothelial cells. *Am J Physiol*, 1999, 267 : C865-C872.
27. GRANT ACG, THOMSON J, ZAMMIT VA, SHENNAN DB. Volume-sensitive amino acid efflux from a pancreatic β -cell line. *Mol Cell Endocrinol*, 2000, 162 : 203-210.

-
28. HAUSSINGER D. The role of cellular hydration in the regulation of cell function. *Biochem J*, 1996, *313* : 697-710.
 29. HAUSSINGER D, ROTH E, LANG F, GEROK W. Cellular hydration state ; an important determinant of protein catabolism in health and disease. *Lancet*, 1993, *341* : 1330-1332.
 30. WU G, FLYNN NE. Regulation of glutamine and glucose metabolism by cell volume in lymphocytes and macrophages. *Biochim Biophys Acta*, 1995, *1243* : 343-350.
 31. KIMBALL SR, JEFFERSON LS. Control of protein synthesis by amino acid availability. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002, *5* : 63-67.
 32. GRZELKOWSKA K, DARDEVET D, BALAGE M, GRIZARD J. Involvement of the rapamycin-sensitive pathway in the insulin regulation of muscle protein synthesis in streptozotocin-diabetic rats. *J Endocrinol*, 1999, *160* : 137-145.
 33. BEAUFRÈRE B. More research is needed. XXI^e congrès de la SFNEP. Paris, Nov 2001.