

UE8 Nutrition  
Pr. JC Deybach  
Le 17/10/2016 à 13h30  
Ronéoficheuse : Hong Qin  
Ronéotypeuse : Jennifer Quashie

## Cours n°7 – UE8 Métabolisme de l'azote, catabolisme des protéines et cycle de l'urée

*Le professeur a bien voulu relire ce cours*

## I/ Les protéines

### 1- Rappels

### 2- Schéma général du métabolisme protéique

### 3- Le renouvellement protéique

## II/ Le bilan azoté

## III/ Variations physiologiques et pathologiques des entrées

### 1- Alimentation : Apports exogènes des AA

### 2- Protéolyse : Apports endogènes des AA

## IV/ Variations physiologiques et pathologiques des sorties

### 1- Dégradation irréversible des AA= catabolisme oxydatif des AA

### 2- L'élimination de l'azote

#### 2.1 Métabolisme de l'azote sous forme d'ammoniaque (NH<sub>3</sub>)

#### 2.2 Synthèse de la glutamine

#### 2.3 Cycle de l'alanine

#### 2.4 Cycle de l'urée

#### 2.5 REINS: Ammoniogenèse / Equilibre acide/base

#### 2.6 PATHOLOGIE

##### 2.6.1 Hyperammoniémies secondaires

##### 2.6.2 Hyperammoniémies PRIMAIRES

a) Déficits en Enzymes du cycle de l'urée

b) Déficits des Transporteurs et Déficits en enzymes satellites

c) Les signes cliniques

d) Les outils de diagnostic

e) Bases thérapeutiques

##### 2.6.3 Maladies rares

##### 2.6.4 Cas cliniques

## Pratique quotidienne en clinique

Le métabolisme des protéines et le bilan azoté relève de la pratique quotidienne en clinique. En effet, les paramètres cliniques que sont la masse musculaire, la masse corporelle, l'IMC ou l'évaluation des fonctions rénales, digestives ou encore hormonales permettent de refléter ce métabolisme. De plus, dans les prescriptions d'examen complémentaires on retrouve les notions concernant le métabolisme des protéines au travers de la protidémie (la concentration en protéine dans le sérum dont la moitié est représenté par l'albumine), l'albuminémie, l'électrophorèse des protéines sériques, l'urée, l'ammoniémie, l'acido-acidémie, l'ASAT, l'ALAT, l'équilibre acido-basique (« gaz du sang »)...

L'IMC (ou BMI body mass index en anglais) = poids/ taille<sup>2</sup>.

C'est un très bon indicateur concernant le rapport entre les protéines et le reste.

+ de 40	obésité morbide ou massive
35 à 40	obésité sévère
30 à 35	obésité modérée
25 à 30	surpoids
18.5 à 25	corpulence normale
16.5 à 18.5	maigreur
- de 16.5	famine

## I/ Les protéines

### 1- Rappels

Pour une masse corporelle de 70 kg :

protéines = 16 % = 10 kg

graisses = 10-30 % = 10 kg

minéraux = 6% = 4 kg

eau extracellulaire = 25%= 20L

eau intracellulaire = 37%= 25L

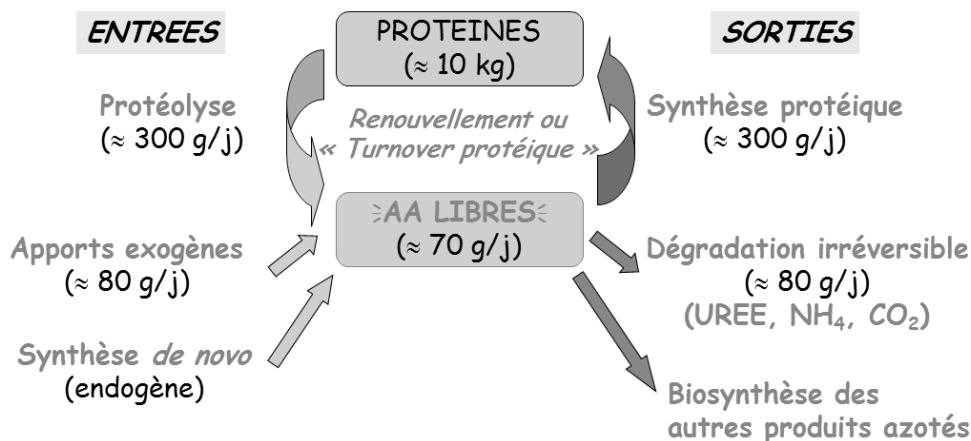
Ainsi les protéines sont d'une importance vitale.

La masse maigre est représentée par l'eau extracellulaire, l'eau intracellulaire, les protéines et les minéraux.

La masse grasse est représentée par la graisse.

### 2- Schéma général

#### Le métabolisme protéique :



**Les AA excédentaires ne sont pas stockés: ils sont dégradés**

Les entrées pour les protéines constituent des sorties pour les acides aminés. Les acides aminés sont le centre du métabolisme protéique.

Chez individu normal, la protéolyse s'équilibre avec la synthèse protéique notamment grâce au phénomène de renouvellement ou « turn over ». En effet, le renouvellement des protéines s'effectue tous les jours.

La synthèse de novo qui est assez faible correspond à la synthèse endogène des acides aminés. Tous les acides aminés ne sont pas synthétisés par l'organisme d'où l'existence d'acides aminés essentiels qui doivent être apportés par l'alimentation.

Et il n'y a pas de stock d'acides aminés contrairement aux glucides (par exemple, le glycogène est stocké dans le foie) et aux lipides.

Le cycle de Krebs se résume à «les lipides brûlent au feu des glucides» donc ce cycle a ainsi besoin pour fonctionner de glucides et de lipides. Or quand l'apport en glucides est insuffisant comme lors d'un jeûne prolongé, le cycle de Krebs va fonctionner grâce à la dégradation des protéines soit la protéolyse. Les acides aminés vont alors fournir le glucose dont le cycle a besoin. Ceci n'est pas sans conséquence car l'individu perd de la graisse mais également du muscle.

### **3- Le renouvellement des protéines**

Le renouvellement des protéines est variable (durées de vie plus ou moins longues) et dépend de :

- l'importance qualitative de la protéine soit son rôle.

Le renouvellement des protéines est plus important dans le muscle, dans le foie, dans l'intestin et dans la peau.

- la rapidité du renouvellement de chaque protéine (appréciée par la demi-vie).

Par exemple, les protéines du cristallin ne sont pas renouvelées ((d'où l'apparition de la cataracte en vieillissant), alors que l'ApoB100 protéine des VLDL est renouvelée 3 fois par jour.

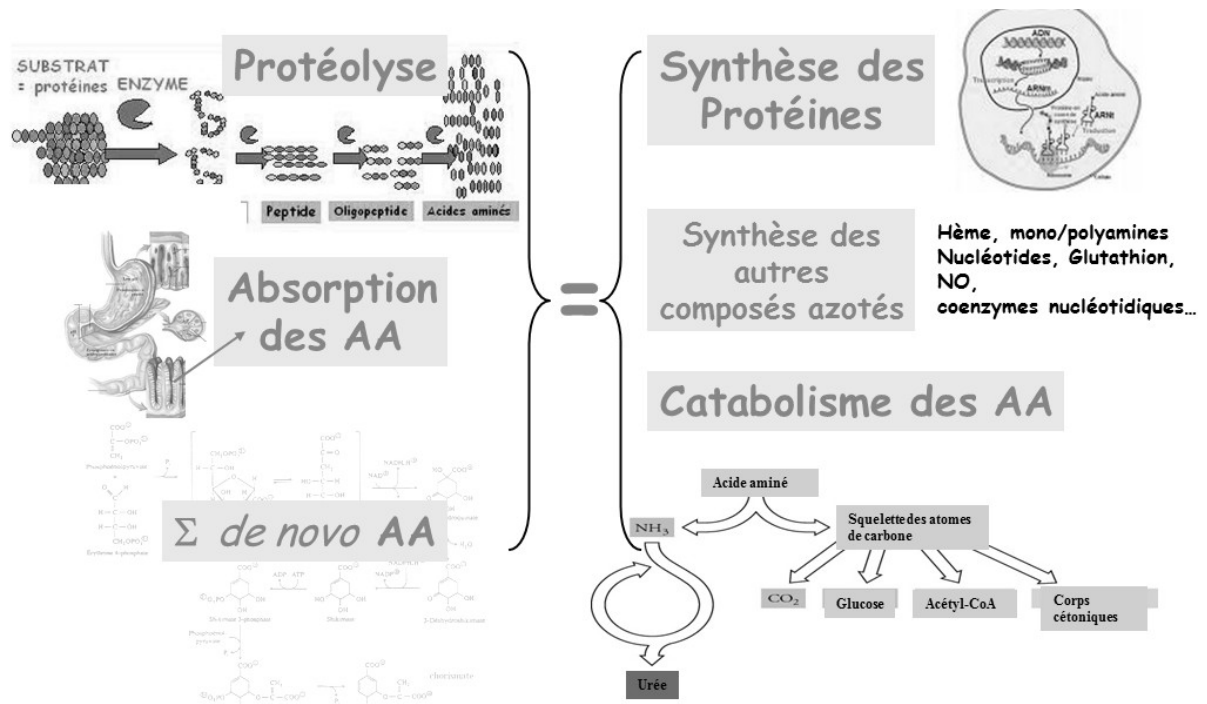
Le renouvellement des protéines musculaires correspond à 20% du renouvellement global et celui des protéines hépatiques à 10%.

### **Variations du renouvellement protéique**

Il existe des variations au niveau du renouvellement protéique qui dépendent de divers facteurs. En effet, le renouvellement chez un nouveau-né (4g/kg/j) est beaucoup plus important que chez un adulte (15g/kg/j). Ainsi, la synthèse protéique est nettement supérieure à la protéolyse chez un nouveau-né. L'état nutritionnel fait également varier le renouvellement par exemple, au cours du jeûne, la protéolyse est supérieure à la synthèse. L'état pathologique a également un impact sur le renouvellement. En effet, lors de situations cataboliques qui peuvent s'observer lors d'un syndrome inflammatoire, un traumatisme, une sepsis (infection généralisée de l'organisme avec des bactéries dans le sang), la protéolyse est supérieure à la synthèse. Lors de ces situations le foie va beaucoup participer car il synthétise les protéines inflammatoires, le muscle va quant à lui synthétiser des acides aminés. Le renouvellement est alors multiplié par 3 ou 4 mais sans gain protéique. Il est important de différencier synthèse protéique et gain protéique. En effet dans un état pathologique, l'organisme va synthétiser des protéines mais il n'y aura aucun gain. Ainsi, l'apport calorique est très important chez les patients dans ces situations et est souvent difficile (perfusion, implant protéique).

### **II/ Le bilan azoté**

Le bilan est équilibré chez un adulte normal.



La protéolyse permet la dégradation des protéines en acides aminés. Les acides aminés sont absorbés dans l'intestin. Et il existe également une synthèse endogène d'acides aminés. Tout ceci s'équilibre avec la synthèse protéique à partir des acides aminés, la synthèse des autres composés azotés et le catabolisme des acides aminés qui va donner de l'ammoniaque. Cette ammoniaque va être épurée dans le cycle de l'urée au niveau du foie.

### III/Variations physiologiques et pathologiques des entrées

#### 1- Alimentation : apport AA exogènes

##### **Aspects quantitatifs**

L'alimentation apporte les protéines qui vont être dégradées au niveau du tractus digestif. Cela correspond à l'apport des acides aminés exogènes.

Aspects quantitatifs :

Les besoins recommandés soit ce que l'on devrait consommer sont de :

- 55g chez un homme
- 45g chez une femme
- 110g chez un nouveau-né de 4 à 6 mois

Ainsi, ces besoins varient l'âge et le sexe. Ils varient également selon l'apport énergétique par les autres aliments et l'activité physique (chez un sportif, les apports doivent être plus importants)

Or chez un adulte dans un pays développé, les apports sont de 70 à 100g.

Remarque : Nous consommons trop de protéines manger une fois au lieu de deux de la viande ou du poisson par jour semble suffisant.

Il est également important de regarder la composition protéique de l'aliment car la viande ou le poisson n'est pas uniquement composé de protéines.

##### Pathologie :

Le syndrome de Kwashiorkor concerne les enfants de 6 mois à 3 ans dans les pays en voie de développement ou sous-développé. Il apparaît au moment du sevrage soit pendant la fin de l'allaitement et indique une carence protéique importante. Ces enfants ont la caractéristique d'avoir un gros ventre. Ce syndrome peut aboutir au marasme.

Le Marasme est une maladie qui correspond à une carence énergétique globale que ce soit en protéines, en vitamines ou en minéraux : c'est une dénutrition complète. Cette dénutrition peut être engendrée suite à un syndrome de Kwashiorkor mais également en cas d'anorexie.

De plus, tous les patients opérés, cancéreux (le développement du cancer consomme beaucoup

d'énergie d'où un amaigrissement), brûlés ont un catabolisme protéique important : les pertes protéiques sont supérieures au besoin.

Tout amaigrissement rapide doit être un signal d'alerte qui peut présager un phénomène nutritionnel ou pathologique.

## **2-Protéolyse : apport AA endogènes**

La protéolyse est la principale source d'acides aminés dans l'organisme à hauteur de 75%. Elle est difficile à étudier car elle présente de nombreuses fonctions. Elle permet d'effectuer « un ménage cellulaire » via le renouvellement basal des protéines et l'élimination des protéines anormales, la genèse des peptides antigéniques (à partir de protéines endogènes et exogènes) pour la défense immunitaire, elle permet également la production d'énergie en situation de carence (quand l'apport glucidique est insuffisant alors le muscle dégrade ses protéines afin de produire du glucose pour l'organisme grâce à l'alanine et le pyruvate) et aussi la régulation de l'abondance tissulaire des protéines.

### **Trois systèmes protéasiques**

La protéolyse consomme beaucoup d'énergie donc elle doit être finement régulée par des conditions nutritionnelles et hormonales.

La protéolyse s'effectue grâce à 3 systèmes protéasiques (les plus importants).

Le système lysosomal procède à la protéolyse au niveau du rein et du foie surtout et ceci sous la dépendance de l'ATP. Mais ce système ne permet de faire que moins de 15% de la protéolyse dans l'organisme.

Quant au système calcium dépendant, calpaïne-capastatine, il effectue le catabolisme protéique au niveau du cytosol et il est utilisé pour la dégradation des protéines du cytosquelette.

Le système du protéasome agit au niveau du muscle, lieu où la protéolyse est la plus importante.

#### Système protéasome

Le protéasome 26 S est un complexe multienzymatique composé de sous-unités. Il possède un complexe régulateur 19 S ayant une activité ATPasique qui permet de fournir l'énergie nécessaire. Il a également un complexe 20S qui est protéolytique qui permet d'hydrolyser les liaisons entre les acides aminés des protéines marquées par l'ubiquitine. L'ubiquitine est une petite protéine de 76 acides aminés dont la séquence est très conservée qui se fixe sur les protéines à dégrader au niveau des lysines par une liaison covalente.



Le protéasome permet la dégradation des protéines intracellulaires comme les enzymes limitantes ou les enzymes régulatrices, les protéines anormales et il intervient dans la présentation des antigènes aux Complexe Majeur d'Histocompatibilité I. Son activité est augmentée lors des états cataboliques.

Ce système fonctionne grâce à l'action de 3 facteurs. E1 (2 isoformes) active l'ubiquitine, E2 (plus de 25 isoformes) conjugue l'ubiquitine c'est-à-dire qu'il catalyse une liaison entre l'ubiquitine et la protéine et E3 (plus de 150 isoformes) est une ubiquitine ligase.

Les multiples combinaisons entre E2 et E3 permettent une régulation fine entre un très grand nombre de protéines. En effet, les différentes combinaisons dues à l'ensemble des isoformes permet de cibler chaque protéine.

Concernant le signal pour l'ubiquitination, il peut varier suivant l'acide aminé positionné en N-terminal.

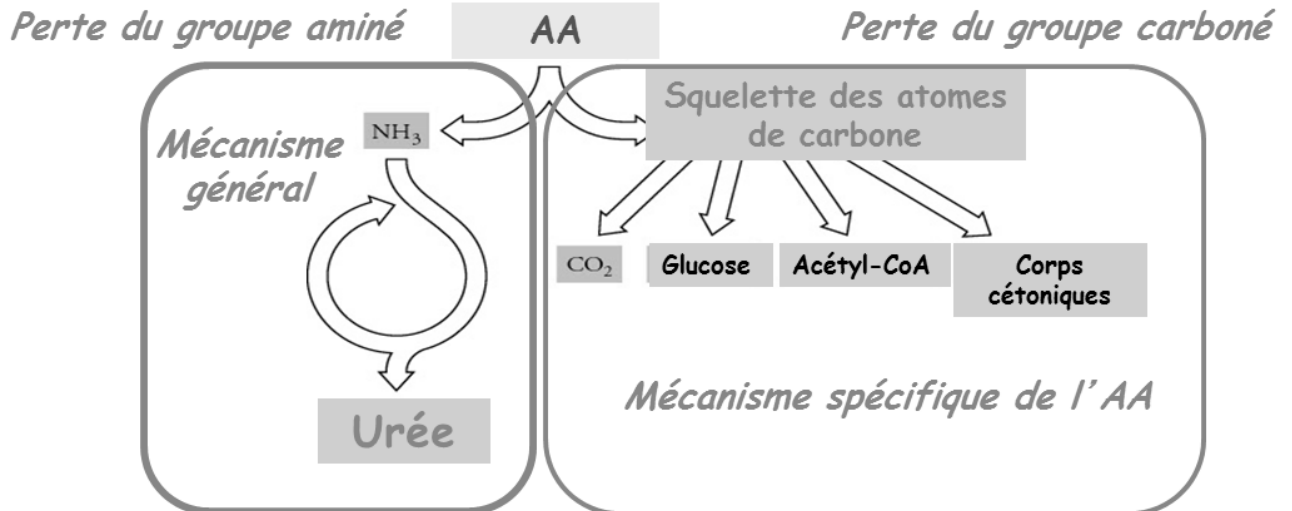
- \* Si cet acide aminé est stabilisant (Met, Ser, Gly), la protéine a une demi-vie plutôt longue.
- \* Si cet acide aminé est destabilisant (Arg, Lys, His), la protéine a une demi-vie plutôt courte (elle sera rapidement dégradée).

#### IV/ Variations physiologiques et pathologiques des sorties

##### 1- Dégradation irréversible des AA= catabolisme oxydatif des AA

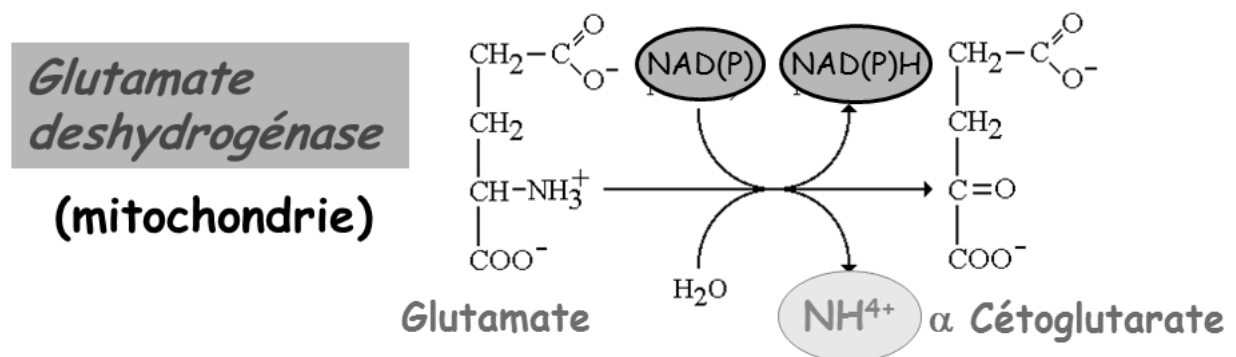
Comme les acides aminés ne sont pas stockés quand ils sont en excès, il est nécessaire de les dégrader. Il existe deux manières de les dégrader soit via le groupement aminé (NH<sub>2</sub> de l'AA sous forme NH<sub>3</sub> va être éliminé grâce au cycle de l'urée) soit via le groupement carboné (COOH de l'AA va être décarboxylé en CO<sub>2</sub>, glucose et intermédiaires comme l'acétyl-CoA et les corps cétoniques).

Ne sera traitée dans le cours que la partie sur la perte du groupe aminé



##### Perte du groupement aminé : 3 mécanismes

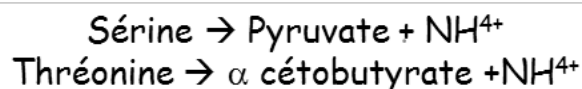
- Désaminations oxydatives



Cette réaction a lieu dans la mitochondrie grâce à une enzyme allostérique, la Glutamate deshydrogénase. Cette enzyme est régulée par le GTP et le ATP qui sont des inhibiteurs allostériques et le GDP et l'ADP qui sont des activateurs allostériques. Ainsi, cette enzyme est régulée positivement quand il y a peu d'énergie et négativement quand il y a beaucoup d'énergie. Donc le déficit énergétique cellulaire active le catabolisme protéique.

- Désaminations non oxydatives

##### Déshydratases (déshydratation puis désamination)



Cette réaction est réalisée par une sérine deshydratase ou une thréonine deshydratase

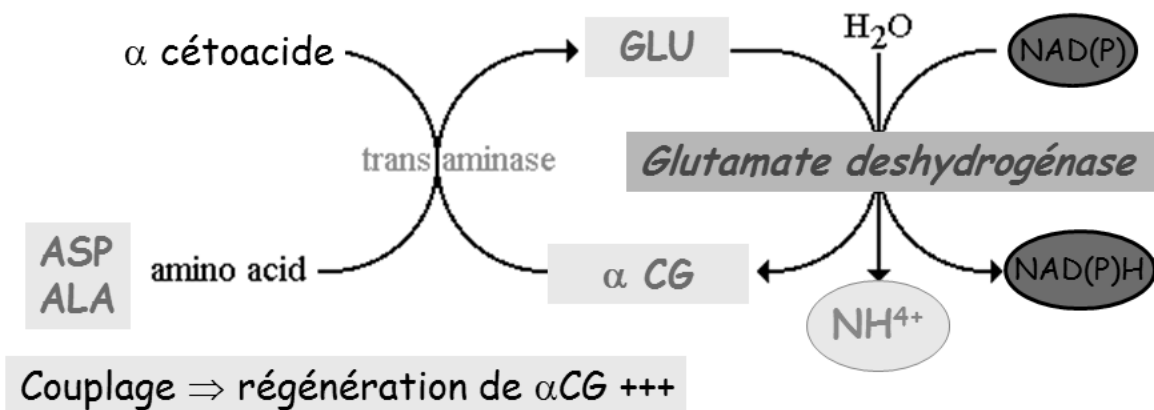
- **Désamidations**



Cette réaction est réalisée par une glutaminase ou une asparginase

**Transamination**

Les AA naturelles à l'exception de la glutamine et de l'asparagine (2 NH<sub>2</sub> chacun) (et accessoirement la sérine, la thréonine et l'histidine) ne peuvent pas être désaminés directement. Donc ils vont être transaminés d'où l'importance des transaminases. Le groupe aminé des AA est transféré à l' $\alpha$ -cétoglutarate pour donner de la glutamine qui va alors subir une désamination oxydative par la glutamate deshydrogénase ce qui va permettre de produire du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> pour faire de l'urée. Et le couplage des transaminases permet la régénération de l' $\alpha$ -cétoglutarate.



**2- L'élimination de l'azote**

**Pourquoi faut-il éliminer NH<sub>3</sub> ?**

L'azote est toxique surtout en cas d'augmentation.

L'ammoniaque est liposoluble donc il va pouvoir se fixer assez facilement au cerveau.

Si la quantité d'ammoniaque augmente alors il va se fixer sur l' $\alpha$ -cétoglutarate et se transformer en glutamate cela va entraîner une déplétion en l' $\alpha$ -cétoglutarate. Or l' $\alpha$ -cétoglutarate intervient dans le cycle de Krebs en l'absence de celle-ci, le cycle de krebs est bloqué ainsi la phosphorylation oxydative est bloqué et la quantité d'ATP produite diminue. Cela entraîne la mort des cellules neuronales.

De plus, si la quantité d'ammoniaque augmente alors la réaction qui permet de produire du glutamate à partir de l'ammoniaque et de la glutamine est favorisé donc la quantité de glutamine diminue or la glutamine est un précurseur du  $\gamma$ -aminobutyrate soit le GABA, un neurotransmetteur. Donc la quantité du neurotransmetteur GABA va diminuer ce qui peut entraîner un dysfonctionnement cérébral et le coma.

**Elimination**

**a) Métabolisme de l'azote sous forme d'ammoniaque (NH<sub>3</sub>)**



## Origine ENDOgène

### Catabolisme des AA

- Transaminations  
+ Désamination Oxydative Glu

- Désaminations non oxydatives

Désamidation GLN: glutaminase

Désaminations des Bases PUR-PYR

Désaminations des Monoamines

(sérotonine, histamine,  
dopamine, adrénaline)

Désamination du carbamyl phosphate

## Origine EXOgène

### Désaminations dans l'intestin

AA ingérés/rétrodiffusés

Urée rétrodiffusée

Désaminases/uréases  
bactériennes

NH<sub>3</sub> → 4/5 absorbés

Veine Porte → FOIE

1/5 → fèces (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

Dans l'intestin, des bactéries grâce à des désaminases et uréases produisent de l'ammoniaque les 1/5 vont aller en direction des fèces et les 4/5 vont passer dans le foie via la veine porte. Chez un cirrhotique, l'ammoniaque est directement déversé dans la circulation sanguine et peut rejoindre le cerveau.

Les tissus périphériques exportent l'azote vers le foie sous forme de glutamine qui est synthétisée à partir du glutamate et du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> grâce à la glutamine synthetase. Ils transportent également l'azote sous forme d'alanine dans le muscle, cela fait intervenir le cycle de l'alanine.

Dans le foie, la glutamine est désaminé en glutamate et NH<sub>4</sub><sup>+</sup> grâce à une glutaminase. L'ammoniaque est ensuite prise en charge par le cycle de l'urée.

Dans les reins, l'azote est éliminé sous forme de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> produit grâce à la fixation d'un H<sup>+</sup> sur l'ammoniaque. Ce NH<sub>4</sub><sup>+</sup> correspond à 20% de l'azote urinaire.

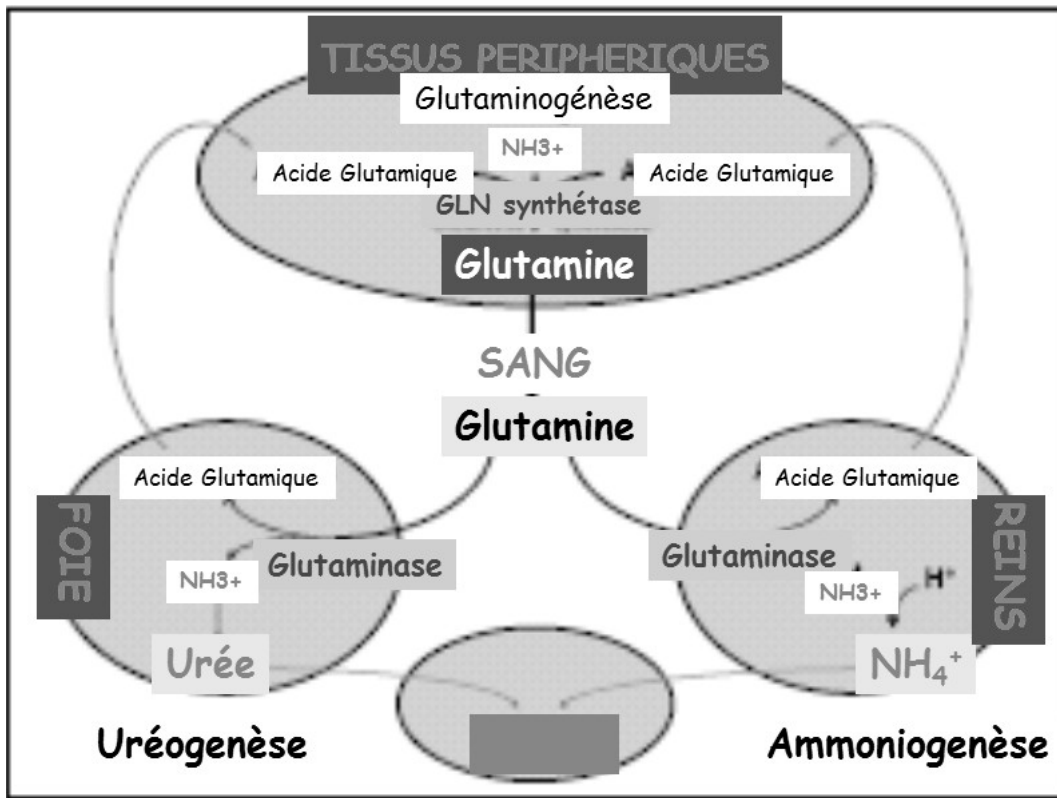
### b) Synthèse de la glutamine



*Glutamine synthétase*

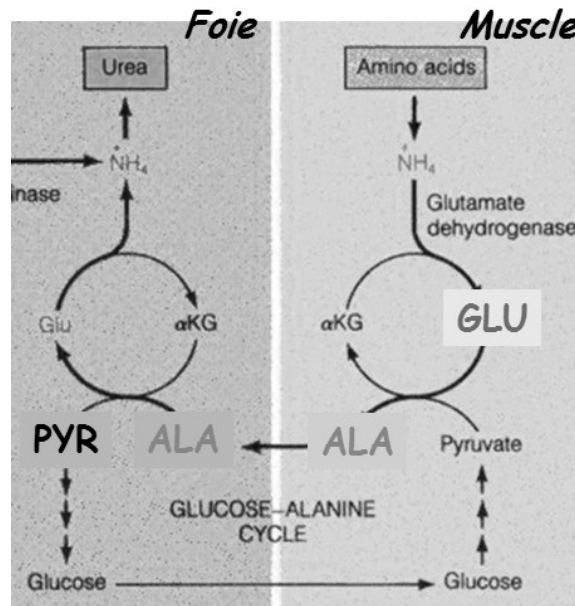
Cette réaction a lieu dans tous les tissus (surtout dans le foie (hépatocytes périveineux) et le muscle) sauf au niveau de l'intestin et du foie. La glutamine synthetase est l'enzyme qui catalyse cette réaction, elle joue un rôle très important dans le métabolisme de l'azote. Cette enzyme est active sous forme adénylée et active sous forme desadénylée. Cette activation s'effectue grâce à une adénylyl transférase qui crée une liaison covalente avec un AMP. C'est une enzyme allostérique régulée par rétroinhibition cumulative et multivalente. La glutamine intervient dans de nombreuses réactions ainsi elle peut être rétroinhibée par de nombreux produits. Ainsi, cette régulation joue un rôle critique dans le contrôle du métabolisme de l'azote.

En effet la glutamine a un rôle majeur dans le métabolisme. Elle est le transporteur de l'azote entre les tissus : au niveau du foie, la glutamine va permettre l'uréogénèse grâce à une glutaminase et au niveau du rein, l'ammiogénèse grâce à une glutaminase. Du fait qu'elle est au centre de ces échanges entre les tissus périphériques, le foie et les reins, elle est l'acide aminé le plus abondant dans le plasma. Elle est utilisée pour la synthèse de nombreux composés. Par exemple, elle constitue un substrat pour la synthèse des bases purines et pyrimidines et un précurseur de proline, ornithine et arginine. Ainsi, il existe une cascade enzymatique avec amplification de signaux et une régulation très fine du flux d'azote dans la cellule.



### c) Cycle de l'alanine

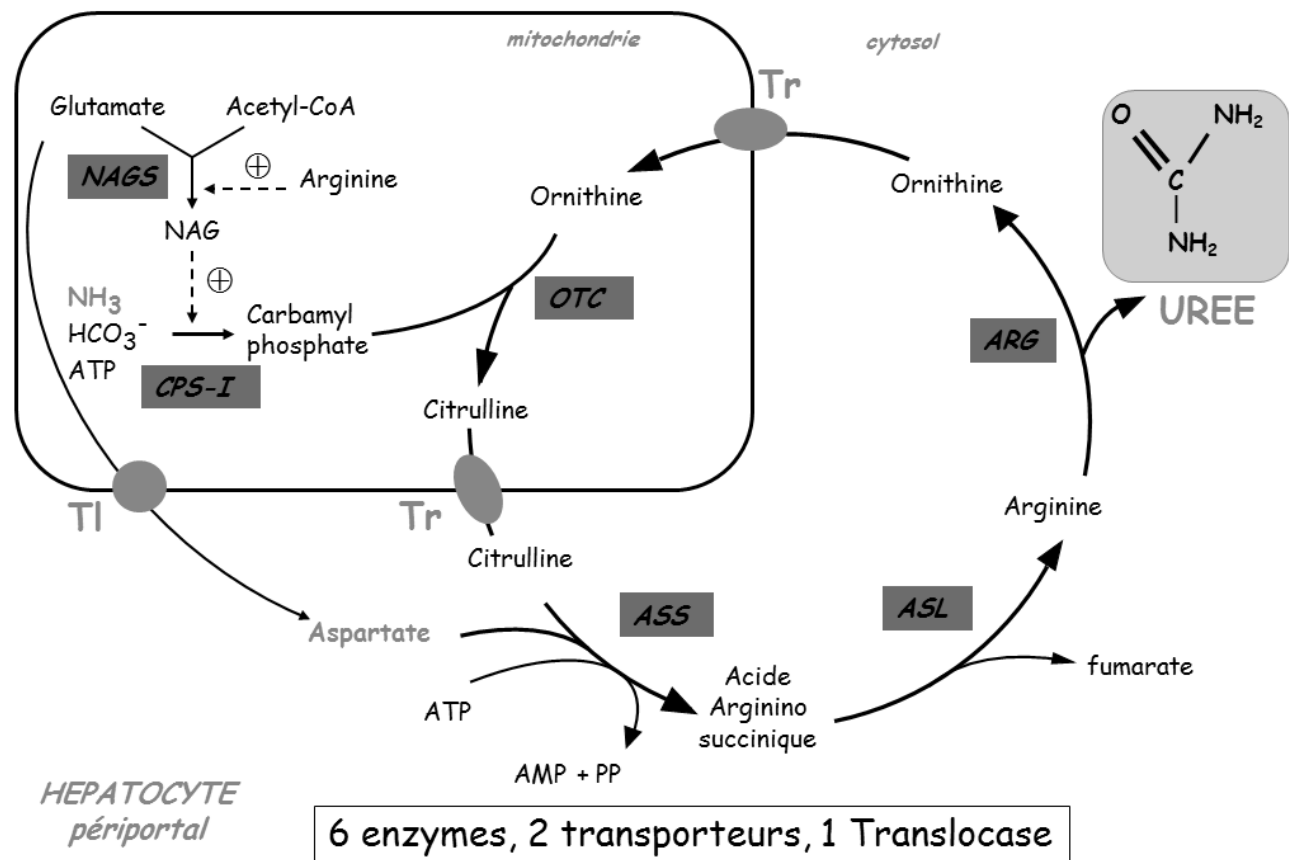
Pour éliminer l'azote, on peut également passer par l'alanine. Dans le muscle, par une réaction de transamination, la glutamine est transformée en alanine qui va alors passer dans le sang. Le foie va alors capter cette alanine et la transformer en pyruvate par transamination puis le pyruvate va donner du glucose. Le groupement amine va être converti sous forme d'urée grâce au cycle de l'urée.



### d) Cycle de l'urée

Le cycle de l'urée prend en charge l'ammoniac issu de la dégradation des groupements azotés des acides aminés. Il fût élucidé par Hans et Kurt Henseleit en 1932 peu de temps avant la description du cycle du citrate (cycle de Krebs) par Hans Krebs. Chez les mammifères, ce cycle se déroule uniquement dans le foie. Deux des cinq réactions ont lieu dans la mitochondrie et les trois autres se déroulent dans le cytosol. C'est pourquoi, le cycle de l'urée requiert la présence de deux transporteurs entre la matrice mitochondriale et le cytosol : le transporteur citrulline-ornithine et la translocase glutamate-aspartate.

Dans le foie au niveau des hépatocytes périportaux, la glutamine est convertie en glutamate et par une glutaminase ceci permet la production de NH<sub>3</sub> qui va pouvoir être pris en charge par le cycle de l'urée. Le cycle de l'urée est la voie préférentielle d'élimination de l'azote en excès. L'urée est une molécule qui possède 2 azote l'un provenant de l'aspartate et l'autre du NH<sub>3</sub>. Cette molécule est neutre, soluble et peu toxique et elle n'a pas de fonction métabolique. Remarque : dans les situations de détresse, on peut boire son urine.



### Enzymes et transporteurs

La N-acétylglutamate synthase catalyse la formation de NAG qui est un stimulateur de l'enzyme suivante qui est la carbamyl-phosphate synthétase I, elle ne participe pas en tant que molécule au cycle de l'urée. Donc la synthèse du carbamyl-P ne fait pas du tout intervenir le NAG, ça dérive directement du NH<sub>3</sub>, du HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> et de l'énergie.

Le NAG a uniquement un rôle activateur sur l'enzyme qui permet la fabrication du carbamyl-P donc le N-acétylglutamate synthase est une enzyme annexe car elle n'intervient pas directement dans le cycle de l'urée.

Il y a donc 5 enzymes dans le cycle de l'urée + 1 enzyme qui fabrique le NAG qui est un activateur et qui est indispensable pour le bon fonctionnement du cycle de l'urée.

Les 5 enzymes de la biosynthèse de l'urée sont la CPS1 (carbamyl-phosphate synthétase I), l'OTC (ornithine transcarbamylase) qui est celle qu'on va retenir essentiellement car le déficit en OTC est une maladie relativement fréquente, et puis l'argininase (ARG), l'arginino-succinate synthase (ASS), l'arginino-succinate lyase (ASL).

On a aussi un transporteur ornithine, un transporteur citrulline, et une translocase glutamate-aspartate.

Il y a deux réactions dans la mitochondrie, et 3 réactions dans le cytosol grâce aux transporteurs et à la translocase glutamate-aspartate.

### Bilan:



Le bilan global du cycle de l'urée : on consomme de l'ATP, on a besoin d'aspartate et de  $\text{NH}_4^+$ . L'urée comporte deux azotes dans sa molécule, le premier venant du  $\text{NH}_3$  et le second venant de l'aspartate.

Pour former l'urée, on a consommé deux liaisons riches en énergie et on a fabriqué de l'AMP, du P Pi et du fumarate.

Ce qui est fondamental dans ce cycle, c'est qu'on a besoin d'arginine sinon on ne synthétise pas l'urée.

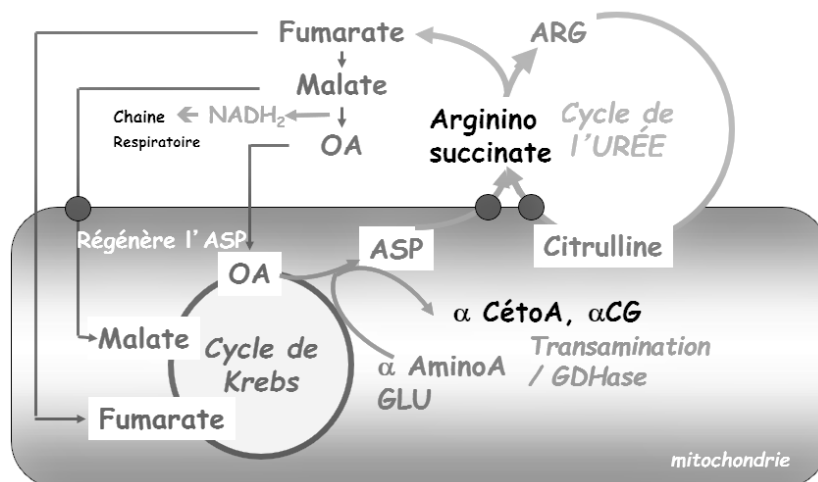
L'arginine est un acide aminé indispensable pour l'Homme non seulement pour la synthèse des protéines mais aussi pour la synthèse de l'urée donc il faut un apport en arginine dans notre alimentation et il faut même s'en servir dans des situations pathologiques où il faut absolument que le cycle de l'urée fonctionne parce qu'il y a trop de réserves de  $\text{NH}_3$ .

le cycle de l'urée est à apprendre.

Si vous voulez la description du cycle de l'urée avec des phrases bien faites, je vous renvoie à la ronéo de l'année dernière.

L'histoire commence à partir du glutamate qui se condense à l'Acétyl-Coa. Cette condensation va former le N-acétyl glutamate (NAG) grâce à la N-acétyl-glutamate synthase (NAGS), cette enzyme étant stimulée par l'arginine. Le NAG stimule la synthèse de carbamyl-phosphate par la carbamyl-P synthétase I à partir du  $\text{NH}_3$ , de bicarbonates et de l'ATP. Le carbamyl phosphate se condense avec l'ornithine grâce à l'ornithine transcarbamylase (OTC) pour former la citrulline. On considère que les deux dernières réactions décrites sont les réactions du cycle ayant lieu dans la mitochondrie. La citrulline sort alors de la mitochondrie grâce à un transporteur pour se combiner avec l'aspartate par une réaction catalysée par l'argino-succinate synthase (ASS). Cette réaction consomme de l'ATP. Il est bon de savoir que l'aspartate est formé à partir du glutamate qui peut sortir de la mitochondrie grâce à une translocase. Nous en sommes à l'acide arginino-succinique qui va être pris en charge par une lyase dissociant cet acide en arginine et fumarate. L'argininase (ARG) va permettre de libérer l'urée porteuse de ses deux azotes et l'ornithine qui va permettre un nouveau cycle. L'ornithine rentrera dans la mitochondrie par un deuxième transporteur, et la boucle est bouclée !

### • Cycle de l'urée est lié au cycle de Krebs



Il est lié au cycle de Krebs par l'oxaloacétate, le fumarate et aussi l'aspartate puisque l'oxaloacétate va donner de l'aspartate. C'est à nous de regarder nous-même la liaison entre les deux cycles (à connaître, le prof considère comme acquis le cycle de Krebs).

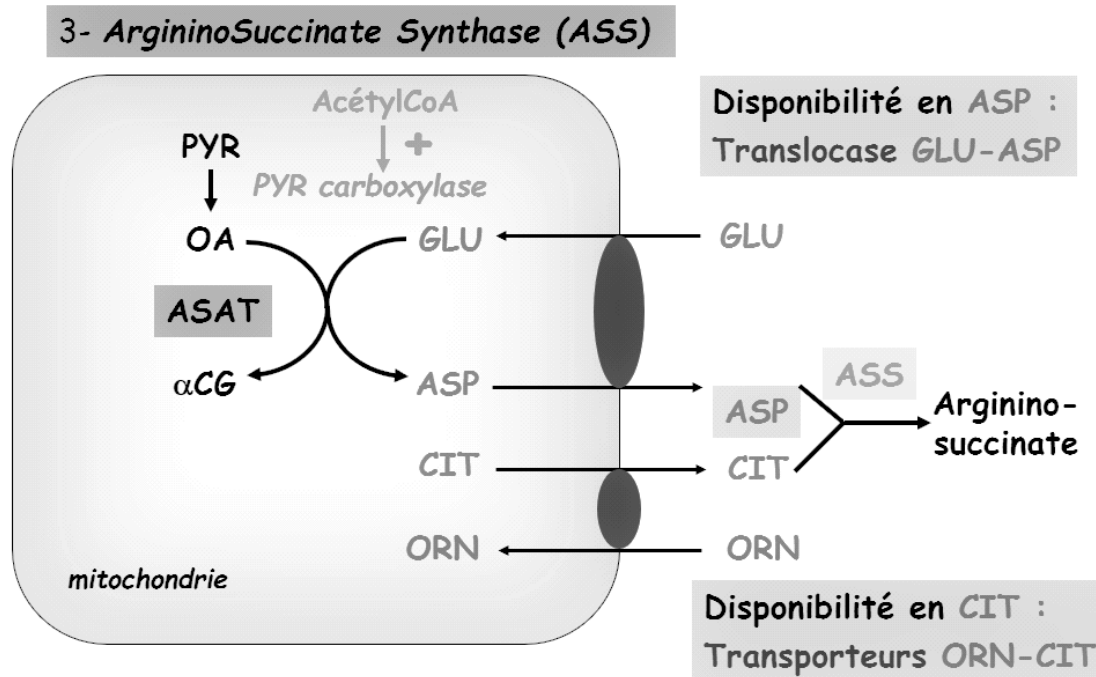
• **Le cycle de l'urée est régulé**

Le cycle de l'urée est régulé par le N-acétylglumate qui est un activateur allostérique de CSPI. Le NAG est formé à partir du GLU et de l'acétyl-CoA grâce à la NAGS qui elle-même est régulée par l'arginine.

Quand on est nourri bien sûr, l'acétyl CoA est fourni à partir du pyruvate mais quand on est à jeun ce sont les AG qui fournissent l'acétyl-CoA.

La carbamyl-P synthétase I est complètement stimulée par le NAG, s'il n'y a pas de NAG, elle ne fonctionne pas donc c'est indispensable.

Si on a une augmentation de la dégradation des protéines, on va augmenter le glutamate (GLU) qui va se combiner à l'acétyl-CoA pour former le NAG, donc augmentation du NAG qui va stimuler la formation de l'urée. C'est la régulation telle qu'on peut la voir au départ du cycle de l'urée.



La régulation ensuite à d'autres niveaux : concernant la deuxième enzyme arginino-succinate synthase, elle a besoin de l'aspartate et de la citrulline pour catalyser la formation d'acide arginino-succinique. Or pour que la réaction puisse se faire, l'aspartate et la citrulline doivent passer la membrane mitochondriale donc elle dépend aussi de l'activité du translocase GLU-ASP et des transporteurs ornithine et citrulline (c'est une autre régulation moins importante que la précédente).

La suite est plus importante à retenir c'est la disponibilité en NAD+, car le rapport NAD+/NADH2 dans la cellule a une importance fondamentale. Ça donne l'état énergétique de la cellule et ça reflète l'activité cellulaire de la chaîne respiratoire. (ATP nécessaire à la production de l'urée)

Un exemple important c'est l'intoxication alcoolique, l'alcool est dégradé par une enzyme qui s'appelle l'alcool déshydrogénase et qui utilise le NAD.

Le NAD<sup>+</sup> est consommé prioritairement pour la détoxification alcoolique, ce qui va faire baisser l'uréogénèse.

Donc rôle fondamental de du ratio NAD/NADH<sub>2</sub>.

Il y a aussi une régulation du taux de synthèse des enzymes comme toujours à tous les niveaux que ce soit au niveau transcriptionnel, au niveau post-transcriptionnel, c'est important.

S'il y a augmentation de synthèse des enzymes du cycle de l'urée, il y a augmentation de l'uréogénèse.

Quand il y a un pool d'acides aminés libres qui augmente, il y a un taux de synthèse des enzymes du cycle de l'urée qui augmente.

Ce pool d'acides aminés libre est augmenté par les régimes hyperprotidiqes (si on mange beaucoup de protéines, on va produire beaucoup d'urée) et par les apports endogènes qui peuvent également augmenter l'uréogénèse (dans les états d'hypercatabolisme des protéines notamment les grands brûlés, les traumatismes et également les cancéreux puisque les cellules cancéreuses consomment beaucoup d'énergie (leucémies)).

## **2.5 REINS: Ammoniogénèse / Equilibre acide/base**

Maintenant le rein: le rein fait de l'ammoniogénèse qui va être en lien étroit avec l'équilibre acido-basique. Le rein va produire du NH<sub>3</sub> et du gluamate à partir de la glutamine transportée dans le sang et de H<sub>2</sub>O grâce à l'enzyme glutaminase.

Ce NH<sub>3</sub> va se combiner à H<sup>+</sup> pour faire du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> qui va être éliminé dans l'urine, cela représente 20 % de l'azote urinaire. Les 80 % restants sont éliminés sous forme d'urée produite par le foie dans l'urine.

L'élimination rénale augmente en cas de jeûne, en cas d'acidose (H<sup>+</sup>augmente), dans les insuffisances hépatiques puisque le cycle de l'urée ne fonctionne plus.

## **2.6 PATHOLOGIE**

### **2.6.1- Hyperammoniémies secondaires**

Une augmentation d'ammoniac (NH<sub>3</sub>) dans le sang s'appelle une hyperammoniémie.

En pathologie, les hyperammoniémies secondaires (plus fréquents) peuvent être causées par des insuffisances hépatiques sévères qui font que le foie ne fonctionne plus correctement.

Les insuffisances hépatiques peuvent être dues à des hépatites aiguës virales, toxiques, à des champignons, à la cirrhose qui est une maladie extrêmement fréquente.

Quand on a une insuffisance aiguë sévère on peut être dans le coma (car le foie n'est plus capable d'éliminer le NH<sub>3</sub> via le cycle de l'urée), ça donne également des signes cliniques comme des myoclonies qui sont des mouvements musculaires qu'on appelle aussi le flapping tremor.

La cirrhose fait saigner (car il y a une baisse du taux de thrombine qui fait que la coagulation ne marche pas).

Le système porte amène tout le sang de l'intestin au foie qui va le filtrer mais si le foie ne marche pas, il y a des shunts porto-caves qui se produisent, c'est-à-dire que le système porte déverse directement le sang dans le système cave, dans ce cas on a une augmentation de NH<sub>3</sub> dans le sang due à l'apport de NH<sub>3</sub> produit par les bactéries des intestins.

La cirrhose est donc une situation catastrophique car non seulement le foie n'est pas capable de synthétiser l'urée et donc d'éliminer le NH<sub>3</sub> qui va augmenter dans le sang mais il y aura aussi des

shunts porto-caves qui vont augmenter le  $\text{NH}_3$  à cause de l'apport de  $\text{NH}_3$  produit dans l'intestin par les bactéries intestinales.

Les traitements thérapeutiques dans la cirrhose c'est de supprimer l'alcool (qui ne suffit souvent pas), de faire un régime pauvre en protéines, de lutter contre le saignement digestif et de faire une décontamination digestive par des antibiotiques pour essayer d'abaisser la production bactérienne de  $\text{NH}_3$ .

Dans les hyperammoniémies secondaires peuvent également être causées par la prématurité, l'acidose, et les anomalies héréditaires du métabolisme.

La prématurité cause une immaturité hépatique des enzymes du cycle de l'urée notamment chez le prématuré ainsi que des défauts de perfusion qui font qu'il y a beaucoup de production d'ammoniaque.

Toutes les situations d'acidose (aussi bien métabolique que respiratoire) sont un défaut d'élimination urinaire du  $\text{NH}_4^+$ .

Les anomalies héréditaires du métabolisme sont des aciduries organiques causées par tous les acides organiques qui vont s'accumuler dans le corps en raison de déficits enzymatiques et qui donnent des acidoses métaboliques.

Et puis les hyperammoniémies secondaires peuvent également être causées par le déficit de la bêta-oxydation et le déficit de la chaîne respiratoire.

## **2.6.2 Hyperammoniémies primaires**

### **a) Déficits en Enzymes du cycle de l'urée**

Les hyperammoniémies primaires sont des maladies héréditaires du métabolisme de l'urée causées par des déficits des enzymes du cycle de l'urée.

Sur OMIM toutes les enzymes ont un numéro à six chiffres, c'est une base de données qui nous donne accès à toutes les enzymes, tous les déficits et toutes les maladies liées aux enzymes.

La transmission de ces déficits enzymatiques est variable, le plus souvent ce sont des déficits à transmission AR.

Il y en a un lié à l'X (c'est le déficit en ornithine transcarbamylase) dont la prévalence est de 1/14000, donc ce n'est pas si rare que ça.

Les autres déficits sont beaucoup plus rares. Le déficit en argininase est un déficit exceptionnel.

### **b) Déficits des Transporteurs et Déficits en enzymes satellites**

Dans les anomalies primaires il y a aussi des déficits des transporteurs (nettement moins fréquents) et puis il y a des déficits des enzymes satellites aussi. (passage rapides)

### **c) Les signes cliniques**

- révélation néonatale

Les signes cliniques sont divisés en 2 groupes, d'abord il y a des révélations néonatales c'est normal car ce sont des déficits AR, ou lié à l'X, ça veut dire qu'il manque beaucoup d'enzymes.

S'il il y en a un peu ou pas du tout, ça donne une révélation néonatale létale (mortelle), et ça donne en général au tableau clinique une léthargie, des vomissements, un coma et une hypothermie. Ça va très mal pour le petit.

- révélation tardive et chez l'adulte

Et puis il y a des révélations plus tardives, même chez l'adulte qui sont graves avec des facteurs déclenchants.

La symptomatologie clinique chronique est composée de signes digestifs et hépatiques, d'une encéphalopathie chronique, d'une atteinte des neurones avec des signes neurologiques qui sont récurrents (chronique) et des signes psychiatriques (mais il faut déjà que ce soit un adulte pour qu'on puisse s'en apercevoir.)

La symptomatologie aiguë est composée des signes neurologiques majeurs et de signes digestifs qui sont extrêmement importants.

#### **d) Les outils de diagnostic**

Les outils diagnostics: on dose l'ammoniémie, c'est un dosage courant (se fait facilement dans les laboratoires) et les conditions préanalytiques sont importantes parce que l'ammoniémie se dose sur des tubes particulières qui sont transportés dans des glaces (comme pour les gaz du sang, le glucose, et l'acide lactique)

*La loi oblige les prescripteurs de bilan biochimique à signer leur prescription. Les médecins à l'hôpital prescrivent des bilans par l'intermédiaire des infirmiers mais ils ne doivent pas oublier de vérifier ce qu'ils ont demandé et si c'est fait correctement.*

L'alcalose respiratoire se mesure grâce aux gaz du sang (on prélève du sang artériel et on mesure les gaz du sang extrêmement rapidement grâce aux automates)

Il y a d'autres analyses qui sont plus compliquées comme la chromatographie des acides aminés plasmatiques et urinaires et qui demandent quelques jours.

La chromatographie des acides organiques peut se faire aussi.

On peut doser aussi l'acide orotique urinaire car le carbamyl-phosphate se transforme en acide orotique qui va se retrouver dans les urines.

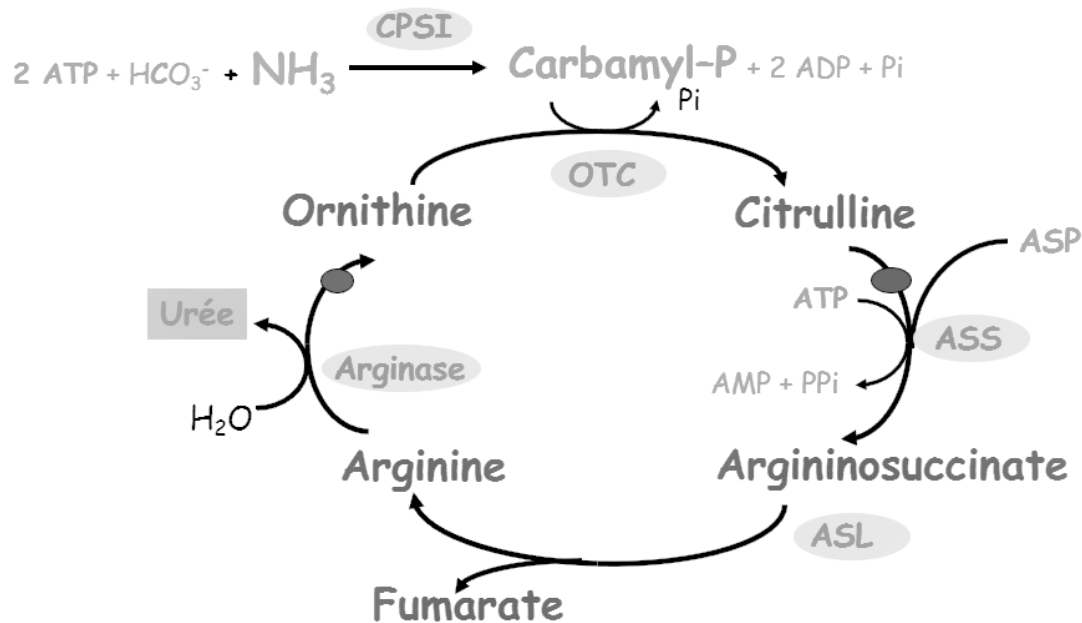
Il y a aussi le test de charge et les dosages enzymatiques bien sûr car on est en présence de déficits enzymatiques. Ça se fait différemment du coup il faut s'adresser à des centres de référence, car les laboratoires de biologie classiques ne mesurent pas l'activité de la CPS et de l'OTC (muqueuse intestinale) et des autres enzymes (ASL et ASS dans les fibroblastes, arginase dans les érythroblastes).

Et puis le dosage enzymatique dépend aussi de la localisation, par exemple toutes les enzymes mitochondriales sont dosées sur des cellules nucléées et pas sur des globules rouges. Les cellules nucléées auxquelles on a facilement accès chez un patient sont les lymphocytes.

Ça peut se faire aussi sur des fibroblastes cutanés prélevés par biopsie cutanée mais il faut les cultiver alors que les lymphocytes (ou globule blanc) sont des cellules faciles d'accès et ça s'isole très facilement sur les gradients de densité.

La biologie moléculaire concerne les études de l'ADN avec notamment le NGS (séquençage à haut débit), de ce fait on arrive à avoir des diagnostics assez rapidement.





Dans les déficits enzymatiques, les métabolites en amont vont s'accumuler. Les déficits en carbamyl-P synthétase I font augmenter le  $\text{NH}_3$ .

Si on passe à l'enzyme suivante, c'est le carbamyl-P qui va s'accumuler et puis après c'est la citrulline, puis l'acide arginino-succinique, puis l'arginine etc. Mais au final c'est l'ammoniaque puisque le cycle de l'urée fonctionne mal.

On a des moyens de diagnostics qui sont différents selon les déficits enzymatiques et on a d'autres moyens pour voir l'élimination des précurseurs du cycle de l'urée.

On fait du diagnostic prénatal de plusieurs manières, soit on étudie le liquide amniotique et ça se fait de préférence avant la 14<sup>ème</sup> semaine parce que si on doit faire une interruption de grossesse on doit la faire dans des délais légaux. Soit on fait en général un diagnostic prénatal sur des villosités choriales en faisant une biopsie des villosités choriales et puis en faisant une analyse de biologie moléculaire.

Les gènes de toutes les enzymes sont connues ( sur OMIM ) avec des mutations décrites dans toutes les maladies. Notamment pour le déficit en OTC, il y a plus de 240 mutations qui sont connues.

Il y a des centres de références maladie rares (CRMR) comme pour la porphyrie (131 centres de référence de maladies rares qui ont été créés en France).

Les CRMR ont des compétences cliniques, biochimiques (analyses des métabolites, enzymes, Biologie Moléculaire).

Le plan national de maladie rare a été déclenché en France en 2004, (on est assez précurseur)il va y avoir un troisième plan qui devait être lancé en juillet.

*Sachez qu'il ne faut pas hésiter à contacter un centre de référence maladies rares. Les médecins ne sont pas obligés de tout savoir mais ils doivent se renseigner.*

### e) Les bases thérapeutiques

Quand on a une hyperammoniémie, il faut baisser la production d'azote.

Si on veut éviter l'azote, il faut d'abord éviter le catabolisme en ayant un apport calorique suffisante et éviter les apports en azote c'est-à-dire un régime pauvre en protéines.

Mais si on a un régime pauvre en protéines, on risque une carence en protéines entraînant une dégradation protéique. Il faut donc jouer sur l'équilibre, cela nécessite donc un apport en acides aminés essentiels qu'on ne peut pas synthétiser.

Ensuite il faut traiter les bactéries intestinales, on utilise souvent la néomycine qui est un antibiotique qui va faire baisser la production du NH<sub>3</sub> intestinal. On a aussi des chélateurs, ce sont le phénylbutyrate et l'acide benzoïque qui simulent une voie métabolique alterne et qui marchent pas si mal.

Et puis on l'a vu il faut avoir un bon apport d'acides aminés essentiels dont l'arginine qui est un acide aminé indispensable dans le cycle de l'urée.

Il faut également épurer l'azote excédentaire par la dialyse c'est-à-dire faire circuler le sang du patient derrière une membrane et puis grâce à au gradient de concentration l'azote et d'autres molécules vont passer à travers la membrane et être éliminé.

On fait essentiellement des dialyses dans le cas d'insuffisance rénale où le rein ne peut pas assurer le rôle de filtre.

Dans l'urine il n'y a pas que l'ammoniac, il y a aussi de l'urée. Comme le rein ne fonctionne pas, il n'y a pas d'urine.

Dans l'insuffisance rénale terminale, le patient ne produit plus d'urine donc il accumule de l'urée.

Même si l'urée n'est pas toxique il a un effet osmotique important, ça peut provoquer des oedèmes donc il faut éliminer quand même l'urée.

### **2.6.3 Maladies rares**

Une maladie est dite rare lorsqu'elle touche moins d'une personne sur 2000 ou 2500.

Pour la France, cela équivaut à moins de 30 000 personnes atteintes d'une même maladie.

Le nombre de maladies rares est estimé à 7000 environ.

Si on multiplie il y a donc plus de 3 millions de personnes atteintes d'une maladie rare en France (ça fait autant que le diabète).

Et il y a plus de 30 millions en Europe, on peut comprendre pourquoi l'Europe se démène pour faire des centres de références et des réseaux de référence. Si un patient se retrouve dans un autre pays, il sait qu'il peut trouver des centres de référence pour leur maladie.

80% des maladies rares sont d'origine génétique. Pour les 20 % soit on n'a pas encore trouvé de gène, soit c'est épigénétique.

Une maladie est dite « orpheline » quand il n'existe pas de traitement pour la soigner, alors que c'est pas le cas pour toutes les maladies rares. Il y a des maladies rares qui ont des médicaments symptomatiques, pas forcément étio-pathologiques (qui traitent la cause).

La définition d'une maladie orpheline n'est donc pas la même que celle d'une maladie rare.

Cependant, une très grande majorité de maladies rares sont des maladies orphelines et inversement. Il s'agit donc de termes qui désignent dans les faits le même groupe de pathologies.

Les maladies rares sont extrêmement diverses, il y a les maladies neuromusculaires, métaboliques, infectieuses, auto-immunes, cancers rares...

65 % sont graves et invalidantes, pour la porphyrie on a au moins 3 qui sont invalidantes.

Les maladies rares posent de nombreuses problématiques : l'accès à l'information (Sites Web, Orphanet, Eurordis...), le suivi médical dans un service expert (CRM), l'absence de traitement, les moyens et les délais de la recherche, l'isolement, la prise en charge sociale, l'accompagnement dans la vie quotidienne lié en particulier au handicap etc. C'est super grave les maladies rares.

## 2.6.4 Cas cliniques

### **Mathieu**

- 1er enfant de parents non consanguins et sans ATCD
- Grossesse, accouchement : N , normal
- 3 mois et demi : introduction d'un lait artificiel (*lait de vache*)
  - Mauvaise prise des biberons (*très important*) -Vomissements irréguliers
  - Mauvaise prise de poids – attribution à la modification du lait qui est mal toléré
- 5 mois :
  - Hospitalisation pour vomissements, anorexie et cassure de la courbe
  - Diagnostic : reflux gastro-oesophagien, *c'est un diagnostic assez fréquent. Chez le nourrisson c'est assez fréquent mais on n'opère pas* . Modification du lait, motilium + polysilane
- 8 mois -Fatigué, refuse de manger – Pousse des hurlements, crise généralisée
- Hospitalisation – Inconscient avec mouvements de pédalage
  - Débord hépatique (1,5 cm) Convulsions
  - Bilan : alcalose respiratoire; NH3 : 410 µmol/l (Normale : 11 à 45 µmol/l)
- Evolution : décès 48 heures plus tard (oedème cérébral)

Déficit en OCT

*La réanimation néonatale est une chose très difficile.*

François 14 ans

- ATCD -Développement staturo-pondéral normal
  - Céphalées intermittentes pas très normal a 14 ans
  - Décès par coma inexpliqué d'un oncle maternel alors âgé de 30 ans (ATCD)
- De J0 à J5 -Céphalées, flou visuel, anorexie, vomissements
  - Examen clinique, NFS (numération formule sanguine: GB, hémogramme), iono, transaminases : normaux
- J6
  - Hallucinations, confusion
  - Hospitalisation en pédiatrie puis en réanimation
- De J7 à J9 -Coma d'aggravation progressive
  - Scanner, PL (ponction lombaire), glycémie, iono, toxico : N
  - Ammoniémie : 344 µmol/l puis 755 µmol/l (Normale : 11 à 45 µmol/l)
  - Traitement : régime sans protéines, alimentation glucido-lipidique, épurateurs
- J9 : décès

Déficit en OCT

Monsieur J... 49 ans

- Pas d'ATCD familiaux et personnels évocateurs - coureur de semi marathon
  - J0 -Vomissements au retour d'un semi marathon
  - De J4 à J6 -Asthénie physique (fatigue intense) suivie d'un épisode de vomissements et de diarrhée
    - stupeur (*il ne répond pas*), ralentissement de la gestuelle, soif
    - Crises d'agitation, agressivité verbale, incoordination psychomotrice, obnubilation, désorientation
- Appel du médecin traitant : refus des soins, déambulation
- J7 à 0 h 00 -Admission aux urgences puis transfert en Neurologie à 12 h 30
    - Obnubilation, somnolence, vomissements, bradypsychie (*ralentissement dans son fonctionnement psychique*), trouble de l'élocution, fixité du regard, stéréotypie gestuelle (*fait toujours les mêmes gestes*), syndrome pyramidal (*atteinte motrice et neurologique*), bâillements
    - Biologie standard normale (*transaminases normales*), pas de cytolysé hépatique, absence de toxiques, PL (*ponction lombaire*) normale, (*pas d'atteinte bactérienne ou virale du LCR, ou une méningite*) alcalose ventilatoire

Suspicion d'état de mal épileptique

- J7 à 22 h —Transfert en Réanimation médicale – test Glasgow à 5/15 (*stimulation neurologique, 15 normal, 1 mort*), hypertonie pyramidale franche (*blocage*), mydriase bilatérale réactive (*dilatation*), oedème cérébral

Encéphalopathie d'étiologie indéterminée

- Hyperammoniémie à 700 µmol/l ! Aggravation rapide

- J10 – Décès du patient – ammoniémie à 1859 µmol/l (Normale : 11 à 45 µmol/l)

Déficit en OCT

### **2.6.5 Quand est -ce qu'on dose l'ammoniémie ?**

Accident aigu neuro-hépto-digestif

Association ou succession de symptômes hépto-digestifs et neuropsychiatriques de présentation subaiguë ou chronique

Tableau monosymptomatique qui ne fait pas sa preuve :

- vomissements, anorexie, cassure de courbe
- anorexie et atteinte hépatique
- retard psychomoteur, épilepsie
- accès d'agitation, agressivité
- syndrome confusionnel isolé
- coma