



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITE NANCY I – HENRI POINCARÉ
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE ET SANTÉ
FACULTE DE MÉDECINE**

N° attribué par la bibliothèque

| | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| | | | | | | | | | |
|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE NANCY I
Discipline : Génie Biologique et Médical
Option Biochimie Clinique et Nutrition

Présentée et soutenue publiquement
Par

FEILLET François

Le 30 Juin 2000



Titre

ADAPTATION METABOLIQUE A LA MALNUTRITION : MODELE DES LIPIDES, DE LA COBALAMINE, DE LA RIBOFLAVINE ET DES ACIDES ORGANIQUES DANS LA MALNUTRITION PROTEINO-ENERGETIQUE DE L'ENFANT ET DANS L'ANOREXIE MENTALE

Directeur de Thèse

Professeur VIDAILHET Michel

Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire en Nutrition – E.P. C.N.R.S 616

Faculté de médecine – Nancy

JURY

Rapporteurs :

Monsieur le Pr INGENBLEEK Yves (Strasbourg)

Monsieur le Pr NAVARRO Jean (Paris)

Examineurs :

Monsieur le Pr BRIEND André (Paris)

Monsieur le Pr GUEANT Jean-Louis (Nancy)

Monsieur le Pr LEONARD James (Londres)

Monsieur le Pr VIDAILHET Michel (Nancy)

"Dieu est, cela suffit"

REMERCIEMENTS

A Mr le Pr Vidailhet,

Nous sommes votre élève depuis notre début en pédiatrie en 1985. Vous nous avez enseigné cette discipline passionnante. Vous nous avez encouragé et soutenu dans l'exercice de la recherche clinique. Nous apprécions votre rigueur et votre immense connaissance dans les domaines de la nutrition et des maladies métaboliques. Vous avez été d'une grande exigence, ce qui nous a fait grandir, et d'une constante attention à l'équilibre de notre vie professionnelle et privée. Sans vous, ce travail n'existerait pas. Veuillez trouver ici, l'expression de notre sincère reconnaissance et de notre profonde affection.

A Mr le Pr Navarro,

Nous avons pu bénéficier depuis le début de notre internat de votre enseignement dans le domaine de la nutrition et de la gastro-entérologie pédiatrique. Nous avons toujours été frappé par l'immensité de votre savoir, de votre capacité à le partager et par votre grande gentillesse. Nous connaissons les lourdes charges qui vous incombent, et nous vous en sommes d'autant plus reconnaissant d'avoir accepté de juger ce travail. Veuillez trouver par ce travail l'expression de notre admiration et de notre profonde reconnaissance.

A Mr le Pr Ingenbleek,

Vous avez, par vos travaux, accompagné toutes nos recherches dans le domaine de la malnutrition, nous sommes très heureux et très honoré que vous ayez accepté de juger ce travail. Veuillez accepter l'expression de notre profonde gratitude.

A Mr le Pr Guéant,

Vous nous avez initié à la recherche fondamentale lors de notre DEA. Vous nous avez toujours soutenu dans nos travaux et nous avons bénéficié de votre expérience dans la genèse et la réalisation de nos études. Veuillez trouver par ce travail, l'expression de notre reconnaissance et de notre sincère amitié.

A Mr le Pr Leonard,

Vous nous avez accueilli dans votre service à Londres pendant un an afin de nous former dans le difficile domaine des maladies métaboliques et de la recherche clinique. Nous vous devons une grande part de ce que nous sommes aujourd'hui. Vous avez accepté de juger ce travail rédigé en français, ce qui nous touche particulièrement. Veuillez trouver ici, l'expression de toute notre gratitude et de notre sincère reconnaissance.

A Mr le Dr Briend,

Nous avons pu vous découvrir par vos travaux tout au long de la rédaction de ce travail. Votre grande expérience de la malnutrition protéino-énergétique nous a été d'une grande aide. Nous sommes particulièrement heureux que vous ayez accepté de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A ma femme Caroline,
Sans elle, rien sur terre ne serait, ce travail non plus.
Qu'elle trouve ici l'expression de tout mon amour.

A nos enfants :
Camille, Marie, Violaine, Valérie, Raphaël, Claire
Ils sont notre joie.

A mes parents,
Qui doivent se demander quand leur fils cessera d'être étudiant,
Qu'ils trouvent ici une preuve de plus de toute ma reconnaissance filiale.

A ma belle-maman,
Qui va maintenant avoir deux "docteurs" en un seul gendre ...
Qu'elle trouve ici l'expression de toute mon affection.

A la fraternité franciscaine de Bitche,
Socle terrestre de notre vie, vous nous avez accueillis avec nos enfants pour nous apporter la joie de
Dieu par le coeur de St François et du Père Marie-Joseph.

A mon frère Roland,
Tu peux être rassuré, la thèse est enfin terminée ! l'eut-elle été sans ta constante préoccupation quand
à la réalisation de ce travail ?

Au Père Aubry et au Père Tierny,
Vous nous avez aidé à voir et à entendre, soyez en infiniment remerciés.

Aux membres du Foyer de Charité de Courset,
Depuis plus de 10 ans nous faisons partie de votre famille. Les moments de joie comme les moments
difficiles vécus ensemble sont les marques de la communion qui nous unit.

A toute ma famille, à tous mes amis,
J'espère pouvoir être, enfin, un peu plus disponible, wait and see ...

Au Pr Monin,
Vous nous avez initié à la recherche et nous travaillons aujourd'hui sous votre responsabilité. Vous
savez comme nous apprécions votre gentillesse et votre souci permanent d'être un faiseur de paix.
Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde amitié.

A tous les membres de la réanimation médicale et de l'hôpital d'enfants de Nancy,
Pour la joie que je partage avec vous dans le soin des enfants qui nous sont confiés.

A la création toute entière, qui est belle.

LISTE DES PUBLICATIONS

- 1 Vitamin B12 status in marastic children
F.FEILLET, J.L.GUEANT, D.LAMBERT, M.DJALLALI, J.P.NICOLAS, M.VIDAILHET
J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr. 1990; 11 : 283-284
- 2 Lipoprotein metabolism in marastic children of Northern Mauritania.
F. FEILLET, H.J. PARA, K. KAMIAN, J.M. BARD, J.C. FRUCHART, M. VIDAILHET
Am.J.Clin.Nutr. 1993; 58 : 484-488
- 3 Levels of riboflavin and related organic acids in children with protein-energy malnutrition.
C.D. CAPO-CHICHI, F.FEILLET, J.L. GUEANT, K. AMOUZOU, N. ZONON, A. SANNI,
E. LEFEBVRE, K. ASSIMADI, M. VIDAILHET
Am.J.Clin.Nutr. 2000 ; 71 : 978-986
- 4 Plasma cholesterol and endogenous cholesterol synthesis during refeeding in anorexia
nervosa.
F FEILLET, C FEILLET-COUDRAY, JM BARD, HJ PARRA, E FAVRE, B KABUTH, JC
FRUCHART, M VIDAILHET.
Clin.Chim.Acta. 2000 ; 294 : 45-56
- 5 Inverse relation between ethylmalonic aciduria and nutritional status in marastic
malnutrition.
F FEILLET, C CAPO-CHICHI, JL GUEANT, E LEFEBVRE, M VIDAILHET.
The Journal of nutritional biochemistry : submitted for publication.

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|------|
| AVANT-PROPOS | I |
| LISTE DES ABBRÉVIATIONS | II |
| TABLE DES ILLUSTRATIONS | V |
| Tableaux | VI |
| Figures | VIII |
| | |
| INTRODUCTION | 1 |
| <u>1. Introduction</u> | |
| | |
| LA MALNUTRITION | 6 |
| <u>2. La malnutrition</u> | 7 |
| <i>2.1. La malnutrition protéino-énergétique de l'enfant</i> | 7 |
| <u>2.1.1. Définition</u> | |
| <u>2.1.2. Epidémiologie de la MPE</u> | |
| <u>2.1.3. Historique</u> | |
| <u>2.1.4. Description clinique</u> | |
| 2.1.4.1. Signes communs aux deux formes | 8 |
| 2.1.4.1.1. L'anthropométrie | |
| 2.1.4.1.2. Sensibilité aux infections | |
| 2.1.4.1.3. Risques liés à la renutrition | |
| 2.1.4.2. Le Marasme | 8 |
| 2.1.4.2.1. Aspects cliniques | |
| 2.1.4.2.2. Physiopathologie du marasme | |
| 2.1.4.3. Le Kwashiorkor | 10 |
| 2.1.4.3.1. Aspects cliniques | |
| 2.1.4.3.1.1. Les lésions de la peau et des phanères | |
| 2.1.4.3.1.2. L'hépatomégalie | |
| 2.1.4.3.1.3. Les troubles psychiques | |
| 2.1.4.3.1.4. La mortalité | |
| 2.1.4.3.2. Physiopathologie du kwashiorkor | |
| <i>2.2. L'anorexie mentale de l'adolescente</i> | 15 |
| <u>2.2.1. Définition</u> | |
| <u>2.2.2. Historique de l'anorexie mentale</u> | |
| <u>2.2.3. Epidémiologie de l'anorexie mentale</u> | |
| <u>2.2.4. Clinique de l'anorexie mentale</u> | |
| 2.2.4.1. Circonstance de découverte | |
| 2.2.4.1.1. L'anorexie | |
| 2.2.4.1.2. L'amaigrissement | |

| | |
|--|----|
| 2.2.4.1.3. L'aménorrhée | |
| 2.2.4.2. Les autres symptômes | |
| 2.2.4.2.1. L'absence de fatigue et l'hyperactivité motrice | |
| 2.2.4.2.2. L'hyperinvestissement scolaire | |
| 2.2.4.2.3. Le mensonge et la manipulation | |
| 2.2.4.3. Les formes cliniques particulières | |
| 2.2.4.4. L'examen clinique | |
| <u>2.2.5. Critères diagnostiques</u> | |
| 2.2.5.1. Les critères de FEIGHNER | |
| 2.2.5.2. Les critères du DSM IV | |
| | |
| <u>3. Les marqueurs de la malnutrition</u> | 19 |
| | |
| <i>3.1. L'anthropométrie</i> | 20 |
| <u>3.1.1. Le poids et la taille</u> | |
| <u>3.1.2. L'indice de corpulence ou BMI</u> | |
| <u>3.1.3. Le périmètre brachial</u> | |
| <u>3.1.4. Le rapport périmètre brachial / périmètre crânien</u> | |
| | |
| <i>3.2 Les marqueurs protéiques de la malnutrition</i> | 24 |
| <u>3.2.1. Les marqueurs protéiques urinaires</u> | |
| <u>3.2.2. Les marqueurs protéiques sanguins</u> | |
| 3.2.2.1. Les protides totaux | |
| 3.2.2.2. L'albumine | |
| 3.2.2.3. La Préalbumine | |
| 3.2.2.4. La Transferrine | |
| 3.2.2.5. La Retinol Binding Protein (RBP) | |
| 3.2.2.6. Les protéines marqueurs de l'état inflammatoire | |
| | |
| <i>3.3. Les acides aminés plasmatiques</i> | 27 |
| <u>3.3.1. Définition</u> | |
| <u>3.3.2. Les acides aminés essentiels et non essentiels</u> | |
| <u>3.3.3. Les taux plasmatiques des acides aminés (AA)</u> | |
| <u>3.3.4. L'aminogramme plasmatique dans la malnutrition</u> | |
| | |
| <u>4. Les paramètres étudiés</u> | 29 |
| | |
| <i>4.1. Les lipides</i> | 31 |
| <u>4.1.1. Intérêt des lipides dans la malnutrition</u> | |
| <u>4.1.2. Nature biochimique des lipides</u> | |

| | |
|--|-----------|
| 4.1.2.1. Les acides gras (AG) | |
| 4.1.2.2. Les stérols | |
| 4.1.2.3. Les phospholipides | |
| 4.1.3. Le métabolisme des lipides circulants | 34 |
| 4.1.3.1. Les Lipoprotéines | |
| 4.1.3.1.1. Historique des lipoprotéines | |
| 4.1.3.1.2. Les chylomicrons (CM) | |
| 4.1.3.1.3. Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) | |
| 4.1.3.1.4. Les lipoprotéines à densité intermédiaire (IDL) | |
| 4.1.3.1.5. Les lipoprotéines de faible densité (LDL) | |
| 4.1.3.1.6. Les lipoprotéines de forte densité | |
| 4.1.3.1.6.1. <i>La synthèse des HDL</i> | |
| 4.1.3.1.6.2. <i>Transformation des précurseurs en HDL sphériques</i> | |
| 4.1.3.1.6.3. <i>Modification intra-vasculaire des HDL</i> | |
| 4.1.3.1.6.4. <i>Rôle des HDL</i> | |
| 4.1.3.1.6.5. <i>Catabolisme des HDL</i> | |
| 4.1.3.1.7. La Lipoprotéine Lp(a) | |
| 4.1.3.2. Les Apolipoprotéines | 41 |
| 4.1.3.2.1. Les Apoprotéines A | 43 |
| 4.1.3.2.1.1. <i>L'apoprotéine A I</i> | |
| 4.1.3.2.1.2. <i>L'apoprotéine A II</i> | |
| 4.1.3.2.1.3. <i>L'apoprotéine A III</i> | |
| 4.1.3.2.1.4. <i>L'apoprotéine A IV</i> | |
| 4.1.3.2.2. Les Apoprotéines B | 43 |
| 4.1.3.2.2.1. <i>L'apoprotéine B48</i> | |
| 4.1.3.2.2.2. <i>L'apoprotéine B100</i> | |
| 4.1.3.2.3. L'Apoprotéine (a) | 44 |
| 4.1.3.2.4. Les Apoprotéines C | |
| 4.1.3.2.4.1. <i>L'apoprotéine C I</i> | |
| 4.1.3.2.4.2. <i>L'apoprotéine C II</i> | |
| 4.1.3.2.4.3. <i>L'apoprotéine C III</i> | |
| 4.1.3.2.5. L'Apoprotéine D ou Apo A III | 45 |
| 4.1.3.2.6. L'Apoprotéine E | |
| 4.1.3.2.7. Les autres apoprotéines | 46 |
| 4.1.3.3. Les enzymes du métabolisme lipidique | |
| 4.1.3.3.1. La Lipoprotéine lipase (LPL) | |
| 4.1.3.3.2. La Lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT) | 47 |
| 4.1.3.3.3. La Triglycéride lipase | 48 |
| 4.1.3.4. Evolution du concept des lipoprotéines | |

| | |
|--|----|
| <u>4.1.4. Les lipides et la MPE</u> | 51 |
| 4.1.4.1. Les apports et leur absorption | |
| 4.1.4.2. Le tissu adipeux | |
| 4.1.4.3. Contenu en lipides du foie | |
| 4.1.4.4. Pathogénie de la stéatose hépatique | 52 |
| 4.1.4.5. Taux plasmatiques des lipides | |
| 4.1.4.5.1. Le kwashiorkor | 53 |
| 4.1.4.5.1.1. <i>Les lipides totaux</i> | |
| 4.1.4.5.1.2. <i>Le cholestérol</i> | |
| 4.1.4.5.1.3. <i>Les triglycérides (TG)</i> | |
| 4.1.4.5.1.4. <i>Les phospholipides</i> | |
| 4.1.4.5.1.5. <i>Les acides gras libres (AGL)</i> | |
| 4.1.4.5.2. Le marasme | 54 |
| 4.1.4.5.2.1. <i>Les lipides totaux</i> | |
| 4.1.4.5.2.2. <i>Le cholestérol</i> | |
| 4.1.4.5.2.3. <i>Les triglycérides</i> | |
| 4.1.4.5.2.4. <i>Les phospholipides</i> | |
| 4.1.4.5.2.5. <i>Les acides gras libres</i> | |
| 4.1.4.5.3. Les lipides dans l'anorexie mentale | 55 |
| | |
| 4.2. <i>La cobalamine ou vitamine B12</i> | 56 |
| <u>4.2.1. Rappel historique</u> | |
| <u>4.2.2. Structure de la cobalamine et de ses dérivés</u> | |
| 4.2.2.1. La cobalamine | |
| 4.2.2.2. Les analogues de la cobalamine | |
| <u>4.2.3. Les Transcobalamines</u> | |
| 4.2.3.1. Les protéines R ou Haptocorrine (Hc) | |
| 4.2.3.2. La transcobalamine II (TC II) | |
| <u>4.2.4. Devenir de la vitamine B12</u> | 57 |
| <u>4.2.5. Rôles physiologiques de la vitamine B12</u> | 58 |
| 4.2.5.1. La méthylation de l'homocystéine en méthionine | |
| 4.2.5.2. L'isomérisation du méthylmalonyl CoA | |
| <u>4.2.6. Besoins journaliers et réserves en cobalamine</u> | 59 |
| <u>4.2.7. La carence en cobalamine</u> | |
| 4.2.7.1. Causes de la carence en cobalamine | |
| 4.2.7.1.1. Les défauts d'absorption | |
| 4.2.7.1.2. Les défauts d'apport | |
| 4.2.7.2. Les conséquences de la carence en cobalamine | 61 |
| 4.2.7.2.1. Les conséquences cliniques | |
| 4.2.7.2.2. Les conséquences biologiques | |

| | |
|---|----|
| <u>4.2.8. Les études sur la cobalamine dans la malnutrition</u> | 62 |
| 4.3. <i>La Riboflavine ou vitamine B2</i> | 64 |
| <u>4.3.1. Rappel historique</u> | |
| <u>4.3.2. Structure de la riboflavine et de ses cofacteurs</u> | |
| <u>4.3.3. Sources de la riboflavine</u> | 66 |
| <u>4.3.4. Métabolisme de la riboflavine</u> | |
| 4.3.4.1. Absorption | |
| 4.3.4.2. Distribution | |
| 4.3.4.3. Elimination | |
| 4.3.4.4. Les enzymes de la synthèse des cofacteurs flaviniques | |
| 4.3.4.4.1. La riboflavine kinase ou flavokinase (EC 2.7.1.2.6) | |
| 4.3.4.4.2. La FAD synthétase ou FMN adényltransférase ou FAD pyrophosphorylase (EC 2.7.7.2.1.) | |
| <u>4.3.5. Rôles physiologiques de la riboflavine</u> | 67 |
| <u>4.3.6. La carence en riboflavine</u> | 68 |
| 4.3.6.1. Les causes de la carence en riboflavine | |
| 4.3.6.2. Les conséquences de la carence en riboflavine | |
| 4.3.6.2.1. Les conséquences cliniques | |
| 4.3.6.2.2. Les conséquences biologiques | |
| <u>4.3.7. Les études sur la riboflavine dans la malnutrition</u> | |
| 4.4. <i>Les acides organiques</i> | 70 |
| <u>4.4.1. Définition</u> | |
| <u>4.4.2. Origine des acides organiques</u> | |
| <u>4.4.3. Structure des acides organiques</u> | |
| 4.4.3.1. Les acides monocarboxyliques non aromatiques | |
| 4.4.3.1.1. Les acides hydroxy-monocarboxyliques | |
| 4.4.3.1.2. Les acides α -céto-monocarboxyliques | |
| 4.4.3.1.3. Les monocarboxylglycines | |
| 4.4.3.2. Les acides dicarboxyliques | |
| 4.4.3.2.1. Les acides hydroxy-dicarboxyliques | |
| 4.4.3.2.2. Les acides α céto-dicarboxyliques | |
| 4.4.3.2.3. Les dicarboxyl-glycines | |
| <u>4.4.4. Etiologies des aciduries organiques</u> | 72 |
| <u>4.4.5. Toxicité des acides organiques</u> | |
| <u>4.4.6. Modalité d'élimination des acides organiques</u> | |
| <u>4.4.7. Les acides organiques dans la malnutrition</u> | |

| | |
|--|----|
| METHODES | 74 |
| <u>5. Etudes personnelles</u> | 75 |
| 5.1. <i>But des études</i> | |
| 5.2. <i>Les populations étudiées</i> | 75 |
| <u>5.2.1. Les études réalisées dans le Nord Mauritanien</u> | |
| <u>5.2.2. L'étude réalisée chez les enfants du Togo et du Bénin</u> | |
| <u>5.2.3. L'étude réalisée chez les jeunes filles atteintes d'anorexie mentale</u> | |
| 5.3. <i>L'anthropométrie</i> | 77 |
| 5.4. <i>Biologie</i> | 77 |
| <u>5.4.1. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire</u> | |
| <u>5.4.2. Les acides aminés plasmatiques</u> | |
| <u>5.4.3. Les dosages hormonaux</u> | 78 |
| 5.4.3.1. Les hormones thyroïdiennes | |
| 5.4.3.2. ACTH, cortisol et oestradiol | |
| <u>5.4.4. La cobalamine, ses transporteurs et ses analogues</u> | 79 |
| 5.4.4.1. Dosage de la CLF et des transcobalamines par technique radio-isotopique | |
| 5.4.4.1.1. Principe du dosage | |
| 5.4.4.1.2. Technique de dosage | |
| 5.4.4.2. Dosages de la vitamine B12 (cobalamine) et de ses analogues | |
| 5.4.4.2.1. Principe de dosage | |
| 5.4.4.2.2. Technique de dosage | |
| 5.4.4.3. Les transcobalamines saturées | |
| <u>5.4.5. Dosage de la Rivoflavine et de ses cofacteurs</u> | 80 |
| 5.4.5.1. Extraction de la riboflavine plasmatique | |
| 5.4.5.2. Analyse en HPLC de la riboflavine et des cofacteurs | |
| <u>5.4.6. Les acides organiques urinaires</u> | 80 |
| 5.4.6.1. Dosage de la créatinine urinaire | |
| 5.4.6.2. Extraction des acides organiques | |
| 5.4.6.3. Dérivation des acides organiques | |
| 5.4.6.4. Séparation, analyse et quantification des acides organiques | |
| <u>5.4.7. Les lipides</u> | 82 |
| 5.4.7.1. Le cholestérol | |
| 5.4.7.1.1. Le cholestérol total | |
| 5.4.7.1.2. Le HDL cholestérol | |
| 5.4.7.1.3. Le LDL cholestérol | |
| 5.4.7.2. Les triglycérides | |

| | |
|---|-----------|
| 5.4.7.3. Les apoprotéines | |
| 5.4.7.4. Dosage des particules lipoprotéiques | |
| 5.4.7.4.1. Principe du dosage de la Lp A1-A2 | |
| 5.4.7.5 Le dosage du Lathostérol | |
| 5.5. Les enquêtes nutritionnelles | 85 |
| <u>5.5.1. Enquête nutritionnelle pour la population malnutrie de Mauritanie</u> | |
| <u>5.5.2. Enquête nutritionnelle dans les populations malnutries du Bénin et du Togo</u> | |
| <u>5.5.3. Enquête nutritionnelle dans le cadre de l'anorexie mentale</u> | |
| 5.6. Analyse statistique | 86 |
| <u>5.6.1. Etude sur la vitamine B12 et ses transporteurs dans la MPE</u> | |
| <u>5.6.2. Etude sur les acides organiques et la MPE</u> | |
| <u>5.6.3. Etude sur la riboflavine et la MPE</u> | |
| <u>5.6.4. Etude des lipides dans la MPE</u> | |
| <u>5.6.5. Etude sur les lipides dans l'anorexie mentale</u> | |
| RESULTATS | 88 |
| 6.1. Etude cobalamine et MPE du Nord Mauritanien | 89 |
| <u>6.1.1. Anthropométrie</u> | |
| <u>6.1.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire</u> | |
| <u>6.1.3. Les acides aminés plasmatiques</u> | 90 |
| <u>6.1.4. Les enzymes hépatiques : ASAT et ALAT</u> | 92 |
| <u>6.1.5. La vitamine B12, les transcobalamines et les analogues de la vitamine B12</u> | |
| <u>6.1.6. Analyse du statut en Cbl au sein du groupe des malnutris selon les paramètres nutritionnels et inflammatoires</u> | 95 |
| <u>6.1.7. Analyse des index nutritionnel et inflammatoire en fonction du taux de B12 dans le groupe patient.</u> | 96 |
| <u>6.1.8. Analyse des index nutritionnel et inflammatoire en fonction des taux de Cbl et des taux de coefficient de saturation de la TC II (CS TC II)</u> | 98 |
| 6.2. Etude des acides organiques dans la MPE de l'enfant | 99 |
| <u>6.2.1. L'anthropométrie</u> | |
| <u>6.2.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire</u> | |
| <u>6.2.3. Les acides aminés plasmatiques</u> | 100 |
| <u>6.2.4. Les acides organiques urinaires</u> | 104 |

| | |
|--|-----|
| 6.3. Résultats de l'étude Riboflavine et ses cofacteurs dans la MPE de l'enfant | 107 |
| <u>6.3.1. Les enquêtes alimentaires</u> | |
| <u>6.3.2. Evaluation de l'état nutritionnel</u> | |
| <u>6.3.3. Evaluation des protéines marqueurs des états nutritionnels et inflammatoires et des acides aminés plasmatiques</u> | |
| <u>6.3.4. Evaluation de la Thyrotropine (TSH) et des hormones thyroïdiennes plasmatiques</u> | 109 |
| 6.3.4.1. Corrélations entre les protéines plasmatiques et la T3 | |
| <u>6.3.5. Etude de la riboflavine et de ses cofacteurs dans le plasma et les érythrocytes</u> | 112 |
| 6.3.5.1. Profils chromatographiques de la riboflavine et de ses cofacteurs plasmatiques (FMN et FAD) | |
| 6.3.5.2. Résultats des vitamines B2 | |
| <u>6.3.6. Relation entre la concentration en riboflavine et les protéines plasmatiques et la triiodothyronine</u> | 113 |
| <u>6.3.7. Relation entre la concentration en riboflavine et la T3 plasmatique</u> | |
| <u>6.3.8. Etudes des acides organiques urinaires à chaîne courte et moyenne</u> | 116 |
| | |
| 6.4 Résultats de l'étude des lipides dans la MPE | 117 |
| <u>6.4.1. L'anthropométrie</u> | |
| <u>6.4.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire</u> | |
| <u>6.4.3. L'enquête alimentaire</u> | |
| <u>6.4.4. Le bilan lipidique</u> | 118 |
| 6.4.4.1. Le cholestérol et ses sous-fractions LDL et HDL | |
| 6.4.4.2. Les triglycérides, les apo C III et E, et les Lp C III:B et E:B | |
| 6.4.4.3. Influence des paramètres nutritionnels et inflammatoires | 121 |
| | |
| 6.5. Résultats de l'étude sur le bilan lipidique au cours de la renutrition dans l'anorexie mentale (AM) | 125 |
| <u>6.5.1. L'anthropométrie</u> | |
| <u>6.5.2. Bilan protéique et endocrinologique</u> | |
| <u>6.5.3. Bilan lipidique</u> | 126 |
| 6.5.3.1. Le cholestérol et ses paramètres | |
| 6.5.3.2. Les triglycérides, l'apo E et l'apo B, la Lp C III:B et la Lp E:B chez les patients | 128 |
| <u>6.5.4. Corrélations entre les paramètres nutritionnels et les éléments du bilan lipidique</u> | |

| | |
|--|-----|
| DISCUSSIONS | 131 |
| <i>7.1. Etude de la Cobalamine, de ses transporteurs et des analogues de la vitamine B12 dans la MPE de l'enfant</i> | 132 |
| <i>7.2. Etude des acides organiques (AO) dans la MPE de l'enfant</i> | 138 |
| <i>7.3. Etude de la Riboflavine et des flavocoenzymes dans la MPE de l'enfant</i> | 142 |
| <i>7.4. Etude sur le bilan lipidique dans la MPE de l'enfant</i> | 147 |
| <u>7.4.1. L'anthropométrie</u> | |
| <u>7.4.2. Le bilan protéique nutritionnel et inflammatoire</u> | |
| <u>7.4.3. Le bilan lipidique</u> | |
| 7.4.3.1. Le cholestérol et ses paramètres | |
| 7.4.3.2. Les triglycérides et leurs paramètres | |
| <i>7.5. Etude sur le bilan lipidique dans l'anorexie mentale (AM)</i> | 155 |
| <i>7.6. Discussion générale</i> | 159 |
| CONCLUSION | 162 |
| BIBLIOGRAPHIE | 164 |
| PUBLICATIONS | 210 |

AVANT PROPOS

L'opportunité d'effectuer notre service national en Mauritanie pendant que nous faisons notre internat de pédiatrie nous a conduit tout naturellement à nous intéresser à la malnutrition de l'enfant. Pendant un an nous avons été confronté à la réalité de la malnutrition protéino-énergétique (MPE) à NOUADHIBOU, ville du Nord Mauritanien. Grâce à l'appui de plusieurs services (pédiatrie et biochimie pédiatrique) du CHU de Nancy nous avons pu effectuer plusieurs études sur les lipides, les cobalamines et les acides organiques dans une population d'enfants marastiques pris en charge à l'hôpital de Nouadhibou.

Initialement, l'objectif était de mettre en évidence un déficit vitaminiq ue en cobalamine chez les patients les plus gravement atteints et objectiver ce déficit par l'étude des acides organiques urinaires en particulier en recherchant l'excrétion d'acide méthylmalonique qui s'accumule en cas de déficit en méthylmalonyl CoA mutase dont le cofacteur indispensable est l'adénosylcobalamine. Non seulement nous n'avons pas trouvé d'excrétion anormale d'acide méthylmalonique dans les urines mais nous avons observé par contre, chez 28% de ces enfants l'excrétion urinaire d'acides éthylmalonique et adipique. Ces deux derniers métabolites sont des marqueurs d'un éventuel déficit en riboflavine chez ces patients.

Ces éléments nous ont conduit à étudier en collaboration avec le Dr Capo-ChiChi le statut en riboflavine et les acides organiques dans deux autres populations africaines d'enfants atteints de malnutrition protéino-énergétique (MPE) et dans une population de jeunes filles atteintes d'anorexie mentale (AM). Nous avons alors observé l'absence de déficit en riboflavine chez les enfants porteurs de MPE, par contre les acides organiques en excès (marqueurs du déficit en riboflavine) étaient présents chez les enfants les moins malnutris. Cette étude a été effectuée chez les jeunes filles atteintes d'anorexie mentale avec des résultats similaires.

En parallèle à ces études sur le statut en vitamine lors de la malnutrition nous avons étudié le bilan lipidique (triglycérides, cholestérol, apoprotéines et particules lipoprotéiques) chez les enfants marastiques de Mauritanie et chez les jeunes filles porteuses d'anorexie mentale (en ajoutant le dosage du lathostérol, marqueur de la synthèse endogène du cholestérol). Nous avons observé des anomalies à type de cholestérol bas en cas de MPE et de cholestérol élevé chez les jeunes filles AM les plus gravement malnutries. Cette anomalie pourrait être en rapport avec l'hypothyroïdie classiquement observée dans les formes graves d'anorexie mentale.

L'hypothyroïdie se voit également dans la MPE et explique une part des anomalies que nous avons observées dans le statut en riboflavine de ces enfants. A la lumière de ces résultats nous nous sommes interrogés sur ces paradoxes apparents (absence de déficit vitaminiq ue et cholestérol élevé chez les patients les plus gravement malnutris), qui doivent être le reflet d'une adaptation métabolique de l'organisme à la malnutrition, l'hypothyroïdie que l'on retrouve dans tous ces cas étant un de ces moyens d'adaptation de l'organisme quand il se trouve en situation de carence énergétique chronique.

LISTE DES ABBREVIATIONS

| | |
|----------------------|---|
| AA : | Acide aminé |
| AA E : | Acides aminés essentiels |
| AA NE : | Acides aminés non essentiels |
| Acyl-CoA DH : | Acyl-coenzyme A déshydrogénases |
| AdoCbl : | Adénosyl-cobalamine |
| AFB 1 : | Aflatoxine B1 |
| AG : | Acides Gras |
| AGL : | Acides Gras Libres |
| ALA : | Alanine |
| ALAT : | Alcaline aminotransférase |
| ALB : | Albumine |
| AM : | Anorexie Mentale |
| AMM : | Acide Méthylmalonique |
| AMPc : | AMP cyclique |
| AO : | Acides Organiques |
| Apo : | Apoprotéine |
| ARG : | Arginine |
| ARNm : | ARN messenger |
| ASAT : | Aspartate aminotransférase |
| ATP : | Adénosine-tri-phosphate |
| BMI : | Body mass index (Indice de corpulence ou de Quetelet) |
| BSA : | Sérum albumine bovine |
| Cbl : | Cobalamine |
| CH3 Cbl : | Méthyl cobalamine |
| CHU : | Centre Hospitalier Universitaire |
| CLF : | Capacité latente de fixation |
| CLHP : | Chromatographie liquide haute performance |
| CM : | Chylomicron |
| CnCbl : | Cyano cobalamine |
| CoA : | Coenzyme A |
| CRP : | C-réactive protéine |
| DE 52 : | Gel de DEAE cellulose |
| DNA : | Acide désoxyribonucléotide |
| DSM IV : | Diagnostic and statistical manual of mental disorders |
| EDTA : | Ethylène-diamine-tétra-acétique |
| EMA : | Acide éthylmalonique |
| ETF : | Electron transfer protein |
| FABP : | Fatty acid binding protein |

| | |
|------------------|--|
| FAD : | Flavine adénine dinucléotide |
| FAOx : | Fatty acid oxidation |
| FI : | Facteur intrinsèque |
| FMN : | Flavine mononucléotide |
| GB : | Globules blancs |
| GAG : | Glycosamino glycanes |
| GF : | Galactoflavine |
| GLU : | Glutamine |
| GLY : | Glycine |
| Hc : | Haptocorrine |
| HDL : | High density lipoprotein |
| HMG CoA : | Hydroxy methyl glutaryl coenzyme A réductase |
| IDL : | Intermediary Density Lipoprotein |
| IGF 1 : | Insulin growth factor I |
| I Infl : | Index inflammatoire |
| ILE : | Isoleucine |
| I Nutr : | Index nutritionnel |
| KCN : | Cyanure de potassium |
| K : | Kwashiorkor |
| K-M : | Kwashiorkor-Marasme |
| LCAT : | Lécithine cholestérol acyl transférase |
| LCR : | Liquide céphalo-rachidien |
| LDL : | Low Density Lipoprotein |
| LEU : | Leucine |
| Lp(a) : | Lipoprotéine a |
| Lp : | Lipoprotéine |
| LPL : | Lipoprotéine lipase |
| LYS : | Lysine |
| M : | Marasme |
| MeCbl : | Méthyl-cobalamine |
| Mg 2+ : | Magnésium |
| MPE : | Malnutrition protéino-énergétique |
| 5-MTHF : | 5-méthyl-tétrahydrofolate |
| MTHFR : | Méthyl-tétrahydrofolate réductase |
| NENDC : | Nutrition entérale nocturne à débit constant |
| NCHS : | National Center for Health Statistics |
| OHCbl : | Hydroxo-cobalamine |
| OMS : | Organisation mondiale de la santé |
| Oroso : | Orosomucoïde |
| PB : | Périmètre brachial |

| | |
|-------------------|---|
| PC : | Périmètre crânien |
| PCU : | Phénylcétonurie |
| PINI : | Index pronostic nutritionnel et inflammatoire |
| PHE : | Phénylalanine |
| PM : | Poids moléculaire |
| PP : | Pyrophosphate |
| Préalb : | Préalbumine |
| QUSO G32 : | Suspension de silice |
| RBP : | Retinol Binding Protein |
| Rf : | Riboflavine |
| RNA : | Acide ribonucléique |
| SER : | Sérine |
| SIDA : | Syndrome de l'immunodéficience acquise |
| T : | Témoins |
| TC : | Transcobalamine |
| TCM : | Triglycérides à chaînes moyennes |
| TG : | Triglycérides |
| THRE : | Thréonine |
| TLH : | Triglycérides lipase hépatique |
| TTR : | Transthyrétine |
| TRP : | Tryptophane |
| U B12 BC : | Unsaturated B12 binding capacity |
| VAL : | Valine |
| VLDL : | Very Low Density Lipoprotein |

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLEAUX

| | |
|---|-----|
| Tableau 1 : Caractéristiques des deux formes principales de MPE | 11 |
| Tableau 2 : Classification de la malnutrition selon GOMEZ (1956) | 20 |
| Tableau 3 : Classification de la malnutrition selon JELLIFFE (1966) | 20 |
| Tableau 4 : Classification de la malnutrition selon WELLCOME (1970) | 21 |
| Tableau 5 : Périmètre brachial pour l'enfant de 1 à 5 ans | 22 |
| Tableau 6 : Évaluation de l'état nutritionnel en fonction du rapport PB / PC | 23 |
| Tableau 7 : Caractéristiques physiques et compositions, exprimées en %, des lipoprotéines plasmatiques (DOLPHIN 1984) | 37 |
| Tableau 8 : Caractéristiques essentielles des apoprotéines | 42 |
| Tableau 9 : Répartition des apoprotéines au sein de chaque lipoprotéine | 42 |
| Tableau 10 : Contenu en cobalamine de différents aliments | 59 |
| Tableau 11 : Causes et mécanismes principaux des défauts d'absorption de la vitamine B12 | 60 |
| Tableau 12 : Sources de la riboflavine (Rf) | 66 |
| Tableau 13 : Anthropométrie des patients et des témoins | 89 |
| Tableau 14 : Protéines nutritionnelles et inflammatoires chez les patients et les témoins | 89 |
| Tableau 15 : Acides aminés plasmatiques chez les patients et les témoins et en fonction des valeurs de vitamine B12 chez les témoins | 91 |
| Tableau 16 : Hématocrite et corrinoïdes sériques chez les patients et les témoins | 92 |
| Tableau 17 : Transcobalamine II chez les patients et les témoins | 93 |
| Tableau 18 : Transcobalamine I et III chez les patients et les témoins | 93 |
| Tableau 19 : Statut en cobalamine, en analogues et en transcobalamines insaturées en fonction de l'état nutritionnel, inflammatoire et du sevrage | 96 |
| Tableau 20 : Anthropométrie des patients et des témoins | 99 |
| Tableau 21 : Protéines nutritionnelles et inflammatoires chez les patients et les témoins | 100 |
| Tableau 22 : Acides aminés plasmatiques chez les témoins et les patients et chez les sous-groupes de ceux-ci selon qu'ils excrètent ou non de l'acide éthylmalonique (EMA) | 101 |
| Tableau 23 : Les acides organiques urinaires chez les patients et les témoins | 104 |
| Tableau 24 : Pourcentage des enfants prenant les aliments décrits dans les enquêtes alimentaires | 107 |
| Tableau 25 : Anthropométrie des groupes Bénin-Togo, des groupes marasme-kwashiorkor et des témoins | 108 |

| | |
|---|-----|
| Tableau 26 : Les concentrations des marqueurs de l'état nutritionnel et inflammatoire chez les enfants malnutris et les témoins | 109 |
| Tableau 27 : Concentration plasmatique en hormones thyroïdiennes et en thyrotropine chez les enfants malnutris et les témoins | 110 |
| Tableau 28 : Concentration plasmatique et érythrocytaire de la riboflavine et de ses cofacteurs chez les enfants malnutris et les témoins | 113 |
| Tableau 29 : Excrétion urinaire en acides organiques à chaîne courte et moyenne chez les enfants malnutris et les témoins | 116 |
| Tableau 30 : Anthropométrie des patients et des témoins (Résultats Lipides dans la MPE) | 117 |
| Tableau 31 : Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire | 117 |
| Tableau 32 : Etude du cholestérol et des paramètres se rapportant à ses sous-fractions HDL et LDL chez les patients et les témoins et en fonction du BMI | 118 |
| Tableau 33 : Etude du cholestérol et des paramètres se rapportant à ses sous-fractions HDL et LDL en fonction des index nutritionnels et inflammatoires | 118 |
| Tableau 34 : Rapports apo A I / apo A II, HDL chol / apo A I et apo A I / Lp A I: A II chez les patients et les témoins | 119 |
| Tableau 35 : Corrélations entre les différents paramètres relatifs au cholestérol | 120 |
| Tableau 36 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et C III:B chez les patients et les témoins | 120 |
| Tableau 37 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et C III:B chez les patients et les témoins et en fonction du BMI | 122 |
| Tableau 38 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et C III:B en fonction des index nutritionnel et inflammatoire | 122 |
| Tableau 39 : Anthropométrie à JO et après renutrition (J30) | 125 |
| Tableau 40 : Bilan protéique et endocrinologique à JO, J10 et J30 chez les patients | 125 |
| Tableau 41 : Bilan du cholestérol total et de ses sous-fractions, des apo B, A I, A II, des lipoprotéines Lp(a):B, Lp A I: A II et du lathostérol à J0, J10 et J30 | 128 |
| Tableau 42 : Bilan des triglycérides, des apo E et C III, des lipoprotéines Lp C III:B et Lp E:B à J0, J10 et J30 | 129 |

FIGURES

| | |
|---|-----|
| Figure 1 : Pont de JELLIFFE et âge de la malnutrition | 9 |
| Figure 2 : Classification de la malnutrition en fonction des modifications du poids et de la taille | 21 |
| Figure 3 : Voie de synthèse du cholestérol (CRASTES DE PAULET 1968) | 33 |
| Figure 4 : Composition et structure générale d'une lipoprotéine : VLDL | 34 |
| Figure 5 : Correspondance entre l'électrophorèse et l'ultracentrifugation dans la séparation des lipoprotéines plasmatiques | 35 |
| Figure 6 : Schéma récapitulatif du métabolisme des lipoprotéines | 40 |
| Figure 7 : Représentation schématique des lipoprotéines plasmatiques des HDL | 49 |
| Figure 8 : Structure de la riboflavine | 64 |
| Figure 9 : Structure du FMN (flavine mononucléotide) | 65 |
| Figure 10 : Structure du FAD (flavine adénosine dinucléotide) | 65 |
| Figure 11 : Méthode de dosage du lathostérol | 84 |
| Figure 12 : Enquête alimentaire des enfants étudiés en Mauritanie | 85 |
| Figure 13 : Transcobalamines totales, insaturées et saturées chez les patients et les témoins | 94 |
| Figure 14 : Corrélations entre la B12 sérique et la Transcobalamine II saturée et entre la B12 sérique et les Transcobalamines I + III saturées | 95 |
| Figure 15 : Index nutritionnels et inflammatoires dans le groupe patients en fonction du taux de B12 | 97 |
| Figure 16 : Index nutritionnels et inflammatoires dans le groupe patients en fonction du taux de coefficient de saturation de la Transcobalamine II (CS TC II) | 98 |
| Figure 17 : Corrélations entre l'index nutritionnel (Alb x Transt) et la thréonine, la valine, la leucine, l'isoleucine et la somme des acides aminés ramifiés | 102 |
| Figure 18 : Corrélations entre l'index nutritionnel (Alb x Transt) et les rapports d'acides aminés indicateurs de la sévérité de la malnutrition | 103 |
| Figure 19 : Corrélations entre l'acide éthylmalonique, la leucine, l'index nutritionnel et la somme des acides aminés ramifiés | 105 |
| Figure 20 : Profil des acides organiques urinaires chez un enfant malnutri | 106 |
| Figure 21 : Corrélations de la triiodothyronine avec les marqueurs nutritionnels (Transthyréline, Albumine et Transferrine) | 111 |

| | |
|---|-----|
| Figure 22 : Concentration plasmatique en Rf en fonction de la concentration plasmatique en albumine et en transferrine chez les enfants malnutris n = 72 | 114 |
| Figure 23 : Concentration plasmatique en Rf en fonction de la concentration plasmatique en triiodothyronine (T3) chez les enfants malnutris n = 72 | 115 |
| Figure 24 : Profils chromatographiques de la FAD, de la FMN et de la Rf dans le plasma d'un enfant avec un statut normal en vitamine B2 (24 A) ; dans le plasma d'un enfant ayant un déficit en vitamine B2 (24 B) ; dans le plasma d'un enfant ayant un défaut de conversion de la Rf en cofacteurs (24 C). | 115 |
| Figure 25 : Corrélations entre les triglycérides et les apo B et C III et les Lp E:B et C III:B | 121 |
| Figure 26 : Corrélation entre l'apo E et les paramètres nutritionnels | 123 |
| Figure 27 : Corrélations de l'apo C III avec l'albumine et la transthyréline | 124 |
| Figure 28 : Corrélations entre le cholestérol total et le LDL cholestérol chez les patients à J0 | 126 |
| Figure 29 : Corrélations entre le cholestérol total et l'apo B et l'apo C III chez les patients à J0 | 127 |
| Figure 30 : Evolution du cholestérol total, du LDL cholestérol, du lathostérol et du rapport lathostérol / cholestérol total à J0, J10 et J30 chez les patients | 127 |
| Figure 31 : Corrélations entre la transthyréline et le cholestérol total puis le LDL cholestérol à J0 | 129 |
| Figure 32 : Corrélations entre la transthyréline et les triglycérides puis la Lp A I: A II à J0 | 130 |
| Figure 33 : Répartition des patients et des témoins en fonction de l'holotranscobalamine et du pourcentage de saturation de la transcobalamine II chez les patients et les témoins (HERBERT 1988) | 134 |

INTRODUCTION

1. Introduction

La malnutrition est un problème majeur de santé publique dans le monde. Elle est la conséquence d'une carence d'apport nutritionnel par rapport aux besoins de l'individu. Soit les apports sont insuffisants chez un individu sain au métabolisme normal (malnutrition protéino-énergétique (MPE) de l'enfant)(DUPIN 1987, OMS 1988), soit les apports sont normaux en valeur absolue, mais insuffisants par rapport aux besoins de l'individu qui sont augmentés (Ex : maladie inflammatoire avec augmentation de la dépense énergétique). Enfin les pathologies digestives, avec malabsorption globale ou spécifique de tel ou tel nutriment entraîneront également une malnutrition qui pourra grever le pronostic global du patient (Ex : malabsorption des graisses conduisant à une malnutrition dans la mucoviscidose). La MPE expose le patient à des carences en nutriments énergétiques mais aussi en vitamines ou en oligoéléments qui vont perturber le métabolisme cellulaire. Elle peut entraîner des troubles cliniques sévères et même conduire à la mort dans les cas extrêmes comme dans certains cas d'anorexie mentale (AM).

Dans les pays industrialisés, la malnutrition touche les patients atteints de maladie chronique (cancer, insuffisance rénale, insuffisance respiratoire) (ALLISON 1996), les enfants issus de classes socio-économiques défavorisées (CANOSA 1993) et surtout les adolescents atteints d'anorexie mentale (KANAWATI 1970) qui vont présenter une malnutrition relativement pure dans son mécanisme, exempte de toute pathologie inflammatoire, la privation alimentaire étant le seul déterminant de la malnutrition (PIRKE 1986). En France, la prévalence de la malnutrition chez les personnes âgées placées en institution est de 50% (CONSTANS 1997), et l'anorexie mentale toucherait environ 0,5% des adolescents (VIDAILHET 1999).

Dans les pays en voie de développement, la malnutrition touche surtout les jeunes enfants (nourrissons et enfants en bas âge) appartenant aux classes défavorisées. Elle toucherait 40% des enfants (OMS 1996) de moins de 5 ans. 10% de ces enfants présenteraient une malnutrition grave. De plus l'évaluation de cette malnutrition est difficile car la prévalence de la MPE à un endroit donné varie en fonction du contexte climatique (sécheresse, famine, MPE) ou du contexte socio-politique (guerre, insécurité ...). La MPE infantile des pays en voie de développement est classiquement séparée en deux catégories : le marasme et le kwashiorkor (le kwashiorkor-marasme incluant les formes mixtes). La pathophysiologie du marasme semble simple et bien comprise alors que celle du kwashiorkor reste mystérieuse.

Ces différentes formes de malnutrition ont été regroupées sous le terme de malnutrition protéino-énergétique (MPE) (JELLIFFE 1955) qui renvoie aux hypothèses initiales de carences en énergie pour expliquer le marasme et de carence en protéines pour expliquer le kwashiorkor.

Le terme de malnutrition pluricarentielle ou tout simplement de malnutrition proposé par BRIEND (1998) serait plus approprié car il prend en compte les carences en nutriments non énergétiques en particulier les micronutriments comme les vitamines et les oligoéléments et n'implique pas de séparation en fonction d'une carence d'apport protéique particulière dans le kwashiorkor non démontrée à ce jour.

Il était tout à fait logique de penser que, dans la malnutrition, les études mettraient en évidence des déficits des différentes classes de nutriments. C'est d'ailleurs ce qui a été fait dans toutes les études initiales concernant la malnutrition. L'anthropométrie et l'étude de la composition corporelle ont rapidement mis en évidence la diminution des tissus adipeux et musculaire parallèlement à la malnutrition. Les micronutriments ont fait l'objet d'études spécifiques et les déficits en vitamines A, C, D, et E ont été montrés aussi bien dans la MPE (CARLIER 1991, DONNEN 1998, BECKER 1994, BEAU 1991, RAGHURAMULU 1982) que dans l'AM (VAISMAN 1992, WOODRUFF 1994, LANGAN 1985, OLMOS 1991). Les vitamines du groupe B ont également été trouvées déficitaires dans la MPE, notamment la thiamine (HALEMARIAN 1985) et la biotine de façon plus exceptionnelle (VELAZQUEZ 1995). Des déficits en thiamine (ROCK 1987) et en riboflavine (VAN BINSBERGEN 1988) ont été montrés dans l'anorexie mentale. Néanmoins les études concernant ce groupe de vitamines sont moins complètes que pour les vitamines liposolubles, ceci étant probablement lié au fait que les déficits de ces vitamines sont difficiles à mettre en évidence et que leur taux plasmatique est parfois un reflet inexact du statut réel en certaines d'entre elles. La plupart de ces vitamines sont impliquées en tant que coenzymes dans de nombreuses réactions enzymatiques concernant le métabolisme énergétique et n'ont aucune spécificité d'organe qui permettrait de faire un diagnostic clinique de leur déficit. La mise en évidence de leur déficit repose aussi surtout sur des méthodes indirectes comme la mesure des acides organiques urinaires qui, en cas de déficit, montrent une excrétion anormale de composés non métabolisés par les réactions enzymatiques dont les vitamines B sont les cofacteurs. Une première étude réalisée dans notre laboratoire chez 7 enfants ivoiriens avait permis de mettre en évidence une excrétion excessive d'acides dicarboxyliques à chaîne moyenne et à courte chaîne (acides éthylmalonique, adipique, 3-méthyladipique et subérique) (YOMADJI OUTENGAR 1989).

L'idée initiale et légitime était la suivante : en cas de malnutrition, les micronutriments étaient déficitaires. Cette idée a été infirmée par les études sur la vitamine B12 ou cobalamine (Cbl), qui a été trouvée normale ou augmentée en cas de MPE (LEJEUNE-LENAIN 1975) comme en cas d'AM (VAN BINSBERGEN 1988). La connaissance du métabolisme de cette vitamine et de ses transporteurs, les transcobalamines (TC), a fait des progrès considérables, et le simple taux sérique de Cbl ne donne que des renseignements très incomplets sur le statut en Cbl.

C'est pourquoi, à l'occasion de notre service national et grâce à la collaboration des laboratoires des Pr NICOLAS et GUEANT avec notre laboratoire, nous avons pu organiser une première étude sur le statut en Cbl dans la MPE de l'enfant africain, en dosant la Cbl, ses analogues et ses transporteurs d'une part et les acides organiques (AO) urinaires à la recherche d'acide méthylmalonique (AMM), preuve indirecte d'un déficit en Cbl d'autre part.

Les résultats de cette première étude, en particulier ceux des AO qui ont mis en évidence une acidurie éthylmalonique et adipique chez 39% des enfants marastiques du Nord mauritanien (comme dans l'étude de YOMADJI OUTENGAR 1989), nous ont conduit à suspecter un déficit en riboflavine (Rf), cette vitamine étant le cofacteur des acyl-CoA déshydrogénases, enzymes fondamentales du métabolisme des acides gras. En collaboration avec le Dr CAPO-CHICHI qui avait étudié la Rf et ses cofacteurs dans l'anorexie mentale (CAPO-CHICHI 1999), nous avons pu étudier le statut en Rf et en ses cofacteurs dans la MPE de l'enfant africain en corrélant ce statut avec l'état nutritionnel des enfants étudiés.

Parallèlement à ces études sur les vitamines du groupe B, une collaboration avec l'équipe du Pr FRUCHART (SERLIA, Lille) nous a permis d'étudier les lipides circulants chez ces mêmes enfants malnutris. Les lipides sont des nutriments clés du métabolisme énergétique ; à l'état nourri, l'organisme a un rapport insuline/glucagon élevé qui oriente le métabolisme énergétique vers le stockage d'énergie par la lipogénèse ; à contrario, à l'état de jeûne, ce même rapport diminue et oriente l'organisme vers l'utilisation des réserves énergétiques contenues dans le tissu adipeux par la lipolyse et l'utilisation des acides gras libérés par la bêta-oxydation mitochondriale.

Les études initiales concernant les lipides dans la malnutrition concernaient les lipides circulants, lipides totaux, puis triglycérides et cholestérol (TRUSWELL 1969a - 1969b - 1975, MAC DONALD 1963, LEWIS 1964, JAYA RAO 1966, FLORES 1970 - 1974, COWARD 1972). Ces études ont montré en général un cholestérol bas, et des triglycérides normaux ou élevés. Plus tard sont apparues quelques études sur les différentes fractions du cholestérol (HDL et LDL et des apoprotéines A1 et B) qui ont corroboré les premiers résultats. Depuis une quinzaine d'année, la connaissance du métabolisme lipidique a fait de grand progrès avec, en particulier, la notion de particules lipoprotéiques caractérisées par leur contenu en lipides mais aussi en apoprotéines qui régissent leur métabolisme. Nous avons initialement étudié ces lipoprotéines et apoprotéines dans une population marastique du Nord Mauritanien afin de mieux comprendre le métabolisme lipidique dans ces situations de malnutrition grave.

Dans l'anorexie mentale, le bilan lipidique a été étudié depuis longtemps (KLINEFELTER 1965, CRIPS 1968, ARDEN 1990, MORDASINI 1978, STONE 1994, CASE 1999, SANCHEZ-MUNIZ 1991) ; les résultats sont relativement comparables à ceux observés dans la MPE sauf pour le cholestérol qui avait été retrouvé paradoxalement élevé dans de nombreuses études alors même que la malnutrition était sévère.

Ce paradoxe nous a conduit à effectuer la même étude sur les lipides et les particules lipoprotéiques dans l'anorexie mentale, en y ajoutant un marqueur de la synthèse endogène du cholestérol : le lathostérol. L'objectif de cette étude était de déterminer si les taux élevés de cholestérol étaient la conséquence d'une augmentation de la production endogène de cholestérol liée aux perturbations endocriniennes observées dans l'AM ou s'ils étaient le reflet d'une perturbation de son métabolisme et de son élimination.

C'est l'ensemble de ces études que nous allons exposer dans ce travail. A l'aide des données de la littérature, nous essaierons de mieux comprendre les mécanismes d'adaptation de l'organisme au jeûne prolongé qui peuvent expliquer les paradoxes que nous avons rencontrés dans l'analyse de nos résultats.

LA MALNUTRITION

2. La malnutrition

2.1. La malnutrition protéino-énergétique de l'enfant

2.1.1. Définition.

La malnutrition protéino-énergétique (MPE) est le résultat d'une carence d'apport nutritionnel, qui touche les nourrissons et les enfants en bas âge (avant 5 ans), essentiellement dans les pays en voie de développement. Cette malnutrition est pluricarencielle, le déficit d'apport touchant les macronutriments (protides, lipides et glucides) mais aussi les micronutriments (vitamines et sels minéraux).

2.1.2. Épidémiologie de la MPE.

Selon les données de l'OMS (1996), environ 40% des enfants des pays en voie de développement, âgés de moins de 5 ans ont un retard de croissance dû à la malnutrition. En 1988 on estimait le nombre d'êtres humains sous-alimentés entre 500 millions et un milliard d'individus (15 à 20% de population mondiale) ; en ce qui concerne la MPE, on estime entre 80 et 100 millions le nombre d'enfants atteints avec une mortalité d'environ 40 000 enfants par jour. Lors du sommet mondial sur l'alimentation qui s'est tenu à Rome en 1996, la presse a largement cité le chiffre de 800 millions de personnes sous-alimentées dans le monde, ce qui donne l'impression d'un problème insurmontable (Anonyme 1996). Cette estimation était calculée à partir de la production agricole et son utilisation était très indirecte et sûrement inexacte. Néanmoins les données internationales (UNICEF 1995, 1996) indiquent qu'il y a probablement plusieurs centaines de millions d'individus dans le monde qui souffrent de malnutrition et que l'ampleur du problème rend son éradication, pour le moment, du domaine de l'utopie. Le problème est variable en fonction des situations géographiques ; si celui-ci semble en voie d'amélioration en Inde, il paraît s'aggraver en Afrique, pour des raisons multiples dont les nombreux conflits armés et le SIDA.

De façon plus ponctuelle, parmi les enfants âgés de 6 à 36 mois hospitalisés à Kara au Togo, 62,5% souffrent de malnutrition et 57,6% des décès sont attribués aux effets potentialisateurs de la MPE (AGBERE 1998). Cette étude récente montre la pérennité du problème à l'aube du troisième millénaire.

2.1.3. Historique :

Depuis la première description du kwashiorkor (WILLIAMS 1933 - 1935), les critères diagnostiques de la MPE de l'enfant ont été peu à peu mis en place. BROCK et AUTRET en 1952 retenaient le diagnostic de kwashiorkor en présence de l'association d'un retard staturo-pondéral, d'altérations de la pigmentation cutanée et de la texture des cheveux, d'œdèmes, de l'existence d'une atteinte hépatique avec stéatose, nécrose et fibrose, cet état comportant une lourde mortalité (BROCK 1952a - 1952b). TROWELL (1954) et JELLIFFE (1955) ajoutent à ces critères l'apathie psychique, la diarrhée fréquente, l'anémie et différents signes d'avitaminoses.

BARNES (1964) et VITERI (1964) décrivent le marasme comme l'état d'un enfant ayant un grave retard staturo-pondéral, une fonte des tissus adipeux et musculaire et un visage émacié, sans dermatose ni altération des cheveux, et sans œdème.

Une troisième catégorie de MPE sera reconnue par certains auteurs et désignée comme kwashiorkor-marasme ou kwashiorkor atrophique par VENKATACI MALAM en 1964 (9). Ces enfants présentent des signes à la fois du kwashiorkor et du marasme.

2.1.4. Description clinique :

2.1.4.1. Signes communs aux deux formes

Les manifestations cliniques de la MPE sont pour beaucoup aspécifiques

2.1.4.1.1. L'anthropométrie :

Elle comporte une chute du poids et de la taille, une baisse de l'activité physique. Le retard staturo-pondéral et les autres données de l'anthropométrie seront étudiées dans un chapitre ultérieur. Notons simplement que ces troubles de la croissance sont plus ou moins accentués en cas de marasme ou de kwashiorkor. Il faudra bien sûr, pour interpréter ces données, tenir compte de l'évolutivité de la courbe staturo-pondérale et également savoir exclure des étiologies génétiques et endocriniennes de tels retards ; les différents paramètres anthropométriques (périmètre crânien (PC), périmètre brachial (PB), indice de corpulence (BMI) voire plis cutanés) permettront de faire la différence. Exemple : un nanisme aura un retard staturo-pondéral mais un PC et un PB normaux s'il est correctement nourri.

2.1.4.1.2. Sensibilité aux infections

L'immunité dans la malnutrition sera rapidement résumée ultérieurement ; notons que ces enfants sont particulièrement sensibles aux infections. Le cercle vicieux des diarrhées et des infections parentérales contribuent à la dénutrition qui va faire baisser les défenses immunitaires, accroître la sensibilité aux infections. Ce schéma vaut dans le marasme comme dans le kwashiorkor.

2.1.4.1.3. Risques liés à la renutrition

Lors de la renutrition, on peut observer une décompensation d'un ou plusieurs déficits vitaminiques avec l'apparition de xérophtalmie, de rachitisme, de déficit en thiamine, en folates etc... et également des déficits en oligo-éléments (fer, zinc, cuivre, magnésium, ...). La survenue de ces carences lors de la renutrition est un risque commun aux différentes formes cliniques de malnutrition.

2.1.4.2. Le Marasme

2.1.4.2.1. Aspects cliniques

L'enfant marastique est caractérisé par un déficit marqué du poids pour la taille. Il a un visage et un corps émaciés, on note la disparition des boules graisseuses de Bichat avec des joues creuses, et des yeux larges, leur donnant souvent un air tragique. Les cheveux et les ongles deviennent atrophiques et leur croissance est retardée.

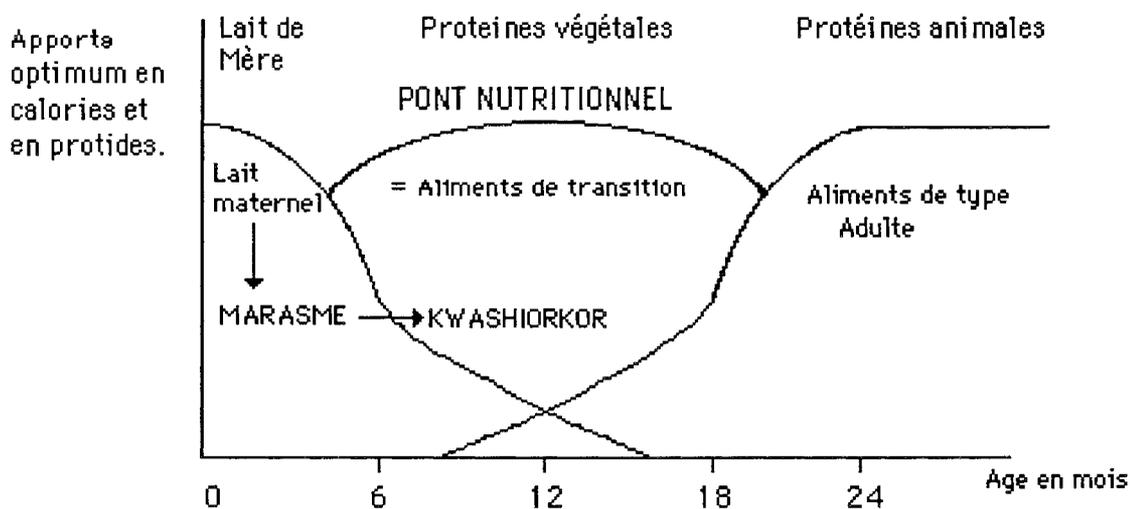
Les cheveux sont épais et cassants, ils ne changent pas de couleur mais ils perdent leur lustre et leur consistance normale. Dans les cas typiques, l'enfant marastique ressemble à un petit vieillard avec une maigreur impressionnante, un visage émacié et ridé, un corps devenu trop petit pour son enveloppe cutanée.

2.1.4.2.2. Physiopathologie du marasme

Du point de vue physiopathologique, il existe un déficit énergétique global sans anomalie majeure de la répartition des nutriments dans l'alimentation. Étant en état de déficit énergétique, l'organisme va mobiliser ses réserves énergétiques contenues dans le tissu adipeux en hydrolysant ses triglycérides puis en les utilisant au niveau du foie grâce la bêta-oxydation et à la cétogénèse qui fournira des corps cétoniques utilisables pour le métabolisme énergétique des tissus périphériques, y compris cérébral. Dans le même temps, les muscles sont mis à contribution en libérant les acides aminés nécessaires à la néoglucogénèse. Il en résultera un enfant présentant une fonte globale des tissus musculaires et adipeux ; cette maigreur caractérisée par une peau trop large sur un corps squelettique ne s'accompagne pas d'oedèmes car la synthèse protéique hépatique et la pression oncotique plasmatique sont relativement conservées. Du point de vue métabolique ces enfants ont un hypo-insulinisme chronique mais sont à risque principalement d'hypoglycémie .

Le marasme survient tôt dans la vie de l'enfant, il est le résultat d'une alimentation lactée insuffisante, prématurément arrêtée ou qualitativement déséquilibrée comme on peut le voir chez des enfants de végétaliens dans nos pays occidentaux (ROBERTS 1979). Dans les pays en voie de développement c'est souvent un sevrage trop précoce qui va induire le marasme. JELLIFFE (1970), sur son schéma, montre qu'il manque un pont nutritionnel pour que l'enfant puisse être sevré et accéder à une nourriture suffisante après le sevrage.

Figure n°1 : Pont nutritionnel de JELLIFFE



JELLIFFE explique l'apparition du marasme par une carence énergétique par insuffisance d'apport dans les premiers temps de la vie, le kwashiorkor par contre serait lié à un déficit de transition de l'alimentation du nourrisson à celle de type adulte, d'où la notion de pont nutritionnel manquant entre ces deux types d'alimentation dans la genèse des kwashiorkors.

Selon JELLIFFE, l'aspect qualitatif de l'alimentation après le sevrage est fondamental ; pour cet auteur, c'est lorsqu'il y a un déséquilibre avec déficit surtout protéique dans le régime de l'enfant après le sevrage que surviendront les états de kwashiorkor mais cette opinion est très discutée aujourd'hui (BRIEND 1998). Il est évident que tous les états intermédiaires entre marasme et kwashiorkor sont possibles (JELLIFFE 1970).

2.1.4.3. Le kwashiorkor

Il existe un contraste évident entre le kwashiorkor et le marasme. Les enfants atteints de kwashiorkor sont des enfants habituellement bouffis avec des œdèmes diffus. On n'observe pas dans ce cas la maigreur caractéristique des états de marasme. Les œdèmes, souvent majorés par une anémie avec un tissu adipeux relativement conservé, ont entraîné cette dénomination de "bébé en sucre" ; ces enfants ont encore été appelés "sugar baby" ou "carbohydate dystrophy".

2.1.4.3.1. Aspects cliniques

Initialement, certains auteurs prétendaient que le kwashiorkor était une forme de pellagre par déficit en vitamine PP (cité par BRIEND 1998), la distinction entre ces deux pathologies devint évidente devant l'échec du traitement par vitamine PP des cas de kwashiorkor.

2.1.4.3.1.1. Les lésions de la peau et des phanères

Le kwashiorkor est caractérisé par des altérations de la peau et des phanères qui peuvent devenir majeures. La présence d'œdèmes fragilise la peau qui devient dans un premier temps fine, luisante, tendue, atrophique. Par ailleurs, des troubles de la pigmentation peuvent survenir avec des petites taches hyperpigmentées et hypopigmentées : ces taches peuvent se rassembler en mosaïques situées au niveau du tronc et des membres (aspect en "peinture écaillée"). Des lésions hyperkératosiques viennent se surajouter, enfin des fissures puis des ulcérations cutanées peuvent survenir et prendre une grande importance tant en raison du temps de cicatrisation qu'en raison de la porte d'entrée infectieuse majeure que constituent ces ulcérations (ces enfants vont alors se conduire comme des "brûlés"). Les cheveux sont rares, cassants, atrophiques, ils peuvent prendre une couleur caractéristique rougeâtre. Ces enfants aux cheveux rouges ont des ongles atrophiques et cassants. La mortalité est beaucoup plus importante en cas de kwashiorkor.

2.1.4.3.1.2. L'hépatomégalie

Elle est quasiment constante, contrairement au marasme. Cette hépatomégalie est due le plus souvent à une stéatose hépatique dont l'explication physiopathologique sera analysée dans le chapitre lipides et malnutrition.

2.1.4.3.1.3. Les troubles psychiques

Des troubles psychiques à type d'apathie, de tristesse, d'anorexie font partie du tableau du kwashiorkor. Les enfants atteints de marasme sont le plus souvent des enfants vifs, qui ont faim et qui mangeront assez facilement les aliments de réalimentation que l'on peut leur proposer.

Cette apathie et cette anorexie peuvent poser problème lors de la réalimentation ; elles rappellent celles que l'on observe dans l'intolérance au gluten.

2.1.4.3.1.4. La mortalité

Elle est beaucoup plus importante chez les enfants atteints de kwashiorkor par rapport au marasme ; elle survient le plus souvent après une infection digestive (diarrhée-déshydratation), une broncho-pneumonie, une septicémie à Gram-, parfois il s'agit d'une affection apparemment aussi banale qu'une rougeole justifiant la priorité donnée à la vaccination anti-rougeoleuse dans ces pays. Il faut noter parfois des défaillances cardiaques, hépatiques ou rénales (WAYBURNE 1968).

Tableau n° 1 : Caractéristiques des deux principales formes de malnutrition.

| | Marasme | Kwashiorkor |
|--------------------------------|------------------------|-------------------------|
| Carence | Quantitative (énergie) | Qualitative (protéines) |
| Signes essentiels | | |
| Perte de poids | +++ | + |
| Fonte du tissu adipeux | +++ | + |
| Amyotrophie | +++ | + |
| Oedèmes | 0 | +++ |
| Dermatose | 0 | +++ |
| Signes non essentiels | | |
| Diarrhées | + | +++ |
| Hépatomégalie | +/- | +++ |
| Atrophie intestinale | ++ | ++ |
| Signes biochimiques | | |
| Hypoalbuminémie | 0 | +++ |
| Enzymes pancréatiques sériques | Normales | Augmentées |
| Hypoinsulinisme | ++ | +/- |
| Métabolisme | Auto-cannibalisme | Anti-cannibalisme |

Le marasme se caractérise par une diminution majeure du poids, alors que celle-ci est masquée par les oedèmes dans le kwashiorkor. Les signes digestifs sont plus importants dans le kwashiorkor comme les signes biologiques en particulier l'hypoalbuminémie

2.1.4.3.2. Physiopathologie du kwashiorkor

Les premières théories ont impliqué un déficit en protéines lors de la renutrition d'enfants marastiques. Le kwashiorkor se développerait volontiers chez un enfant qui a présenté un marasme et qui récupère une alimentation déséquilibrée, en ingérant essentiellement des glucides. Il va reconstituer dans un premier temps son tissu adipeux, sa courbe pondérale va se redresser, et la courbe staturale suivra plus lentement.

Si cette alimentation est déséquilibrée et souffre d'un déficit protéique, la baisse des protides sanguins, l'anémie et d'autres facteurs mal élucidés, vont entraîner l'apparition des œdèmes et du tableau clinique du kwashiorkor. Le kwashiorkor est caractérisé par une hypoalbuminémie, une hypoprotidémie, et serait dû à un apport alimentaire protéique réduit, la guérison pouvant être obtenue grâce à un apport diététique progressivement normalisé. Les théories ont impliqué que c'était le régime pauvre en protéines et relativement excédentaire en glucides qui était en cause dans la genèse du kwashiorkor (BROCK 1952a).

L'épidémiologie du kwashiorkor présente cependant des particularités difficilement explicables par ce seul déséquilibre nutritionnel (HENDRICKSE 1988). Tout d'abord c'est un état principalement rencontré en zone tropicale ; on ne trouve des kwashiorkors qu'en climat chaud et humide. Si l'on peut rencontrer des marasmes dans nos pays tempérés, le kwashiorkor y est exceptionnel (LUNN 1998). Ensuite, dans un même pays tropical on rencontre beaucoup plus de kwashiorkor en saison humide qu'en saison sèche, et on n'en voit quasiment pas dans les pays désertiques (HENDRICKSE 1985). Des carences vitaminiques ont été incriminées mais des résolutions complètes après renutrition sans vitamines ont permis d'exclure cette hypothèse (BROCK 1955).

L'origine exclusivement nutritionnelle a été mise en doute par GOPALAN (1968) qui a montré qu'une population apparemment identique pouvait développer soit un marasme soit un kwashiorkor en ayant des régimes identiques sur le plan protéino-énergétique. Par contre, l'hypothèse selon laquelle le kwashiorkor serait la conséquence d'un échec de l'adaptation de l'organisme à l'agression nutritionnelle est relativement admise (GOPALAN 1968, HOELDTKE 1973, RAO-JAVA 1974, COWARD 1981, VITERI 1981, FRENK 1986, ZIEGLER 1991). Cette inadaptation pourrait avoir une cause métabolique ou toxique : les radicaux libres (GOLDEN 1987), les cyanogènes (KAMALU 1993), la carence en méthionine (BROWN 1988) et les aflatoxines (HENDRICKSE 1982-1984-1988) ont été incriminés. Pour LENHARTZ (1998) certaines manifestations du kwashiorkor seraient liées à l'augmentation de la peroxydation lipidique. Dans la MPE la réduction des antioxydants (vit A, C et E, glutathion et oligo-éléments : zinc, sélénium) participant à l'activité des enzymes antioxydantes serait responsables d'un défaut d'élimination des radicaux libres, lesquels oxydèrent les couches lipidiques membranaires favorisant ainsi l'apparition d'œdèmes et l'accumulation des lipides dans le foie (GOLDEN 1987).

HENDRICKSE (1982) a émis l'hypothèse d'une responsabilité des aflatoxines qui sont des métabolites toxiques de moisissures, qui contaminent fréquemment les aliments en Afrique (*Aspergillus flavus*). Les aflatoxines ont des effets pathogènes au niveau de la carcinogenèse (hépatocarcinome), de la tératogenèse et la mutagenèse (HENDRICKSE 1988). Leurs effets métaboliques incluent l'inhibition de la synthèse du DNA, du RNA et de la synthèse protéique ; ils perturbent le métabolisme glucidique et inhibent la synthèse lipidique tant au niveau du cholestérol, des acides gras, des triglycérides qu'au niveau des phospholipides (BUSBY 1981). Par ailleurs, les aflatoxines bloquent les récepteurs tissulaires aux corticoïdes et créent également un déficit immunitaire (RICHARD 1978).

Enfin le foie, particulièrement touché en cas de kwashiorkor, est un organe principalement concerné par la toxicité des aflatoxines. La concordance géographique entre la répartition des aflatoxines et celle des kwashiorkors a contribué à cette hypothèse.

Des études ont été réalisées pour prouver cette hypothèse ; on a pu doser les aflatoxines dans le sérum d'enfants malnutris (marasmes et kwashiorkors) (HENDRICKSE 1982 , HENDRICKSE 1984, DE VRIES 1987) et d'enfants témoins, puis de déterminer le contenu en aflatoxines de foie d'enfants décédés de kwashiorkor (LAMPLUGH 1982, APEAGYEI 1986). Les résultats de ces études ont permis de mettre en évidence des taux sériques plus élevés en cas de kwashiorkor par rapport aux marasmes et aux témoins. La détection des métabolites toxiques (AFB1 Aflatoxical) a été faite chez les kwashiorkors et non chez les enfants porteurs de marasme. Les métabolites toxiques ont été retrouvés dans tous les prélèvements hépatiques autopsiques d'enfants porteurs de kwashiorkor (57 cas) et jamais chez les enfants décédés d'autres pathologies. Enfin des études alimentaires ont permis de retrouver les aflatoxines dans les aliments de ces enfants y compris le lait maternel qui peut contenir ces dérivés toxiques (AFB1) (HENDRICKSE 1988). Cependant d'autres études plus récentes ont montré que la présence d'aflatoxines dans les reins et les poumons d'enfants décédés de kwashiorkor et d'autres maladies n'était pas différente ; cette toxine serait présente chez tous les enfants exposés et ne serait pas spécifique du kwashiorkor (OYELAMI 1997, OYELAMI 1998).

S'il n'y a pas encore de preuves quant à la responsabilité directe des aflatoxines dans le kwashiorkor, le faisceau d'arguments qui va dans ce sens remet en cause les schémas classiques de la malnutrition. Les théories actuelles n'iraient plus du marasme au kwashiorkor en fonction de l'apport protéique mais feraient du marasme une pathologie essentiellement nutritionnelle et du kwashiorkor, une pathologie de l'adaptation à la malnutrition avec un facteur toxique qui trouverait chez l'enfant dénutri en milieu tropical un terrain particulièrement favorable pour s'exprimer.

Les glucosides cyanogéniques, que l'on retrouve dans le manioc, ont été incriminés dans l'expression clinique du kwashiorkor (KAMALU 1991). D'après une expérimentation animale, ces glucosides libèrent lors de leur hydrolyse, du cyanure qui est hautement toxique. La détoxification cyanhydrique nécessite les groupements sulfures et sulfates qui sont apportés à l'organisme par la cystéine, la cystine et la méthionine (SABRY 1965). Sous l'influence d'une sulfure transférase, le cyanure est transformé en thiocyanate au niveau du foie. L'utilisation des groupements sulfures pour cette détoxification pourrait contribuer à la déplétion de l'organisme en cystéine, cystine et méthionine, ces derniers étant indispensables au métabolisme cellulaire (ROEDIGER 1995). La carence en acides aminés soufrés, en particulier la méthionine, chez les enfants malnutris, pourrait contribuer à l'apparition des symptômes neurologiques (CLIFF 1985), à la baisse de la synthèse protéique (DARNELL 1990) et à l'apparition de la stéatose hépatique (TUCKLER 1937).

La méthionine est un acide aminé soufré indispensable à l'initiation de la synthèse protéique ainsi qu'à la croissance. La synthèse protéique ne peut être initiée sans méthionine (RUDLAND 1972, DARNELL 1990) ; la formation du coenzyme A (CoA) nécessite également la présence de méthionine.

En cas de carence en méthionine, la concentration de CoA diminue dans le foie (NAKAMURA 1967), cela provoque une baisse de l'oxydation hépatique des acides gras et pourrait ainsi participer à la genèse de la stéatose hépatique (TUCKLER 1937).

Par ailleurs, la méthionine est indispensable à la formation du glutathion impliqué dans la lutte contre les radicaux libres ; enfin elle est indispensable à la méthylation des acides nucléiques (CHRISTMAN 1993).

Toutes ces données physiopathologiques permettent de comprendre en quoi la méthionine pourrait être impliquée dans la genèse du kwashiorkor, qui se voit dans des régions où le manioc (pour les glucosides cyanogéniques) et les arachides (pour les aflatoxines) sont quantitativement plus importants dans l'alimentation que dans les régions côtières ou désertiques où l'on voit plutôt une MPE de forme marastique. Le kwashiorkor enfin, n'est pas une forme extrême de malnutrition, car il faut constater que sous nos latitudes, le kwashiorkor est inexistant ou tout à fait exceptionnel, en particulier dans l'anorexie mentale ou la restriction alimentaire volontaire peut conduire au décès par dénutrition, et cette malnutrition on ne peut plus sévère ne se présente jamais sous la forme clinique du kwashiorkor.

En conclusion le kwashiorkor est une forme de " dysnutrition " se présentant chez des enfants malnutris, dont l'origine est encore mal connue, des carences spécifiques plus ou moins liées à une ou des étiologies toxiques sont probablement à l'origine de cette forme grave de MPE.

2.2. L'anorexie mentale de l'adolescente

2.2.1. Définition

L'anorexie mentale (AM) est une pathologie psychiatrique caractérisée par une peur intense et irrationnelle de prendre du poids (ABRAHAM 1983). Elle conduit les patients, en règle générale des jeunes filles, à pratiquer une autorestriction alimentaire sévère portant en particulier sur les aliments riches en glucides et en lipides (JEAMMET 1993, HALMI 1980, CASPER 1986, SHARP 1993).

2.2.2. Historique de l'anorexie mentale

L'anorexie mentale a été individualisée la première fois par LASEGUE et GULL en 1973 ; néanmoins la stéréotypie de son expression clinique permet de la reconnaître dans des écrits datant de l'antiquité. L'anorexie qualifiée d'hystérique puis de mentale par HUCHARD en 1883 sera initialement interprétée comme une perversion mentale. Les troubles endocriniens ont été décrits dès 1924 (cité par BRUSSET 1995). Les caractéristiques psychiatriques ont été définies (FEIGHNER 1972) et le diagnostic actuel repose sur les critères proposés par la société américaine de psychiatrie dans le DMS IV.

2.2.3. Épidémiologie de l'anorexie mentale

L'incidence de l'anorexie mentale varie de 0,1 à 0,5% de la population générale en fonction des pays (HOECK 1991, LE BARZIC 1996). Elle est beaucoup plus fréquente chez les filles (95%) que chez les garçons (5%) (MOUTON-GENSBURGER 1999). L'évolution après traitement se fait vers une rechute dans 40 à 50% des cas (MOUTON-GENSBURGER 1999), le décès survenant dans 7 % des cas graves (JEAMMET 1991, VIDAILHET 1997). La mort survient par cachexie chronique ou par suicide dans les formes dépressives (HERZOG 1988, SULLIVAN 1995).

2.2.4. Clinique de l'anorexie mentale

L'AM est une affection de la jeune fille qui se déclenche essentiellement à la puberté, entre 13 et 17 ans bien que des cas plus précoces ou plus tardifs ne soient pas exceptionnels (JEAMMET 1993). L'AM est également décrite chez le garçon mais de façon plus rare (10% des cas environ) (JEAMMET 1993, JOHNSON 1992).

2.2.4.1. Circonstances de découverte

Dans la forme typique, la triade classique des 3A (Anorexie, Amaigrissement et Aménorrhée) reste d'actualité.

2.2.4.1.1. L'anorexie

Elle demeure le maître symptôme. Depuis Gilles DE LA TOURETTE, on sait qu'il ne s'agit pas d'une anorexie vraie avec perte passive de l'appétit, mais d'une conduite active de restriction alimentaire et de lutte contre la faim (cité par LAXENAIRE 1989). Il existe une peur de grossir et un désir profond de maigrir, qui persiste malgré une perte de poids déjà sévère, reflétant ainsi un trouble particulier de l'image du corps (JEAMMET 1993).

Un régime draconien est la forme habituelle de la restriction alimentaire au début, il peut être mis en route après une parole malheureuse de l'entourage ou après le verdict du miroir (par une jeune fille qui se trouve trop grosse). Puis la restriction s'aggrave, ne laissant souvent la place dans l'alimentation qu'aux yaourts et aux fruits. Ce régime s'accompagne de rites alimentaires, refus de participer au repas familial, saut systématique d'un repas, contrôle de la cuisine des aliments qu'elle doit prendre puis contrôle de toute l'alimentation préparée pour la famille. L'anorexique investit la cuisine et contrôle tout ce qui s'y passe. L'anorexique tyrannise ainsi son entourage. Cette anorexie peut s'accompagner de crises boulimiques suivies de vomissements provoqués, le plus souvent réalisés en cachette (THIEL 1995). Ces accès boulimiques, déniés pendant longtemps peuvent être extrêmes et conduire à une dilatation gastrique aiguë, voire à une rupture gastrique ou œsophagienne (VIDAILHET 1996). Le besoin du contrôle total du poids peut aller jusqu'à la prise abusive de laxatifs, d'anorexigènes ou de diurétiques (JEAMMET 1993, LAXENAIRE 1989).

2.2.4.1.2. L'amaigrissement

Il est secondaire à la restriction alimentaire. Il dépasse rapidement 10% du poids normal et peut atteindre 30 à 50% du poids initial (HEBE BRAND 1997). L'aspect de la jeune fille est celui d'un marasme de plus en plus grave, le visage est émacié, les yeux cernés, les os sont saillants. L'adolescente ne s'inquiète pas de la modification de son aspect corporel, et continue son régime en s'estimant toujours trop grosse. Le déni de la maigreur reflète le trouble délirant de la perception de leur image corporelle, en tous cas il y a au moins une distorsion sévère de leur schéma corporel (LAXENAIRE 1989, VIDAILHET 1996). Un sentiment de bien être, voire de toute puissance peut croître avec l'amaigrissement.

2.2.4.1.3. L'aménorrhée

Dans la majorité des cas, elle suit de quelques mois le début de la restriction alimentaire, mais elle peut être le premier signe apparent de l'anorexie mentale (JEAMMET 1993, LAXENAIRE 1989, NEWMAN 1988). Il s'agit le plus souvent d'une aménorrhée secondaire mais elle peut être primaire en fonction de l'âge de début de l'AM. Il s'y associe une absence totale de désir sexuel (JEAMMET 1993, SIMPSON 1992). Chez le garçon, l'aménorrhée peut être remplacée par l'absence d'érections et la disparition de désir sexuel (JEAMMET 1993). Dans les deux sexes, on trouve un effondrement des taux d'hormones sexuelles. L'aménorrhée est un symptôme lent à disparaître ; elle peut persister longtemps après le retour du poids à la normale. Le retour des règles constitue une étape majeure du processus de guérison, à la fois sur le plan somatique et sur le plan psychologique par l'acceptation de la féminité qu'il symbolise (VIDAILHET 1996).

2.2.4.2. Les autres symptômes

2.2.4.2.1. L'absence apparente de fatigue et l'hyperactivité motrice

L'hyperactivité fait partie des moyens de contrôle du poids, elle est souvent recherchée et souvent associée à des mesures d'ascétisme : se tenir sur une jambe, marcher jusqu'à épuisement, dormir à même le sol. Conjointement, on assiste à une diminution de la durée du sommeil.

Ces exploits physiques, tout à fait disproportionnés par rapport aux possibilités réelles, ont pour but d'accélérer l'amaigrissement tout en prouvant à l'entourage de l'anorexique, sa bonne forme physique (LAXENAIRE 1989, VIDAILHET 1996).

2.2.4.2.2. L'hyperinvestissement scolaire

L'anorexique mentale est souvent une bonne élève, qui survalorise les activités intellectuelles, et qui est en quête anxieuse et permanente de performances. Elle entre à l'hôpital chargée de livres et de cahiers, mais en y regardant de plus près, ces activités sont rarement créatrices (BRUSSET 1995). Bien que l'efficacité intellectuelle soit longtemps conservée, elle est au service d'une adaptation conformiste à des tâches scolaires, universitaires ou professionnelles dépourvues d'originalité. L'anorexique semble faire vouloir gagner l'esprit sur la matière et le sentiment de contrôle de soi-même et de ses besoins corporels, est une source de satisfactions (BRUSSET 1995).

2.2.4.2.3. Le mensonge et la manipulation

Ces comportements sont toujours présents chez l'anorexique, on ne peut se fier ni à ce qu'elle dit (mensonge dans les enquêtes alimentaires), ni à ce qu'elle fait (manipulation du poids par absorption d'eau avant les consultations). En hospitalisation un contrôle permanent est indispensable, en particulier au niveau de la prise alimentaire, des vomissements provoqués etc.... La cleptomanie est fréquente dans l'AM en particulier le vol d'aliments qu'elle stocke volontiers en cachette dans sa chambre (JEAMMET 1993).

2.2.4.3. Les formes cliniques particulières

L'anorexie prépubère est rare, elle est mieux connue maintenant ; elle est souvent sévère et s'accompagne d'un retard de croissance encore plus marqué. La boulimie est fréquemment associée à l'anorexie mentale : plus de 50% des anorexiques auront à un moment ou à un autre des épisodes de boulimie en général réalisés en cachette (JEAMMET 1993). S'il est exceptionnel qu'une boulimie évolue vers une anorexie, le contraire est fréquent (HALMI 1996). La potomanie compulsive peut apparaître au cours d'une anorexie. Certaines patients pratiquent un véritable lavage d'estomac, avalant et vomissant l'eau jusqu'à ce qu'elle ressorte aussi claire qu'elle est rentrée. D'autres boivent jusqu'à 9-10 litres d'eau par jour, avec les conséquences hydroélectrolytiques qui peuvent en découler (VIDAILHET 1998).

2.2.4.4. L'examen clinique

Les signes somatiques sont secondaires à l'état de dénutrition et aux troubles hormonaux : visage émacié, cheveux cassants, ongles striés et cassants, fonte des muscles et du tissu adipeux. La constipation est quasiment constante ; lorsque l'anamnèse retrouve une diarrhée, ou une dysphagie aux liquides ou aux solides, il faut savoir rechercher une autre pathologie, digestive en particulier (achalasie de l'œsophage, maladie de Crohn).

Dans les formes graves on retrouve des œdèmes de carence, une hypothermie ; la peau est froide et violacée, la tension artérielle est basse et le rythme cardiaque est lent.

Enfin, il n'y a pas d'autre pathologie psychiatrique spécifique, en particulier pas de délire ni de syndrome dépressif majeur (JEAMMET 1993).

2.2.5. Critères diagnostiques

2.2.5.1. Les critères de FEIGHNER (1972)

- Début avant 25 ans.
- Perte de poids d'au moins 25% du poids initial.
- Attitude négative vis-à-vis de la prise de poids et de la nourriture. La prise d'aliments est perturbée, rigide et non modifiable par la sensation de faim, ni par les reproches ni par les encouragements. De plus on note un déni de la maladie, un plaisir procuré par la chute du poids et la privation d'aliments, un désir éperdu de minceur extrême, une manipulation et un stockage des aliments.
- Absence de maladie organique expliquant l'anorexie et la perte de poids.
- Absence de maladie psychiatrique connue (psychose maniaco-dépressive, schizophrénie, névrose obsessionnelle ou phobique).
- Existence d'au moins 2 des signes suivants : aménorrhée, lanugo (duvet sur le dos, les joues et les avant-bras), bradycardie (rythme cardiaque inférieur à 60 par minute), hyperactivité physique, hypothermie, épisode de boulimie et vomissements provoqués.

2.2.5.2. Les critères du DMS IV (1994)

- Refus de maintenir le poids corporel au niveau ou au-dessus d'un poids minimum normal pour l'âge et pour la taille (perte de poids d'au moins 25% du poids initial).
- Peur intense de prendre du poids même en situation de poids insuffisant.
- Altération de la perception du poids ou de la forme de son corps, influence excessive du poids ou de la forme corporelle sur l'estime de soi, ou négation du caractère pathologique de l'insuffisance pondérale.
- Aménorrhée chez les femmes post pubères, c'est-à-dire absence de règles durant au moins trois cycles consécutifs.

**LES MARQUEURS
DE LA MALNUTRITION**

3.1. L'anthropométrie

L'évaluation de l'état nutritionnel à partir des données anthropométrique (OMS 1993, OMS 1995) est rapide et peu onéreuse, contrairement aux dosages biologiques qui ne sont pas toujours possibles à faire dans les enquêtes épidémiologiques dans les pays en voie de développement. Les indices anthropométriques ont été utilisés depuis plusieurs décennies afin d'établir le statut nutritionnel des enfants atteints de malnutrition protéino-énergétique (CONSTANS 1987). Les mesures anthropométriques classiques : poids et taille, qui sont à la base des index utilisés, ne sont pas utilisables en valeurs absolues car elles varient en fonction de l'âge et du sexe de l'enfant. Il est actuellement admis que la croissance des enfants varie peu en fonction de l'origine ethnique (GRAITCER 1981), par conséquent les mesures anthropométriques sont rapportées aux normes NCHS " National Center for Health Statistics " et doivent être données en pourcentage de ces normes.

3.1.1. Le poids et la taille

Le rapport poids/norme du poids pour l'âge a permis d'évaluer le statut nutritionnel et de déterminer plusieurs degrés de gravité de la malnutrition (GOMEZ 1956, JELLIFFE 1966).

Tableau n° 2 : Classification de la malnutrition selon GOMEZ (1956)

| Poids relatif | Statut Nutritionnel |
|---------------|----------------------|
| > 90 % | Normal |
| 75% - 90% | Malnutrition légère |
| 60% - 75% | Malnutrition modérée |
| < 60% | Malnutrition grave |

Tableau n° 3 : Classification de la malnutrition selon JELLIFFE (1966)

| Poids relatif | Statut Nutritionnel |
|---------------|----------------------|
| > 90% | Normal |
| 80% - 90% | Malnutrition légère |
| 70% - 80% | Malnutrition modérée |
| 60% - 70% | Malnutrition sévère |
| < 60% | Malnutrition grave |

Ces classifications sont utilisables pour les enfants atteints de marasme, mais elles sont prises en défaut pour les enfants atteints de kwashiorkor, car les œdèmes surrévaluent le poids (BRIEND 1998). C'est pourquoi WELLCOME a proposé une autre classification qui tient compte des œdèmes pour classer les types de malnutrition (Anonyme 1970).

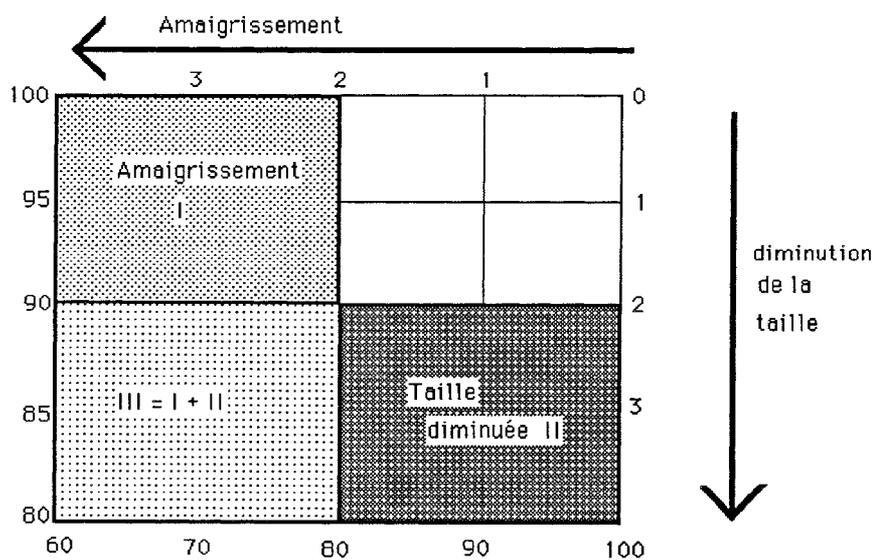
Si le poids est compris entre 60 et 80 %, les enfants sont classés comme dénutris s'il n'y a pas œdème et atteints de kwashiorkor s'il y a des œdèmes. Si le poids est inférieur à 60 % du poids attendu pour l'âge, les enfants sont classés comme marasmes s'il n'y a pas d'œdèmes et comme kwashiorkor-marastiques s'il y a des œdèmes.

Tableau n° 4 : Classification de WELLCOME(1970)

| % poids / âge | Pas d'œdèmes | Oedèmes |
|---------------------|--------------|------------------------|
| poids 60 < x < 80 % | Dénutris | kwashiorkor |
| poids < 60 % | Marasme | kwashiorkor-marastique |

Dans les pays en voie de développement, l'âge est un paramètre non fiable car parfois méconnu après 1 an. Il a donc fallu imaginer des paramètres indépendants de l'âge pour l'évaluation nutritionnelle anthropométrique de ces enfants. Le second paramètre utilisé fut l'indice de la taille pour l'âge.

Figure n° 2 : Classification de la malnutrition en fonction des modifications du poids et de la taille (WATERLOW 1972 - 1973).



I : amaigrissement ; II : taille diminuée ; III : I + II

La diminution de la taille signifierait un état de malnutrition chronique, la diminution de rapport poids/taille serait en rapport avec les états de malnutritions aiguës ; ces deux états pouvant coexister (groupe III).

3.1.2. L'indice de corpulence ou BMI

L'importance d'avoir des indices indépendants de l'âge a fait toute l'importance de la mesure de l'indice de masse corporelle (BMI) ou indice de Quetelet ou indice de corpulence (Poids/Taille²). Cet indice est sensible pour évaluer l'état nutritionnel mais il est pris en défaut par les kwashiorkors et kwashiorkor-marasmes où la présence d'œdèmes voire d'ascite augmente faussement le poids.

Des valeurs moyennes de BMI sont disponibles pour la population générale, le BMI suit l'évolution de la masse grasse avec l'âge (ROCHE 1981, ROLLAND-CACHERA 1987, GARROW 1985). Cet indice est de plus en plus utilisé dans tous les domaines de la nutrition infantile, malnutrition, obésité ou anorexie mentale.

3.1.3. Le périmètre brachial

Le périmètre brachial (PB) mesuré en cm à la mi-hauteur du bras en extension est un reflet de la masse musculaire. Il a été utilisé précocement pour mesurer le degré de malnutrition. Une classification basée sur un PB à 80,70 et 60 % de la normale pour l'âge a permis de différencier des malnutritions modérées, moyennes et sévères. Puis, pour plus de commodité, on a établi des normes en valeur absolue, indépendantes de l'âge.

Tableau n° 5 : Périmètre brachial pour l'enfant de 1 à 5 ans

| PB en cm | État nutritionnel |
|---------------|----------------------|
| < 13,5 cm | Normal |
| 12,5 –13,5 cm | Malnutrition modérée |
| < 12,5 cm | Malnutrition sévère |

L'enfant de 1 à 5 ans, période principale de survenue de la MPE, est considéré comme normal avec un PB > 13,5 cm, comme modérément malnutri avec $12,5 < PB < 13,5$ cm et comme sévèrement malnutri si le PB est < 12,5 cm (SHAKIR 1974, GOBEZIE non daté, OXFAM 1984, DE VILLE DE GOYET 1978). LINTDTJØRN en 1985 a proposé de changer ces normes à 11 et 13 cm pour éviter des faux positifs pour les malnutris sévères, qui s'avéraient trop nombreux avec un PB compris entre 11 et 12,5. La corrélation du PB avec le poids/taille s'avère bien meilleure avec ces nouveaux repères (LINDTJØRN 1985). Néanmoins cette mesure est difficile à standardiser et l'erreur de lecture systématique fausse souvent les résultats, ce qui fait que l'OMS ne recommande plus cette mesure dans les enquêtes nutritionnelles (OMS 1995).

3.1.4. Le rapport périmètre brachial/périmètre crânien

D'autres mesures anthropométriques ont pu être réalisées et leurs normes établies mais elles sont peu utilisées dans le cadre de la malnutrition : périmètre thoracique, périmètre de la cuisse, périmètre crânien (PC). Le PC a un intérêt car il est en relation avec la croissance cérébrale mais sa réduction est très tardive par rapport à d'autres index. ROBILLARD a proposé le rapport PB / PC qui a l'avantage d'être indépendant de l'âge (il serait constant avant trois ans), du sexe, et surtout du poids, donc des œdèmes éventuels (ROBILLARD 1986). L'état nutritionnel est classé en fonction des données suivantes :

Tableau n° 6 :

Évaluation de l'état nutritionnel en fonction du rapport périmètre brachial/périmètre crânien

| PB/PC | État Nutritionnel |
|-------------|-------------------|
| > 0,3 | Correct |
| 0,28 – 0,3 | Moyen |
| 0,25 – 0,28 | Médiocre |
| < 0,25 | Sévère |

3.2. Les marqueurs protéiques de la malnutrition

L'anthropométrie pouvant être prise en défaut pour établir la sévérité d'une malnutrition comme dans le kwashiorkor ou les œdèmes augmentent faussement le poids de l'enfant, des marqueurs biologiques sont rapidement apparus comme indispensables pour évaluer correctement le type et le degré de malnutrition.

3.2.1. Les marqueurs protéiques urinaires

De nombreux marqueurs protéiques urinaires ont été proposés : la créatininurie qui est un reflet de la masse musculaire de l'organisme (HEYMSFIELD 1983) ; le taux d'hydroxyproline urinaire a été trouvé abaissé dans le marasme comme dans le kwashiorkor (MAC LAREN 1970, PICOU 1965, WHITEHEAD 1965), sa diminution résultant de la baisse du tissu conjonctif ; l'excrétion urinaire de 3-méthyl-histidine dépend de la dégradation musculaire (JOHNSON 1967, YOUNG 1978) et a également été proposée comme marqueur de la malnutrition (NARASINGA RAO 1973, LONG 1981, RICHARD 1985) ; néanmoins, ce marqueur est dépendant de l'alimentation si celle-ci contient de la viande. Ces marqueurs ont été critiqués car le recueil exact des urines de 24 heures est extrêmement difficile voire impossible ; par ailleurs, l'état d'hydratation fait varier les concentrations urinaires de ces marqueurs sans que ce soit en relation avec l'état nutritionnel, enfin l'excrétion urinaire de ces marqueurs peut être influencé par une malnutrition chronique mais aussi par une dénutrition aiguë survenant lors d'un épisode infectieux intercurrent. Par conséquent, ces marqueurs urinaires ne sont pas ou peu utilisés.

3.2.2. Les marqueurs protéiques sanguins

3.2.2.1. Les protides totaux

Le taux des protéines sériques totales a été utilisé et varie avec la malnutrition (WHITEHEAD 1967), mais son utilisation en tant qu'index n'est pas fiable étant donné l'importance des facteurs contradictoires qui peuvent influencer ce taux de protéines : les hépatopathies qui diminuent la synthèse d'albumine et les syndromes inflammatoires qui augmentent la production des alpha-globulines (DOH 1980), et des globulines ; celles-ci sont souvent augmentées (SUSKIND 1976), avec en particulier une élévation des IgA (SIRISINHA 1975). Enfin l'hypoprotidémie est variable en fonction du type de malnutrition ; elle est beaucoup plus marquée dans le kwashiorkor que dans le marasme (WHITEHEAD 1967, O'NEAL 1970).

3.2.2.2. L'albumine

L'albumine (Alb) (PM = 69 000) est une protéine plasmatique qui réagit en baissant à trois facteurs de la malnutrition, carence d'apport protéique et calorique, hépatopathie et infections. L'albuminémie a été trouvée abaissée chez des enfants non malnutris atteints de maladies infectieuses (POWANDA 1977), la baisse de l'Alb devant compenser l'augmentation des globulines observées dans ce contexte pour maintenir une pression oncotique stable.

Ce mécanisme, s'il est exact, n'expliquerait que partiellement la chute de l'Alb en cas de malnutrition car elle varie surtout avec le statut nutritionnel en particulier la disponibilité en acides aminés nécessaire à sa synthèse (DOH 1980, PHILBRICK 1958, GALLINA 1987). L'Alb est donc trouvée abaissée en cas de malnutrition (N'DIAYE 1977, DOH 1980, ANTENER 1977, BISTRAN 1976) sans que cette baisse soit spécifique de l'état nutritionnel. Cette baisse peut être considérable et aller jusqu'à des taux de 8 à 9 g/l (DOH 1980). Certains auteurs (VIART 1976, FONDU 1978) ont établi des seuils critiques d'albumine sérique, allant de 15 à 17 g/l. L'Alb a même été proposée comme indice pronostic en cas de MPE. : le décès surviendrait dans 62,5 % des cas lorsque l'Alb sérique est comprise entre 4 et 8 g/l, par contre; il ne surviendrait que dans 3,5 % des cas pour des taux de 25 à 30 g/l (HAY 1975). La baisse de l'Alb en-dessous de 27 g entraînerait l'apparition d'œdèmes, par contre quand elle est supérieure à 30 g/l cette valeur permet de maintenir une pression oncotique suffisante (COWARD 1975). Au total, l'Alb ne paraît pas être un bon marqueur de la malnutrition, surtout si elle est de type marastique où la synthèse protéique est relativement préservée. C'est un marqueur qui réagit lentement (demi-vie de 20 jours) et qui est peu spécifique, étant influencé par de multiples facteurs (ANTENER 1977, BISTRAN 1976).

3.2.2.3. La préalbumine ou Transthyréline

La préalbumine ou Transthyréline (TTR) (PM = 54 000), qui est une protéine de demi-vie courte (2 à 3 jours), a été proposée comme marqueur sanguin de la malnutrition (INGENBLEEK 1972). Cet auteur observe une augmentation parallèle de la TTR et de l'Alb lors du traitement d'enfants malnutris. Un grand avantage de cet index est qu'il est facilement dosable par immunodiffusion radiale, même par des techniciens peu entraînés (N'DIAYE 1977 OGUNSHINA 1980). La TTR comme l'Alb réagit à la dénutrition mais aussi à l'infection, GHISOLFI observe une chute de la TTR dans deux groupes d'enfants : l'un malnutri et l'autre infecté, et il n'observe pas de différence significative du taux de préalbumine entre ces deux groupes (GHISOLFI 1982). Il en déduit que la TTR est sous l'influence de plusieurs facteurs (comme l'Alb d'ailleurs) et que cette protéine de demi-vie courte, n'est un bon index de malnutrition qu'en l'absence de contexte inflammatoire. Il préfère comme index la transferrine et la céruléoplasmine qui, elles, sont moins influencées par le contexte infectieux.

3.2.2.4. La Transferrine

Cette protéine (PM = 80 000) a une demi-vie de 8 jours et a des valeurs normales très dispersées, variables avec le sexe et avec l'âge (JOUQUAN 1983). La transferrine a été proposé dès 1969 comme paramètre du suivi nutritionnel (MAC FARLANE 1969). Elle a été retrouvée corrélée à la préalbumine (FLETCHER 1987) et a été utilisée dans de nombreuses études (INGENBLEEK 1975a). Par contre, ce marqueur de la malnutrition est controversé car il est également influencé par l'inflammation (GALLINA 1987) ; de plus, il y a des résultats divergents quant à l'évolution de cette protéine pendant la renutrition des enfants malnutris (MAC FARLANE 1969, INGENBLEEK 1975a).

Enfin une étude ne trouve aucune différence entre une population urtré et une population témoin (CONSTANS 1985).

3.2.2.5. La Rétinol Binding protein (RBP)

La RBP est une protéine de liaison de la vitamine A (PETERSON 1971) de demi-vie identique à celle de la transferrine : 2 à 3 jours). Des taux plasmatiques bas rétinol ont été observés dans la malnutrition (KANAI 1968, INGENBLEEK 1975b), mais ces t^l élèvent après traitement de la MPE sans apport vitaminique. Les taux bas initiaux étaient dors à un déficit du transporteur sérique : la RBP. Cette protéine de PM 21 000, a pour fonction transport plasmatique du rétinol (PETERSON 1971). Elle est liée de façon spécifique et important TTR en formant un complexe de 2 protéines (RAZ 1969 et 1970). Ces deux protéines sont positivement corrélées dans la malnutrition avec un coefficient de corrélation de 0,8 (SMITH 1979). Le dosage de RBP étant lié à la TTR, son taux est limité par cette protéine qui est déficitaire en cas de kwashiorkor. INGENBLEEK propose cette protéine principalement comme marqueur de l'asme et du pré-kwashiorkor (INGENBLEEK 1975a).

3.2.2.6. Les protéines marqueurs de l'état inflammatoire

Lors d'une infection, les cytokines libérées par les cellules de réaction inflammatoire agissent au niveau du foie pour accroître la synthèse de C-réactive protéine (CRP) (SABEL 1979), d'orosomucoïde (Oroso) (GOTO 1973) qui sont des protéines à demi-vie courte (2 à 6 jours), appelées protéines de la phase inflammatoire aiguë (ALISTAIR). Ces protéines joueraient un rôle important dans la régénération tissulaire après une nécrose. a beaucoup d'autres protéines qui réagissent avec l'état inflammatoire, mais ces deux protéines sont les plus étudiées dans les cas de malnutrition. Ces protéines ont été regroupées avec l'Alb et la TTR pour former un index pronostic de la malnutrition à la fois nutritionnel et inflammatoire appelé le PINI qui a été validé pour les patients adultes en situation de réanimation et non dans le cadre de la malnutrition (INGENBLEEK 1985a).

3.3. Les acides aminés plasmatiques

3.3.1. Définition

Les acides aminés (AA) sont des molécules organiques caractérisées par la présence d'un radical acide (COOH) et d'un radical amine (NH₂). Ces AA sont au nombre de 20 et sont les constituants des protéines. Nos gènes sont constitués d'une succession de triplets de nucléotides (codons) qui codent chacun pour un AA spécifique. La lecture de ce code va entraîner l'assemblage successif des AA codés par le gène et donc la constitution de la protéine concernée.

3.3.2. Les acides aminés essentiels et non essentiels

Les AA essentiels sont au nombre de 8 : Leucine (LEU), Isoleucine (ILE), Valine (VAL), Phénylalanine (PHE), Méthionine (MET), Tryptophane (TRP), Thréonine (THR) et Lysine (LYS). A ceux-ci, il faut rajouter l'histidine chez le jeune enfant ainsi que la cystéine et la taurine chez le prématuré et le nouveau-né. Ces acides aminés ne peuvent être synthétisés par l'organisme humain à cause de leur squelette carboné (WALSER 1978), et par conséquent, l'équilibre du métabolisme protéique de l'organisme dépend de l'apport exogène de ces AA. Les autres acides aminés non essentiels peuvent être synthétisés par l'organisme et leur taux ne dépend pas des apports exogènes sauf dans le cas de certains déficits héréditaires du métabolisme comme les déficits du cycle de l'urée ou l'arginine (ARG) devient un AA essentiel ou encore la phénylcétonurie (PCU) dans laquelle la tyrosine devient un AA essentiel.

3.3.3. Les taux plasmatiques des AA

Les taux plasmatiques de ces acides aminés dépendent donc d'un équilibre entre les entrées et les sorties du pool plasmatique. Les entrées sont constituées des apports exogènes et du catabolisme protéique. Les sorties sont constituées de l'anabolisme protéique et des pertes en AA de l'organisme : urinaires, fécales, phanériennes (ongles, cheveux) et surtout de l'oxydation des AA avec formation de CO₂ et d'urée. Les taux plasmatiques des AA dépendent donc de l'état d'anabolisme ou de catabolisme dans lequel se trouve l'organisme. Il faut mettre à part la glutamine (GLN) et l'alanine (ALA) qui sont les principaux AA glucoformateurs dont les taux vont varier non seulement en fonction du métabolisme protéique, mais aussi en fonction de l'état " nourri " ou " de jeûne " de l'organisme et du niveau des réserves en glycogène.

Enfin la glycine (GLY) qui est le plus simple des acides aminés représente une part importante du pool d'azote disponible pour le métabolisme (PICOU 1969). Cette réserve d'azote serait disponible pour la synthèse d'AA non essentiels en situation d'anabolisme avec une disponibilité suffisante en AA essentiels pour la synthèse protéique. En cas de carence en AA essentiels, ou de situation de jeûne prolongé, la GLY augmenterait car la demande d'azote pour la synthèse d'AA non essentiels serait diminuée (JACKSON 1980). Cette théorie est sûrement incomplète car le métabolisme azoté de l'organisme est plus complexe ; chaque AA a probablement une régulation dépendant de ses fonctions propres. Elle permet néanmoins de comprendre une part des anomalies observées dans la MPE de l'enfant.

L'augmentation de la GLY en cas de malnutrition pourrait aussi s'expliquer par un déficit en folate, la transformation de la GLY en SER nécessitant le 5-méthyltétrahydrofolate (5-MTHFR) comme donneur de groupement méthyl, ou par une diminution de la synthèse des purines qui serait une des conséquences de l'hypothyroïdie survenant en cas de malnutrition sévère.

3.3.4. L'aminogramme plasmatique dans la malnutrition

La MPE entraîne un effondrement de la masse maigre (en particulier musculaire) de l'organisme. Cette déplétion protéique s'accompagne d'une perturbation de l'aminogramme plasmatique et urinaire. Ces perturbations ont été analysées par de nombreux auteurs (ADIBI 1980, ANASUYA 1968, ANTENER 1981, ARROYAVE 1962, GHISOLFI 1978, HALMI 1987, HOLT 1963, MAC LAREN 1965, SAUNDERS 1967, WHITEHEAD 1964a - 1964b).

Les anomalies des AA plasmatiques ont été notées dès 1962 (ARROYAVE 1962). Cet auteur a démontré chez 5 enfants atteints de kwashiorkor une chute des AA essentiels (hormis, la phénylalanine [PHE] et la lysine [LYS]) alors que les AA non essentiels restent normaux voire élevés. Cette chute des acides aminés essentiels (Valine [VAL], Leucine [LEU], Isoleucine [ILE], Thréonine [THR], Méthionine [MET] et d'un AA non essentiel : la tyrosine [TYR]) a été confirmée ensuite dans de nombreuses études chez l'enfant comme chez l'adulte (HOLT 1963, SAUNDERS 1967, GHISOLFI 1978, ANTENER 1981). Le tryptophane (TRP) a été rarement étudié en raison des difficultés inhérentes à son dosage. Pour la PHE et la LYS les résultats sont discordants selon les études. Pour les AA non essentiels, l'arginine (ARG) et la tyrosine (TYR) sont trouvées basses, sinon les autres AA sont normaux voire élevés comme la glycine (GLY). Quelques discordances ont également été observées pour les AA non essentiels ; GHISOLFI (1978) note une baisse significative de l'ornithine (ORN) alors que HOLT (1963), ARROYAVE (1962) et ANTENER (1981) la trouve identique à celle des témoins.

Des différences ont été notées selon le type de malnutrition. Dans le kwashiorkor, certains AA essentiels sont très affectés en particulier les AA ramifiés (LEU, ILE et VAL)(ADIBI 1976), parmi les AA non essentiels, la TYR est abaissée ainsi que l'alanine (ALA) alors que la glutamine (GLN) et l'acide glutamique (GLU) augmentent (ANASUYA 1968). Dans le marasme au contraire, l'ALA augmente et la GLN et la GLU baissent (ANASUYA 1968). Ces variations ont été également retrouvées dans l'anorexie mentale dont la composante malnutritionnelle est de forme marastique (HALMI 1987). Ce déficit en AA essentiels est confirmé par HOLT (1963) qui a étudié 64 enfants atteints de kwashiorkor ; malheureusement, il n'y a pas dans son étude de corrélation démontrée entre le degré de malnutrition (évaluée par l'anthropométrie ou par des marqueurs biologiques) et les anomalies des AA. Néanmoins, la chute des AA ramifiés et l'augmentation de la GLY sont particulièrement évidentes dans cette étude.

D'autres travaux ont mis en évidence un déficit de la conversion de PHE en TYR avec augmentation du rapport PHE/TYR suggérant une altération de l'activité de la phénylalanine hydroxylase (WHITEHEAD 1964a, SAUNDERS 1967, EDOZIEN 1965).

Ces différents travaux ont démontré les anomalies des AA essentiels et non essentiels. Plusieurs rapports ont ainsi été proposés pour évaluer la sévérité de la malnutrition, en particulier le rapport des AA non essentiels (AANE)/AA essentiels (AAE) (WHITEHEAD 1964a - 1964b).

$$\frac{\text{AANE}}{\text{AAE}} = \frac{\text{GLY} + \text{SER} + \text{ALA} + \text{GLU} + \text{GLN}}{\text{LEU} + \text{ILE} + \text{VAL} + \text{THR} + \text{MET} + \text{TYR}^*}$$

WHITEHEAD a inclus la TYR dans les AAE en raison de sa baisse constante dans la malnutrition. Selon ce rapport AANE/AAE l'état nutritionnel serait :

- Normal : < 3
- Peu sévère : 3-5
- Sévère : > 5

La diminution très marquée des AA ramifiées a conduit WHITEHEAD à proposer deux autres rapports (WHITEHEAD 1964b) :

$$\frac{\text{GLY} + \text{SER} + \text{GLN}}{\text{VAL} + \text{ILE} + \text{LEU}} \text{ et } \frac{\text{GLY} + \text{SER} + \text{ALA}}{\text{VAL} + \text{ILE} + \text{LEU}}$$

Ces rapports qui sont normalement inférieurs à 2 augmenteraient au cours de la MPE (WHITEHEAD 1964b) ; pour MAC LAREN, ces rapports n'augmenteraient qu'au cours du kwashiorkor et resteraient inchangés pendant le marasme (MAC LAREN 1965).

Ces rapports ont été repris et réévalués par GHISOLFI en 1978. Cet auteur a repris ces rapports dans des situations de malnutrition, de jeûne et d'infection. Il en déduit que ces rapports sont plus liés à l'apport protéique et énergétique des 3 jours précédents plutôt qu'à l'état nutritionnel chronique. L'infection, par contre, n'influencerait quasiment pas l'aminogramme plasmatique. Il faut néanmoins remarquer que cette étude est réalisée chez 149 enfants hospitalisés en France à Toulouse, et qu'il n'y a aucun enfant atteint de MPE de type marasme ou kwashiorkor ; cela limite bien sur la portée de ce travail dans le cadre de la MPE.

En conclusion les principales anomalies relevées au niveau des AA plasmatiques sont :

- une baisse des AA essentiels.
- une baisse particulière des AA ramifiés.
- une baisse de la TYR.
- une normalité des AA non essentiels, hormis GLY ALA et GLN qui sont retrouvés élevés.

Les rapports AAE/AANE semblent retrouvés élevés dans la plupart des études avec une augmentation plus importante en cas de kwashiorkor par rapport au marasme.

LES PARAMETRES ÉTUDIÉS

4.1 Les lipides

4.1.1. Intérêt des lipides dans la malnutrition

Les lipides en particulier les triglycérides jouent un rôle essentiel dans le métabolisme énergétique chez l'homme. A l'état nourri, quand les besoins métaboliques sont pourvus, le surplus énergétique issu de l'alimentation est orienté vers la synthèse de triglycérides et la néolipogénèse. A l'état de jeûne les lipides stockés sous forme de triglycérides vont pouvoir être utilisés pour fournir de l'énergie par la β -oxydation des acides gras, pour la néoglucogénèse et la cétogénèse à partir de l'acétyl CoA qui est le produit final de la β -oxydation (POLONOVSKI 1989, BEYLOT 1993). En cas de dénutrition, les réserves énergétiques sont utilisées par l'organisme jusqu'à épuisement du tissu adipeux ; il y a alors un déséquilibre entre les organes consommateurs d'énergie et les organes producteurs (muscles et tissus adipeux) qui ne fournissent plus assez d'énergie en cas de jeûne. Il devrait y avoir une perturbation du métabolisme lipidique, les flux lipidiques au travers des différentes lipoprotéines devraient montrer un flux hépatopète préférentiel, et un flux de triglycérides hépatofuge (allant vers les tissus périphériques) diminué. Le cholestérol est synthétisé par l'organisme et ses taux plasmatiques sont en général peu influencés par son apport alimentaire (HEGSTED 1965). C'est une substance fondamentale pour l'hormonosynthèse corticosurrénalienne et c'est un constituant essentiel des cellules. Enfin la malnutrition doit toucher la composition en acides gras essentiels de l'organisme qui est étroitement liée à l'apport exogène de ces acides gras (Acides linoléique et α linoléique). L'importance des lipides dans le métabolisme énergétique et dans l'homéostasie de l'organisme nous a donc conduit à étudier ces lipides par le biais des lipoprotéines et de leur composition en apoprotéines dans la MPE et dans l'AM.

4.1.2. Nature biochimique des lipides

Les lipides sont regroupés sur la base d'un caractère physique commun : leur insolubilité dans l'eau. Ce sont des substances grasses ou huileuses, substances organiques en général apolaires. On les sépare globalement en trois sortes de composés : les acides gras, les stérols dont le chef de file est le cholestérol, et les phospholipides.

4.1.2.1. Les acides gras (AG)

Ce sont des composés comprenant un radical R de nature aliphatique et un groupement COOH, responsable du caractère acide. Leur formule brute est $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{-COOH}$. Ce sont des molécules rectilignes mais non rigides qui comportent ou non des doubles liaisons pour être ainsi des AG saturés ou insaturés. Les corps gras alimentaires contiennent toujours des AG, soit sous forme d'acides gras libres (AGL) soit sous forme de triacylglycérol (TG) : 3 AG étant liés à une molécule de glycérol. On peut distinguer les mono, di ou triacylglycérols en fonction du nombre d'AG (1, 2 ou 3) qui sont liés au glycérol. Ces corps gras font partie des plus hydro-insolubles : ils s'amassent en gouttelettes dans les adipocytes. Ils constituent chez l'homme une forme majeure de réserve énergétique en devenant les substrats de la cétogénèse par le biais de la β -oxydation mitochondriale.

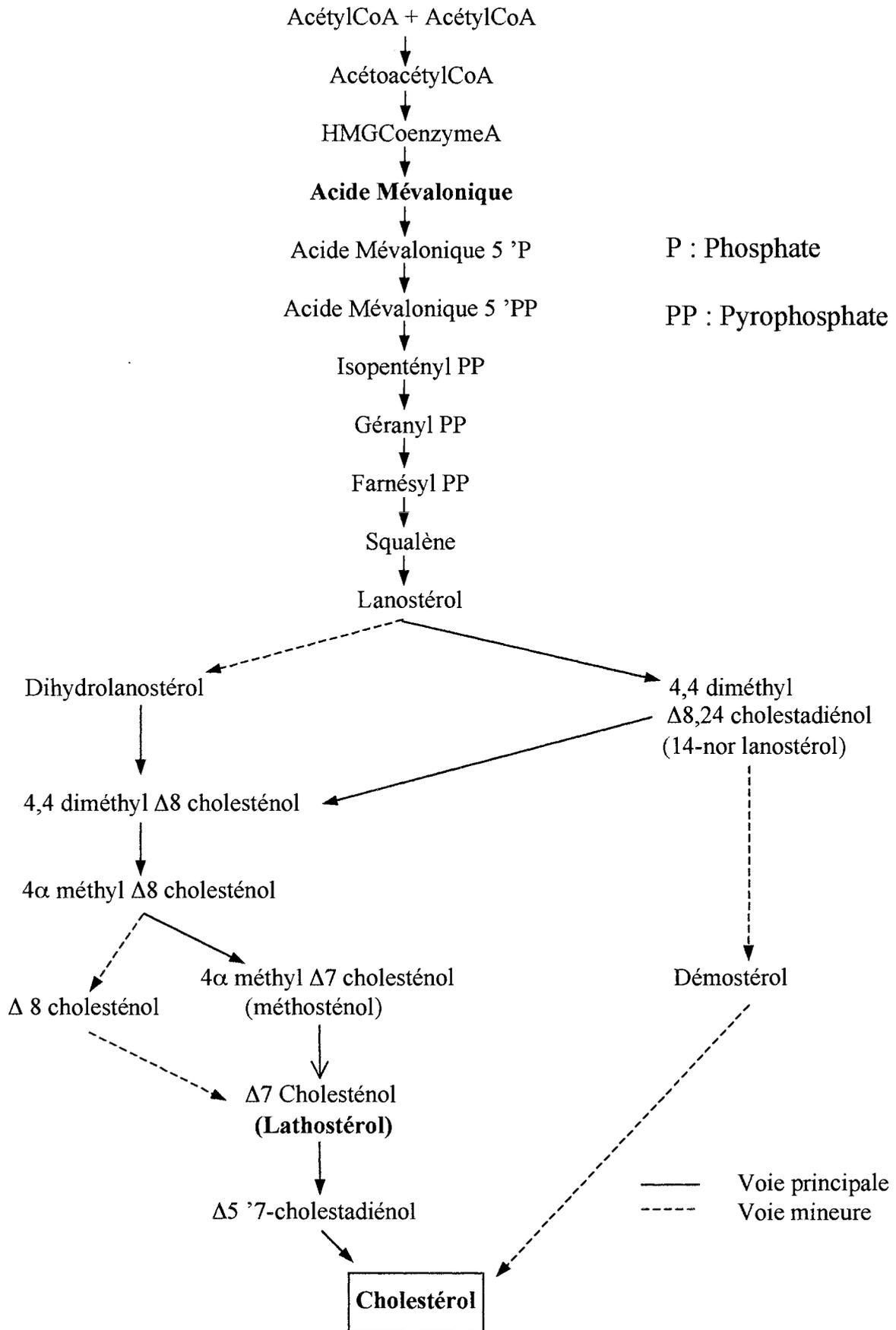
Enfin, certains AG sont à l'origine de substances essentielles comme les prostaglandines synthétisées à partir de l'acide arachidonique qui donne les leucotriènes d'un côté et les prostanoïdes (prostaglandines, thromboxane, prostacyclines) de l'autre.

4.1.2.2. Les stérols

Les stérols sont des stéroïdes comprenant au moins un groupement OH. Ils sont, pour la plupart, construits sur un noyau à 4 cycles dérivant du noyau cyclopentanoperhydrophénantrénique. Le cholestérol présente un groupement 3 OH à ce noyau : ce groupement peut d'ailleurs subir une estérification par un acide gras et on va obtenir des stérides différents en fonction de l'acide gras qui va estérifier le cholestérol. Le cholestérol est le stérol le plus abondant de l'organisme. Il est un constituant essentiel des membranes cellulaires. C'est également un constituant essentiel de la myéline qui est indispensable au fonctionnement du tissu nerveux. Enfin il est le précurseur des sels biliaires et de nombreuses hormones. Le cholestérol peut être d'origine alimentaire mais il est surtout synthétisé *in vivo* par une voie métabolique dont l'enzyme clé est la 3-hydroxy-3 méthyl glutaryl CoA réductase (HMG CoA réductase). Cette enzyme est régulée par le cholestérol exogène qui est apporté par les LDL et internalisé dans la cellule grâce au récepteur à apo B-E. Par exemple, en cas d'absence de ce récepteur, il n'y a plus d'entrée de cholestérol dans la cellule, plus d'inhibition de la HMG CoA réductase et hyperproduction de cholestérol endogène qui est à l'origine de l'hypercholestérolémie familiale ou hyperlipidémie de type II a. Cette synthèse endogène est de 8 à 15 mg/kg/j (DIETSCHY 1993) et peut atteindre 2 à 3 g/jour dans certaines conditions (FEREZOU 1990). La voie de synthèse du cholestérol est bien connue (Figure n° 3). Elle comporte de nombreuses étapes (CRASTES DE PAULET 1968, MATHE 1984). Le cholestérol est synthétisé à partir de l'acétyl CoA présent en quantité importante dans le cytosol. L'acétyl CoA donne de l'acétoacétyl CoA qui se transforme en HMG CoA puis en acide mévalonique ; cette dernière étape est catalysée par l'HMG CoA réductase, enzyme clé et limitante de la synthèse endogène du cholestérol.

L'acide mévalonique conduit en 6 étapes au squalène dont la cyclisation donne le lanostérol. Douze étapes sont encore nécessaires pour parvenir à la molécule de cholestérol, l'avant-dernière étape donne le lathostérol qui est donc en relation directe avec la synthèse endogène de cholestérol. La voie d'élimination du cholestérol est biliaire par la formation de sels biliaires où des groupements OH se placent en différents points pour augmenter l'hydrosolubilité du cholestérol. Ainsi il pourra être éliminé dans la bile où les acides biliaires joueront un rôle détergent : ils émulsifient également le contenu lipidique duodéal.

Figure n° 3 Voie de synthèse du cholestérol, (CRASTE DE PAULET 1968)



4.1.2.3. Les phospholipides

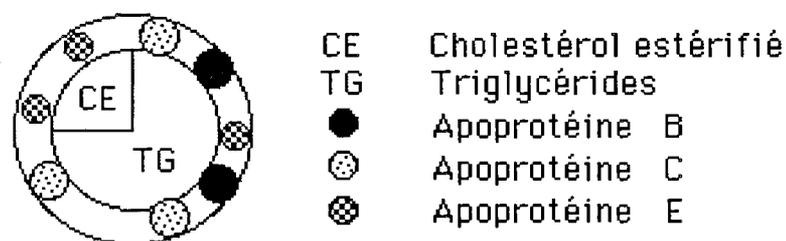
Sous ce terme générique sont regroupées des substances de structure voisine dont une des caractéristiques principales est de posséder un radical phosphate et une partie polaire. On distingue des *phosphoglycérides* comportent les AG en 1 et sur une molécule de glycérol : en 2 on retrouve un radical x-phosphate, et en fonction de la nature du groupement x, on individualise les grandes familles de phosphoglycérides qui sont des constituants majeurs des membranes cellulaires. Lorsqu'il manque l'AG en 3 on parle de *lysophosphoglycérides* car ils peuvent créer une hémolyse si leur proportion devient excessive au niveau de la membrane cellulaire. Le radical glycérol + AG peut être remplacé par la sphingosine et on est alors en présence de *sphingolipides* qui sont également des constituants membranaires. Enfin, si l'on remplace la partie polaire des sphingolipides par un ose, on obtient les *glycosphingolipides* neutres et acides comme les gangliosides et les cérébrosides, qui sont abondants au niveau du système nerveux et de certaines membranes plasmiques.

4.1.3. Le métabolisme des lipides circulants

4.1.3.1. Les Lipoprotéines

Les lipoprotéines plasmatiques sont de grosses structures macromoléculaires sphériques contenant un centre lipidique hydrophobe avec des triglycérides, du cholestérol et la partie hydrophobe des phospholipides et une interface amphipathique avec l'environnement plasmatique hydrophile comprenant les protéines spécifiques (apoprotéines) , la partie hydrophile des phospholipides et du cholestérol non estérifié.

Figure n° 4 : Composition et structure générale d'une lipoprotéine : VLDL



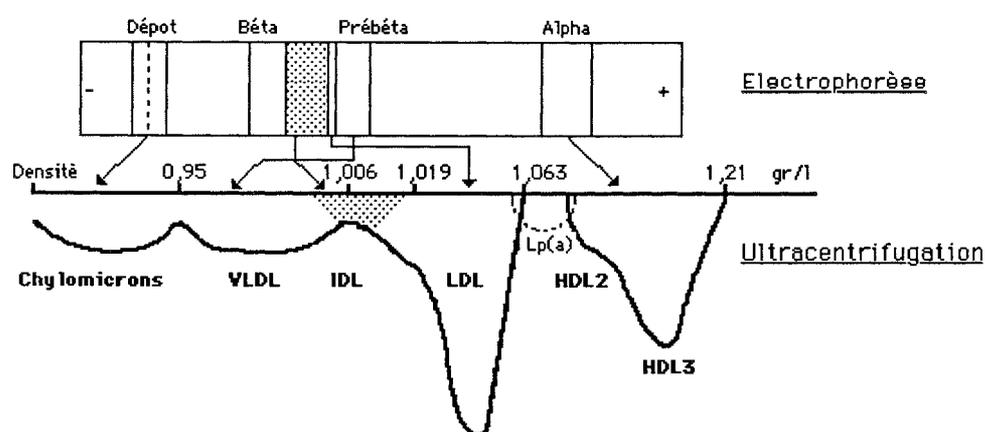
Le métabolisme des lipoprotéines sera principalement régi par les apoprotéines. La présence ou l'absence d'apoprotéines spécifiques à la surface d'une particule lipoprotéique est modulée par les propriétés de liaison des lipides à l'apoprotéine, par la composition des lipides de surface et par les dimensions de la particule. La nature et le rapport des masses de ces lipides de surface dépendent eux-même de l'activité des enzymes cataboliques stimulées par les apoprotéines, et de l'activité de protéines de transfert qui agissent dans l'échange des lipides de surface entre les différentes particules lipoprotéiques. Il va donc y avoir synthèse puis sécrétion de particules lipoprotéiques qui vont acquérir secondairement, dans le plasma, des apoprotéines qui stimuleront ou inhiberont telle ou telle activité enzymatique, ce qui va entraîner des changements dans la taille et la composition des particules lipoprotéiques.

Tous ces changements entraîneront la perte et l'échange d'apoprotéines et de lipides tout au long du métabolisme plasmatique des particules lipoprotéiques. Celles-ci vont se modifier, acquérir de nouvelles propriétés, et moduler, jusqu'à leur dégradation terminale, le métabolisme lipidique. Ainsi les apoprotéines sont des programmatrices efficaces du métabolisme des lipoprotéines et elles jouent un grand rôle en établissant un cycle d'une façon dirigée, entre les lipoprotéines naissantes et les lipoprotéines plasmatiques existantes. Après cette présentation rapide du métabolisme des lipoprotéines, nous allons voir successivement et plus en détail, les lipoprotéines, les apoprotéines puis le métabolisme de ces particules avec toutes les enzymes et protéines de transfert mises en jeu dans ce métabolisme.

4.1.3.1.1. Séparation des lipoprotéines

Les lipoprotéines plasmatiques ont été tout d'abord séparées en fonction de leur migration en électrophorèse sur support solide (BLIX 1941). Puis la classification en chylomicrons VLDL-IDL, LDL et HDL vint d'une technique de séparation des lipoprotéines par ultracentrifugation (HAVEL 1955), la correspondance entre ces deux techniques est montrée Figure n° 5 et est expliquée ci-dessous.

Figure n° 5 : Correspondance entre l'électrophorèse et l'ultracentrifugation dans la séparation des lipides plasmatiques.



En partant de l'origine, on peut observer le dépôt contenant les chylomicrons, puis les lipoprotéines (LDL) puis les prébéta lipoprotéines (VLDL) ; entre ces deux zones il y a la zone des lipoprotéines de densité intermédiaire IDL et au-delà la zone des alphalipoprotéines correspond aux HDL₂ et HDL₃.

4.1.3.1.2. Les chylomicrons (CM)

Ils sont formés dans les entérocytes et transportent les lipides d'origine alimentaire (GREEN 1981). L'entérocyte absorbe les lipides alimentaires, passivement pour la plupart, sous forme de monoglycérides et pour 10 % sous forme de triglycérides. Les AG insaturés à longue chaîne sont absorbés de façon active grâce à une "fatty acid binding protein" (FABP)(OCKNER 1974). Le cholestérol estérifié d'origine alimentaire pénètre dans l'entérocyte sous forme de cholestérol libre et les phospholipides sous forme de lysophospholipides. La re-synthèse des triglycérides se fait dans le réticulum endoplasmique de l'entérocyte, soit à partir des monoglycérides soit par la voie plus accessoire de l'alphaglycérophosphate. Les phospholipides sont formés à partir des lysolécithines alimentaires ou par l'intermédiaire d'une choline phosphotransférase et d'acides gras d'origine non alimentaire. De même les AG du cholestérol estérifié sont peu représentatifs des graisses exogènes. Ainsi l'enveloppe des CM est relativement indépendante des lipides du régime ; par contre, les triglycérides du noyau de la particule sont d'origine quasi exclusivement alimentaire. L'absorption entérocytaire des lipides et leur re-synthèse conditionnent la quantité de triglycérides portée par un CM et donc conditionnent sa taille.

La synthèse des apoprotéines s'effectue également au niveau du réticulum endoplasmique. La synthèse d'Apo B a été démontrée dans les entérocytes humains : un pool cellulaire serait mobilisé pour la formation initiale des CM qui se poursuit grâce à une nouvelle synthèse. L'Apo B ainsi synthétisée est différente de l'Apo B retrouvée sur les VLDL d'origine hépatique ; on nomme cette Apo B entérocytaire : Apo B₄₈ (KANE 1980). L'entérocyte humain peut également synthétiser d'autres apoprotéines que l'on trouve dans le CM (apo AI, AII, AIV, E).

L'assemblage des divers éléments constitutifs du CM s'effectue au long de son cheminement dans le réticulum endoplasmique rugueux et lisse. Les CM naissants sont sécrétés dans une vacuole au niveau du système de membranes de l'appareil de Golgi : ces vacuoles acheminées vers la partie latéro-basale de l'entérocyte libèrent les CM naissants dans l'espace intercellulaire où ils se chargent d'Apo C et E au contact des HDL. La particule passe ensuite la basale des vaisseaux puis part dans le courant lymphatique et dans le sang où se poursuivent les échanges d'apoprotéines. Le CM mature est donc très riche en triglycérides exogènes, contient du cholestérol estérifié, des phospholipides et possède des apoprotéines A₁, A₂, B, C et E. La demi-vie d'une telle particule chez l'homme est brève : de l'ordre d'une demi-heure ; l'hydrolyse des triglycérides du CM par la LPL (lipoprotéine lipase) étant très rapide. Les caractéristiques physico-chimiques du CM ainsi que sa composition sont résumées dans le Tableau n° 7.

Tableau 7 : Caractéristiques physiques et compositions, exprimées en pourcentage des lipoprotéines plasmatiques (DOLPHIN 1985).

| Composants | Chylomicron | VLDL | IDL | LDL | Lp(a) | HDL2 | HDL3 |
|---------------------|-------------|---------|-----------------|-----------------|----------|-----------------|----------------|
| Protéines | 2,0 | 8,0 | 17,8 | 20,5 | 24,1 | 46,1 | 61,0 |
| Apoprotéines | A, B, C, E | B, C, E | B, E, C | B, C | Apo (a) | A, C, D, E | A, C, D |
| Triacylglycérols | 90 | 55 | 29,5 | 5,1 | 1,9 | 2,5 | 1,9 |
| Cholestérol | 1 | 7 | 5,8 | 8,5 | 9,1 | 3,6 | 1,9 |
| Ester du chol. | 3 | 12 | 22,7 | 42,3 | 38,2 | 18,8 | 14,2 |
| Phospholipides | 4 | 18 | 24,2 | 23,6 | 14,6 | 28,1 | 20 |
| Glucides | <1 | <1 | <1 | <1 | 12 | <1 | <1 |
| Diamètre (Å) | 105-75x104 | 550 | 250 | 200 | 236 | 110 | 89 |
| PM x10 ⁶ | 103-104 | 5-27 | 4,75 | 3,95 | 5,4 | 0,22 | 0,16 |
| Densité (g/ml) | <0,95 | 1,006 | 1,006- 1,019 | 1,019- 1,063 | 1,08-1,1 | 1,063- 1,125 | 1,125- 1,21 |

4.1.3.1.3. Les lipoprotéines de très faible densité (very low density lipoprotein VLDL)

Les VLDL sont principalement synthétisées par le foie (CHAPMAN 1982). Les triglycérides hépatiques dits "endogènes" sont synthétisés à partir d'AG libres provenant du plasma et de précurseurs non lipidiques. Le foie est en outre capable de synthétiser les apoprotéines B, E et C. L'Apo B₁₀₀ synthétisée par le foie est différente de son homologue intestinale : l'Apo B₄₈. L'assemblage progressif des VLDL hépatocytaires est analogue à celui des CM dans l'entérocyte et s'effectue progressivement dans la lumière du réticulum endoplasmique pour se terminer dans l'appareil de Golgi des hépatocytes. Les VLDL contenus dans les vésicules sécrétoires sont transportés par un système microtubulaire et microfilamenteux. Les vésicules fusionnent avec la membrane plasmique et libèrent leur contenu dans l'espace de Disse. Les VLDL initialement pauvres en Apo C passent à travers l'endothélium des sinusoides tout en se chargeant en Apo C au contact des HDL. Dans le plasma les VLDL vont réagir avec la lipoprotéine lipase (LPL) qui, comme pour les CM, va hydrolyser les triglycérides endogènes du noyau (REARDON 1978). Cette hydrolyse intravasculaire s'accompagne de la libération d'AG libres et de glycérol captés par les cellules périphériques et aboutit comme pour les CM à la formation de particules résiduelles ou "remnants" qui correspondent aux IDL de la nomenclature classique. Les caractéristiques physico-chimiques et la composition des VLDL sont résumées dans le Tableau n°7.

4.1.3.1.4. Les lipoprotéines de densité intermédiaire (Intermediate density lipoprotein IDL)

Les marquages isotopiques montrent qu'une particule de VLDL donne une particule d'IDL qui elle-même va donner naissance à une particule de LDL dans un temps respectif de 6 et 18 heures. La genèse des IDL se confond donc avec le catabolisme des VLDL et la genèse des LDL se confond avec le catabolisme des IDL.

4.1.3.1.5. Les lipoprotéines de faible densité (Low density Lipoprotein LDL)

L'hypothèse généralement admise pour le passage des IDL vers les LDL est que ce passage comporte d'une part une délipidation par hydrolyse des triglycérides grâce à la triglycéride lipase hépatique (TLH) et d'autre part, à une disparition des apoprotéines C et E avec conservation de l'Apo B₁₀₀ (EISENBERG 1976). Les LDL formés ont alors une demi-vie de l'ordre de 2 à 3 jours, le foie étant un des principaux sites d'épuration ; il épure chez l'homme normal de 30 à 50 % des LDL. Les autres LDL peuvent être épurées par :

1) un système analogue aux récepteurs des Apo B et E situé dans la quasi totalité des tissus extra-hépatiques, en particulier dans les gonades et les surrénales (BROWN 1979).

2) par un système de récepteur cellulaire de faible affinité dont la mise en jeu dépendrait de la cholestérolémie.

3) par un processus d'endocytose par les cellules du système réticulo-endothélial (10 à 15 % des LDL seraient épurées par cette voie) (GOLDSTEIN 1977).

4) enfin chez l'animal hypercholestérolémique, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les fibroblastes seraient capables de capter des esters de cholestérol directement à partir du plasma (AULINSKAS 1981) ou d'incorporer une lipoprotéine qui serait partiellement épurée en cholestérol puis remise en circulation par rétro-endocytose (AULINSKAS 1981).

L'épuration des LDL fait intervenir leur fixation sur des récepteurs de haute affinité (Apo B) situés sur les zones particulières de la membrane plasmique dites "coated pits". Ces récepteurs reconnaissent les LDL par leur Apo B₁₀₀, les sites d'épuration étant hépatiques et extra-hépatiques. La particule de LDL est ensuite internalisée par invagination rapide de la membrane plasmique. La vésicule ainsi formée délivre la particule de LDL aux lysosomes dont les enzymes vont hydrolyser les différents éléments. Les protéines seront catabolisées en acides aminés et le cholestérol estérifié transformé en cholestérol libre par une lipase acide. Le cholestérol intracytoplasmique va contrôler 3 voies métaboliques (GOLDSTEIN 1977b) :

1) il bloque l'activité de l'HMG CoA réductase, enzyme clef de la biosynthèse du cholestérol.

2) il stimule la cholestérol acyl transférase qui ré-estérifie le cholestérol, les esters ainsi formés étant stockés dans des vésicules cytoplasmiques.

3) il déprime la synthèse du récepteur évitant ainsi la surcharge cellulaire en LDL internalisées.

4.1.3.1.6 Les lipoprotéines de forte densité (High density Lipoprotein HDL)

Les HDL ne sont pas sécrétées sous la forme sphérique habituelle des lipoprotéines (HAMILTON 1976). On admet actuellement qu'il y a trois sources de HDL naissantes d'aspect bilamellaire ou discoïde (TALL 1978) : hépatocytaire, entérocytaire et venant des composants de surface résultant de la délipidation des protéines riches en triglycérides.

4.1.3.1.6.1. La synthèse des HDL

Les précurseurs des HDL sont des complexes associant des apoprotéines, des phospholipides et du cholestérol libre. Ils proviennent de trois sources :

- Dans le foie, la partie protéique des HDL est synthétisée par le réticulum endoplasmique rugueux, avec formation principalement d'Apo E et de quelques Apo A. Dans le réticulum endoplasmique lisse, des hydrates de carbone se fixent sur l'enveloppe protéique et des phospholipides sont ajoutés dans l'appareil de Golgi. Un noyau lipidique minime composé essentiellement de cholestérol libre est déjà formé dans le réticulum endoplasmique rugueux. La particule ainsi constituée est pauvre en cholestérol, présente une structure discoïde constituée d'une double couche de phospholipides entourés d'Apo A et E (HAMILTON 1978). Une synthèse identique a lieu au niveau de l'entérocyte. Les HDL naissantes d'origine intestinale seraient plus riches en Apo A₁ (GREEN 1978).

-La deuxième source (probablement la plus importante quantitativement) résulterait de l'action de la LPL sur les CM et les VLDL. Lors de l'hydrolyse de ces particules les composants de surface excédentaires (étant donnée la réduction du volume de ces particules) s'organisent en bi-couches lipidiques qui pourraient s'individualiser ultérieurement en éléments vésiculaires ou discoïdes puis fusionner avec des HDL naissantes hépatiques ou intestinales ou bien encore, s'associer avec des HDL₃ (DROUIN 1987, HAVEL 1995).

-La troisième source est la formation in vivo dans le plasma des précurseurs des HDL à partir d'un pool d'Apo A₁ (synthèse d'Apo A₁ libres ou libérées lors de l'hydrolyse des LP riches en TG), de phospholipides provenant des membranes cellulaires ou libérées lors de l'hydrolyse des LP riches en TG et de cholestérol libre venant rejoindre le complexe Apo A₁-phospholipide (DROUIN 1987, RUDEL 1999).

4.1.3.1.6.2. Transformation des précurseurs en HDL sphériques

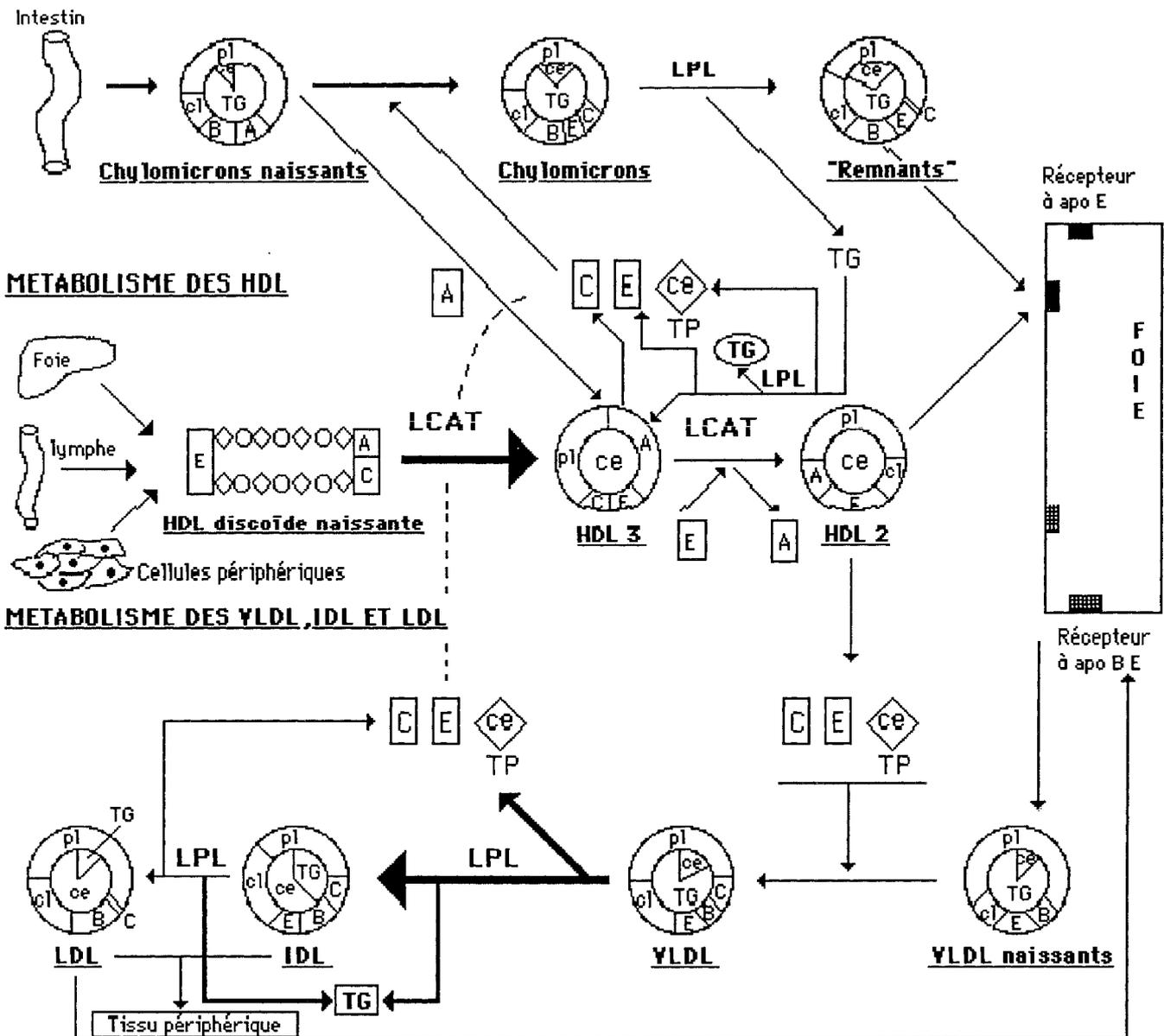
Les précurseurs vont être modifiés au niveau du plasma par l'intervention de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) qui va transformer le cholestérol libre en cholestérol estérifié et en lysolécithine, constituant ainsi un noyau hydrophobe au sein des particules discoïdes et leur conférant ainsi progressivement une forme sphérique. Pendant ce temps, les HDL vont acquérir des apoprotéines A, E, etc... qui viennent des CM et des VLDL.

4.1.3.1.6.3. Modification intra-vasculaire des HDL

Les HDL constituent un pool plasmatique de lipides et d'apoprotéines soumis à un métabolisme intense (BROWN 1979, EISENBERG 1984). Le cholestérol libre et estérifié, les TG, les apoprotéines et les phospholipides sont soumis à des échanges permanents entre les HDL elles-mêmes, avec les autres LP et avec les parois cellulaires. Ces échanges sont favorisés par les protéines de transfert lipidique et les systèmes enzymatiques. La lysolécithine produite par la LCAT est transférée à l'albumine et épurée du sang, tandis que les esters de cholestérol sont transférés par une protéine de transfert du cholestérol (DRAYNA 1987, SERDUYK 1999) aux autres particules HDL ou aux autres particules (LDL, particules riches en triglycérides). Ces ainsi que les autres particules peuvent s'enrichir en cholestérol qui provient des HDL.

Figure n° 6 : Schéma récapitulatif du métabolisme des lipoprotéines.

METABOLISME DES CHYLOMICRONS



Légende :

A, B, C, E : Apoprotéine A, B, C et E.

ce : Cholestérol estérifié; cl : Cholestérol libre ; TG : triglycérides ; pl : Phospholipides

LPL : Lipoprotéine lipase ; LCAT : Lécithine cholestérol acyl transférase

 : Cholestérol ester protéine transférase


4.1.3.1.6.4. Rôle des HDL

Si l'entrée du cholestérol dans la cellule est surtout secondaire à l'internalisation des LDL, le transport centripète qui fait sortir le cholestérol des cellules périphériques est sous la dépendance des HDL (ROHEIM 1986). Une sous-population spécifique d'Apo A₁ associée à une estérification du cholestérol par la LCAT entraînerait l'afflux de cholestérol hors de la cellule.

Il faut noter que l'afflux cellulaire du cholestérol s'accompagne d'une augmentation de la synthèse cellulaire du cholestérol et des récepteurs de LDL.

4.1.3.1.6.5. Catabolisme des HDL

La demi-vie de ces particules va de 3,5 à 5,8 jours (HAMILTON 1978). Les HDL avec les Apo E permettraient d'obtenir une voie catabolique de retour du cholestérol estérifié des tissus et du plasma vers le foie et l'excrétion biliaire (MALHEY 1985). La plupart des tissus semblent posséder des récepteurs des HDL. Selon les marqueurs utilisés la part des différents organes varie : le foie, les reins, les ovaires et les surrénales semblent jouer les rôles les plus importants.

4.1.3.1.7. La Lipoprotéine Lp (a)

Cette lipoprotéine a été découverte en 1963 (BERG 1963). Elle est reliée aux LDL (EHNHOLEN 1972) bien qu'elle soit trouvée en moindre concentration (RHOADS 1986) et serait un marqueur très sensible du risque de maladie coronarienne athéromateuse (RHOADS 1986, DALHEN 1986). L'apo B est l'apoprotéine principale de la Lp (a) mais il a été trouvé ensuite un antigène spécifique de la Lp (a) : l'apo (a) (UTERMAN 1972). Si les taux de Lp (a) ont pu être liés à ceux de l'apo B (ALBERS 1974), on sait actuellement que la Lp (a) n'est pas un produit du catabolisme des LDL (KREMPLER 1979) et pourrait être synthétisée séparément des autres lipoprotéines (KREMPLER 1980). En résumé, la Lp (a) est une lipoprotéine qui est structurellement et fonctionnellement apparentée aux LDL. Les taux de cette particule sont variables en fonction des individus et seraient génétiquement déterminés. Son existence étant prise par DURRINGTON, comme la marque d'une hérédité prédisposant au risque d'athérosclérose et de thrombose vasculaire (DURRINGTON 1988).

4.1.3.2. Les Apolipoprotéines

Partie protéique des lipoprotéines, les apolipoprotéines sont en général désignées selon la nomenclature décrite par ALAUPOVIC (1980). Les apoprotéines sont en quelque sorte la partie "intelligente" des lipoprotéines ; elles jouent plusieurs rôles (ASSMAN 1982, FORTE 1972, LUC 1983, MAHLEY 1984) :

- dans le transport vasculaire et la distribution tissulaire des lipides grâce à leurs propriétés de reconnaissance et de liaison à des récepteurs spécifiques (Apo B₁₀₀, Apo E).
- au niveau structural des lipoprotéines, grâce à la présence de régions hélicoïdales capables de se lier avec les molécules lipidiques ; elles participent ainsi à la stabilité de la structure micellaire des lipoprotéines.
- avec les phospholipides, elles assurent le caractère hydrophile des couches externes des particules.
- enfin elles jouent le rôle de cofacteurs enzymatiques (Apo A₁ et C II notamment).

Les caractéristiques des différentes apoprotéines sont résumées dans le Tableau n° 8 et leur répartition au sein de chaque lipoprotéine est résumée dans le Tableau n° 9.

Tableau n° 8 : Caractéristiques essentielles des apoprotéines

| Apo | PM | Synthèse | Lp porteuse | Fonctions |
|------|------|---------------------|-------------------------|--|
| AI | 28,3 | Intestin, Foie | CM, HDL, | Prot de structure des HDL, cofacteur de la LCAT |
| AII | 17 | Intestin, Foie | CM, HDL, | Prot de structure des HDL |
| AIV | 46 | Intestin, Foie | CM, HDL | Activateur de la LCAT ? “ reverse cholestérol transport ” |
| B100 | 549 | Foie | VLDL, IDL, LDL | Prot de structure des IDL et LDL, interaction récepteur ApoB-E LDL |
| B48 | 265 | Intestin | CM | Prot de structure des CM |
| CI | 6,5 | Foie | CM, HDL, VLDL | Activateur LCAT et LPL |
| CII | 8,8 | Foie | CM, HDL, VLDL | Activateur de la LPL |
| CIII | 8,7 | Foie | CM, HDL, VLDL | Inhibiteur de la LPL |
| D | 20 | Foie | HDL | Transfert d cholestérol estérifié |
| E | 39 | Foie, Macrophage | VLDL, IDL, LDL , HDL | Interaction avec les récepteurs ApoB-E des LDL et récepteurs ApoE des remnants |
| F | 30 | Foie | HDL | ? |
| G | 72 | ? | HDL | ? |

Tableau n° 9 : Répartition des apoprotéines au sein de chaque lipoprotéine (en g/100 g de protéine)

| Apoprot | CM | VLDL | LDL | HDL |
|---------|------|--------|--------|--------|
| AI | 7,4 | Traces | | 67 |
| AII | 4,2 | Traces | | 22 |
| B | 22,5 | 36,9 | 98 | Traces |
| CI | 15 | 3,3 | Traces | 1-3 |
| CII | 15 | 6,7 | Traces | 1-3 |
| CIII | 36 | 39,9 | Traces | 3-5 |
| D | | | | + |
| E | | 13 | Traces | + |

4.1.3.2.1. Les Apoprotéines A

4.1.3.2.1.1. L'apoprotéine A I

L'Apo A₁ est un composant majeur des HDL ; on la trouve en plus faible quantité dans les CM. Son taux plasmatique varie de 1,10 à 1,6 g/l chez l'adulte (FRUCHART 1985) ; sa demi-vie est de 4 jours. Divers isomorphes ont été découverts par isoélectrofocalisation et sont témoins de nombreuses variantes génétiques dont la fréquence reste très faible (< 0,1 %). Le gène codant pour l'Apo A₁ est situé sur le chromosome 11 (BRESLOW 1986). L'Apo A₁ est synthétisée par le foie et par l'intestin. D'origine hépatique, elle gagne la circulation dans les HDL naissantes : l'Apo A₁ intestinale fait partie des CM et elle est transférée aux HDL lors de l'hydrolyse des CM. Le rôle de l'Apo A₁ est double :

- tout d'abord, c'est une protéine de structure des LP (surtout des HDL) étant donné son nombre élevé de régions hélicoïdales permettant de se lier avec les lipides.

- ensuite, son rôle fondamental est d'être activateur de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT), enzyme chargée de l'estérification du cholestérol. Son catabolisme est parallèle à celui des HDL et se situe principalement dans le foie et le rein, mais aussi au niveau de l'intestin, des ovaires et des surrénales (EISENBERG 1984, MAHLEY 1984).

Il faut noter que l'Apo A₁ est un excellent marqueur du risque coronarien (FRUCHART 1985) ; un taux élevé d'Apo A₁ étant protecteur vis à vis de l'athérosclérose (ROHEIM 1986).

4.1.3.2.1.2. L'apoprotéine A II

C'est le deuxième composant protéique des HDL. Sa concentration plasmatique est de 0,2 à 0,7 g/l chez l'adulte et sa demi-vie de 4 jours environ. Le gène codant pour l'Apo A₂ est situé sur le bras long du chromosome 1 (BRESLOW 1986). L'Apo A₂ joue un rôle structural identique à celui de l'Apo A₁ ; elle pourrait inhiber l'action de la LCAT en déplaçant l'Apo A₁ à la surface des HDL. L'Apo A₂ peut également former un dimère avec l'Apo E, l'empêchant ainsi de se lier avec son récepteur spécifique. Enfin, l'Apo A₂ serait un activateur de la triglycéride lipase hépatique (JAHN 1983).

4.1.3.2.1.3. L'apoprotéine A III

Elle correspond à l'apoprotéine D et sera détaillée ultérieurement.

4.1.3.2.1.4. L'apoprotéine A IV

L'apoprotéine A₄ est un composant des chylomicrons. On a pu déterminer un polymorphisme génétique pour l'Apo A₄ dont le gène est situé sur le bras long du chromosome 11 (BRESLOW 1986). Son métabolisme semble très différent de celui des autres apoprotéines ; son turn over est très rapide et la majorité des Apo A₄ n'est pas liée aux lipoprotéines. Sinon, on en retrouve sur les HDL et sur les CM ; sa synthèse a lieu au niveau intestinal. Le rôle de l'Apo A₄ reste hypothétique : formation et catabolisme des CM, rôle dans les échanges de lipides entre les HDL et les autres lipoprotéines (MAHLEY 1984, GHISELLI 1986), et un éventuel rôle au niveau du tissu interstitiel dans le transport de retour du cholestérol vers le foie (ROHEIM 1986).

4.1.3.2.2. Les Apoprotéines B

Il existe deux formes d'Apo B : l'Apo B₁₀₀ synthétisée par le foie et l'Apo B₄₈ synthétisée par l'intestin (KANE 1980) ; 5 à 10 % de sa masse correspond à des groupements glycosylés.

sinon sa composition en acides aminés est comparable à celle des autres apolipoprotéines. L'Apo B est très difficile à étudier car elle est insoluble dans l'eau et il est presque impossible de la purifier. Le gène codant pour l'Apo B se trouverait sur le chromosome 2 (BRESLOW 1986). Actuellement l'Apo B est une exception à la règle : un gène = une protéine puisque l'on sait que l'Apo B48 et l'Apo B100 sont deux protéines différentes issues d'un même gène dont la transcription "tissu spécifique". L'hépatocyte transcrit tout le gène, par contre, l'entérocyte n'en transcrit qu'une partie ce qui donne lieu à deux protéines différentes (POWELL 1987).

4.1.3.2.2.1. L'apoprotéine B48

Synthétisée exclusivement par l'intestin, l'apoprotéine B48 est la protéine de structure des CM, indispensable à leur synthèse. On la retrouve à la surface des particules résiduelles ou "remnants" après l'hydrolyse des CM. La durée de vie de l'Apo B48 est très brève (de l'ordre de 10 minutes). Elle interviendrait dans la captation des remnants par le foie. En effet, les remnants des VLDL qui ne possèdent pas l'Apo B48 sont captés par le foie beaucoup plus lentement (MAHLEY 1984). Étant donnée sa demi-vie extrêmement courte, l'Apo B48 n'est pratiquement pas décelable dans le plasma de l'homme normal à jeun.

4.1.3.2.2.2. L'apoprotéine B100

L'Apo B100 est retrouvée dans les LDL, IDL et VLDL. Elle est synthétisée exclusivement par le foie puis mise en circulation avec les VLDL qui seront ensuite catabolisés en IDL et LDL. Lors de ces transformations, l'Apo B100 reste toujours fixée aux particules lipoprotéiques et ne se trouve jamais dans le plasma sous forme libre. L'Apo B100 est indispensable non seulement à la synthèse et à l'excrétion des VLDL (et des LDL) par le foie, mais encore à la reconnaissance des LDL par leurs récepteurs spécifiques (récepteurs à Apo B et E). Le taux plasmatique de l'Apo B100 varie de 0,7 à 1,3 g/l. Chez le sujet normal, plus de 90 % des Apo B sont transportées par les LDL, mais en cas d'hypertriglycéridémie 20 à 50 % de celles-ci peuvent être portées par les VLDL et les CM (ASSMAN 1982).

4.1.3.2.3. L'apoprotéine (a)

C'est l'apoprotéine spécifique de la Lp (a). Sa découverte fût progressive et on l'a longtemps confondue avec l'Apo B. Actuellement, c'est une protéine bien individualisée. On sait que le gène de l'Apo (a) se situe sur le bras court du chromosome 6 à côté du gène du plasminogène (FRANK 1988). Cette apoprotéine aurait un intérêt majeur dans la reconnaissance des terrains prédisposés à l'athérosclérose ; son taux plasmatique pouvant être lié fortement au risque de survenue d'une pathologie athéromateuse (RHOADS 1986, DAHLEN 1986, DURRINGTON 1988). Cette apoprotéine serait capable d'activer la LCAT (FLOREN 1981).

4.1.3.2.4. Les Apoprotéines C

Les Apo C forment un groupe de 3 peptides de faibles poids moléculaires et dont les séquences en acides aminés sont connues ; leur synthèse est hépatique et intestinale. Les gènes codant pour l'Apo C₁ et C₂ sont situés au niveau de la région centromérique du chromosome 19 ; celui de l'Apo C₃ serait situé sur le bras long du chromosome 11 (BRESLOW 1986).

Comme les Apo A, les Apo C sont capables de former des couples protéines phospholipides, et elles peuvent être redistribuées entre les différentes classes de lipoprotéines. A jeun, les Apo C sont

surtout associées aux HDL ; après le repas elles sont redistribuées au profit des particules riches en TG (VLDL et CM) et lors de l'hydrolyse de ces particules par la LPL , les Apo C retournent aux HDL.

4.1.3.2.4.1. L'apoprotéine C I

C'est un peptide de 79 AA, son poids moléculaire est de 8 800 et son taux plasmatique est de 50 à 110 mg/l chez l'adulte. L'Apo C I active la LCAT in vitro ; elle pourrait donc participer à l'estérification du cholestérol des HDL.

4.1.3.2.4.2. L'apoprotéine C II

C'est un peptide de 79 AA qui a un poids moléculaire de 8 800. Sa concentration plasmatique varie de 10 à 67 mg/l chez l'adulte à jeun. Trois sites ont été individualisés dans la molécule :

- un site de liaison aux phospholipides
- un site de liaison à la LPL
- un site d'activation de la LPL

Le rôle principal de l'Apo C II est d'être le cofacteur indispensable à l'activité de la LPL comme le montre l'hypertriglycéridémie sévère que présentent les sujets porteurs d'un déficit en Apo C II. L'Apo C II pourrait également activer la LCAT (JONAS 1984).

4.1.3.2.4.3. L'apoprotéine C III

C'est un polypeptide de 79 AA, de masse moléculaire 8 700. Sa concentration plasmatique varie de 80 à 150 mg/l chez l'adulte. Trois isomorphes ont été déterminés : C III₀ - C III₁ - C III₂ , en fonction de leur contenu en acide sialique. L'Apo C III inhiberait l'action de la LPL : en réalité ce serait l'augmentation du rapport C II / C III qui augmenterait l'activité de la lipoprotéine lipase. L'Apo C III pourrait moduler la captation des particules résiduelles et des particules riches en TG par les récepteurs hépatiques (SHELBURNE 1980) ; enfin, l'Apo C III serait capable d'activer la LCAT (JONAS 1984).

4.1.3.2.5. L'apoprotéine D ou Apo A III

L'Apo D est une glycoprotéine de masse moléculaire 20 000. On la trouve principalement dans les HDL dont elle constitue moins de 5 % de la fraction protéique. Elle jouerait un rôle important dans les mécanismes de transports du cholestérol estérifié des HDL vers les autres lipoprotéines (FIELDING 1982, FIELDING 1980). Cette apoprotéine D n'est pas retrouvée par certains auteurs (EISENBERG 1984).

4.1.3.2.6. L'apoprotéine E

C'est un polypeptide de 229 AA, son poids moléculaire est de 39 000. Sa concentration plasmatique varie de 30 à 50 mg/l. Le gène codant pour l'Apo E se situe sur le chromosome 19 (BRESLOW 1986). On distingue trois isomorphes majeurs (E₂ , E₃ , E₄) qui diffèrent par leur contenu en arginine et en cystéine. Le polymorphisme est déterminé par un système co-dominant à 3 allèles sur un même locus. Il y a 3 variantes homozygotes (E₂/E₂ , E₃ / E₃ , E₄ /E₄) et 3 variantes hétérozygotes (E₂ /E₃ , E₃ / E₄ , E₂ / E₄). La synthèse de l'Apo E est principalement hépatique mais il a été démontré une synthèse extra-hépatique par de nombreux organes (cerveau, rate, ovaires, reins, surrénales, muscles) (FRUCHART 1985) ainsi qu'une synthèse importante par les macrophages (BASU 1981). Les rôles physiologiques de l'Apo E sont nombreux :

- L'Apo E a une très forte affinité pour les récepteurs à LDL du foie et des tissus périphériques (récepteurs à Apo B et E) et pour le récepteur à Apo E du foie.

- la présence d'Apo E sur les VLDL, les CM et des particules résiduelles riches en TG, explique leur clairance bien plus rapide que celle des HDL qui ne possèdent que très peu d'Apo E.

- Seuls les isomorphes E₃ et E₄ sont reconnus par les récepteurs, ce qui fait que les sujets E₂ /E₂ développent un syndrome comprenant xanthomatose palmaire, athérosclérose coronarienne prématurée et d'Apo E sérique élevée.

- L'Apo E joue aussi un rôle dans le transport et le métabolisme du cholestérol ; elle est la protéine majeure des particules résiduelles riches en cholestérol issues des CM, des VLDL et des HDL₁. L'Apo E est responsable de la captation cellulaire de ces particules.

- la présence d'Apo E dans les cellules gliales et dans le LCR fait envisager son rôle dans le transport lipidique au niveau du cerveau (FRUCHART 1985).

- le site responsable de la liaison de l'Apo E avec des récepteurs spécifiques, a également la propriété d'assurer la liaison des lipoprotéines à l'héparine ou à d'autres protéoglycanes. Ce processus pourrait être impliqué dans la liaison lipoprotéine-endothélium vasculaire.

- enfin, les lymphocytes possèdent un récepteur à Apo E. La fixation des lipoprotéines contenant de l'Apo E à ces récepteurs, inhibe l'activation des lymphocytes, suggérant ainsi un rôle immunologique de l'Apo E (DROUIN 1987).

4.1.3.2.7. Les autres apoprotéines

L'apoprotéine F a été retrouvée dans une sous-fraction de HDL. Son rôle physiologique est inconnu (DROUIN 1987). L'apoprotéine G a été isolée sur les HDL (AYRAULT-JARRIER 1978). L'apoprotéine H, qui possède une affinité pour les CM, serait activatrice de la LPL (BRESLOW 1986).

4.1.3.3. Les enzymes du métabolisme lipidique

4.1.3.3.1. La Lipoprotéine lipase

C'est une glycoprotéine (FIELDING 1974) de poids moléculaire d'environ 70 000 ; elle est fixée par des chaînes de glycosaminoglycanes (GAG) à la surface des cellules endothéliales des capillaires. Son activité optimale s'exerce à pH 8-9, avec un cofacteur : l'Apo C II (NILSSON-EHLE 1980). La LPL a été mise en évidence dans de très nombreux tissus (poumons, coeur, surrénales, testicules...) (CRYER 1979, CRYER 1981) et tout particulièrement dans les tissus adipeux et musculaires (BRAGDON 1958). Plusieurs formes cellulaires de LPL ont été décelées (NILSSON-EHLE 1976) :

- une forme (a) extra-cellulaire de masse moléculaire élevée et mobilisable par l'héparine.
- une forme (b) de masse moléculaire plus faible, de localisation intracellulaire.
- enfin une troisième forme (i) qui accompagne dans les membranes la forme (a).

On distingue donc 2 étapes dans le transfert tissulaire de la LPL : Tout d'abord la protéine passe du réticulum endoplasmique à la membrane plasmique. Ensuite la LPL est transportée par un mécanisme inconnu vers les capillaires sanguins où la LPL se fixe à la face luminale des cellules endothéliales, et en se liant par des liaisons ioniques aux GAG de l'endothélium vasculaire (WILLIAMS 1983). La LPL ainsi fixée peut être libérée par l'héparine.

La synthèse de LPL est stimulée par l'insuline (GARFINKEL 1976, BORENSZTAJN 1972, BOURDEAUX-JAUBERT 1987). Des études *in vivo* chez le rat ont mis en évidence une action stimulante de l'insuline sur les processus de synthèse, de glycosylation et la sécrétion de la LPL (JAHN 1983) en diminuant les taux intra-adipocytaires d'AMPc.

L'adénosine, qui a une activité insuline "like", stimulerait la synthèse mais n'activerait pas l'activation ni la sécrétion (JAHN 1983).

L'action d'autres hormones digestives a été étudiée ; la sécrétine et le VIP n'ont aucune action *in vitro* sur l'activité de la LPL du tissu adipeux et des adipocytes isolés. La gastrine et la pancréozymine par contre, stimulent la LPL du tissu adipeux entier. Sur ce tissu, les effets de la gastrine et de l'insuline sont glucodépendants alors que ceux de la pancréozymine ne le sont pas. La gastrine est insulinomimétique en ce qui concerne la synthèse et la sécrétion de LPL ; elle possède un site d'action commun avec l'insuline. La pancréozymine a une action qui porte sur la synthèse de la pro enzyme et est gluco-indépendante. Enfin, il faut signaler que l'AMPc n'est pas le messager exclusif de cette régulation ; l'action des hormones digestives (gastrine et pancréozymine) sur le métabolisme de la LPL est en effet indépendant du taux intra-adipocytaire d'AMPc (KERN 1988).

En conclusion, l'activité de la LPL est régulée par plusieurs facteurs dont les plus importants sont liés à la prise alimentaire (augmentation de la glycémie puis de l'insulinémie...). La LPL nécessite pour agir, un cofacteur, l'apoprotéine C II qui se trouve à la surface des chylomicrons et des VLDL ; par son intermédiaire, la LPL pénètre le noyau lipidique de ces lipoprotéines puis hydrolyse les molécules de triglycérides. Elle libère préférentiellement l'acide gras fixé en 1 puis en 3. Les 2 monoacylglycérols restants seraient hydrolysés par des monoacylglycérol hydrolases qui ont été isolés sur les plaquettes. Les phénomènes d'isomérisation naturelle des 2-mono en 1-monoglycéride permettraient une hydrolyse complète d'une molécule de triglycéride par la LPL, du moins *in vitro* (DROUIN 1983).

4.1.3.3.2. La Lécithine cholestérol acyltransférase (LCAT)

La LCAT est une enzyme de PM : 59 000. Synthétisée par le foie, elle est responsable de l'estérification du cholestérol des lipoprotéines. C'est grâce à cette enzyme que se passe la quasi-totalité de l'estérification du cholestérol chez l'homme. Son cofacteur est l'apo A 1. L'apo C I aurait également un faible pouvoir activateur (DROUIN 1987). Cette enzyme joue des rôles à plusieurs niveaux :

- dans le métabolisme des HDL, elle permet la formation d'HDL sphériques à partir des composants de surface des CM et elle permet aussi le passage des HDL₃ vers les HDL₂ (BARTER 1986).

- elle joue aussi un rôle dans un système complexe de transfert de lipides : le cholestéryl-ester-transfer complex qui est porté par les HDL et qui contient la LCAT et l'apo A1. Les esters de

cholestérol pouvant ainsi être transférés d'une particule à une autre, c'est ainsi que le cholestérol peut faire partie de la composition des particules riches en triglycérides par exemple.

4.1.3.3.3. La Triglycéride lipase

Cette enzyme est de localisation principale hépatique ; c'est une glycoprotéine de PM : 60 000. Elle est différente tant du point de vue structure qu'immunogénicité de la lipoprotéine lipase. Elle est plus stable et n'interfère que très peu avec l'héparine et les polysaccharides (OLIVECRONA 1986). Enfin elle n'a pas besoin de l'apo C II comme cofacteur. Cette enzyme est capable d'hydrolyser les mono, di, et triglycérides : elle assurerait la délipidation des IDL appauvris en Apo C. Chez le rat, il faut noter que son blocage par AC spécifiques n'affecte pas in vivo la concentration en TG et en lipoprotéines circulantes. Il entraîne au contraire une accumulation de cholestérol et des phospholipides dans les LDL et les HDL. Ainsi la triglycéride lipase pourrait intervenir préférentiellement dans le métabolisme des HDL : en éliminant les phospholipides et les triglycérides en excès elle assurerait l'intégrité de ces particules (NILSSON-EHLE 1986).

4.1.3.4. Évolution du concept des lipoprotéines

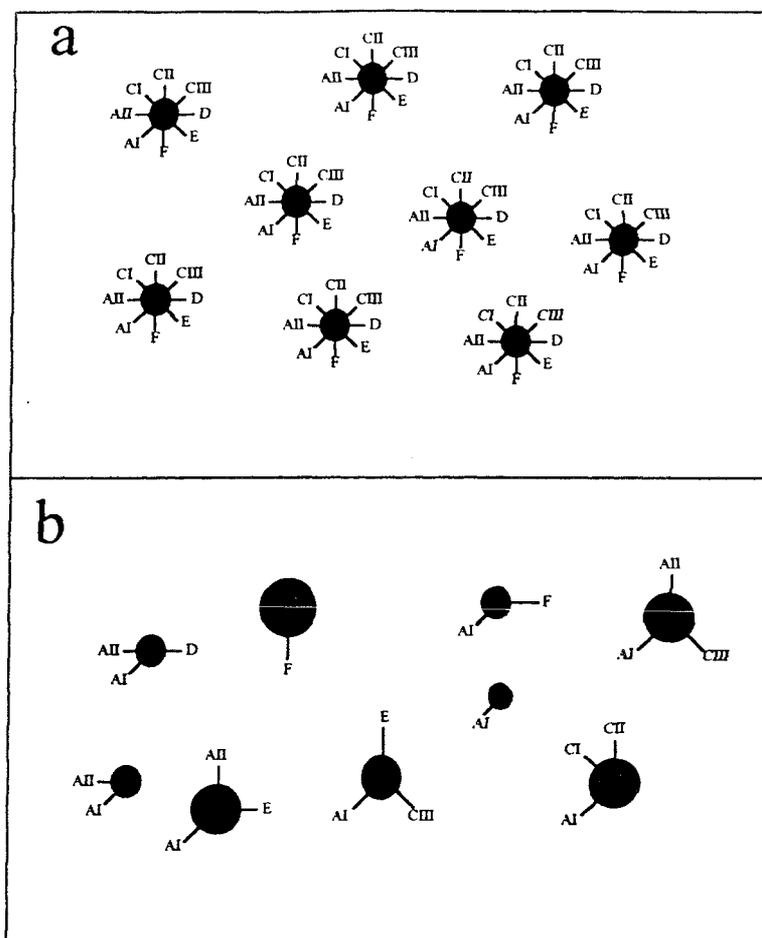
Dans un premier temps, les lipoprotéines furent séparées par électrophorèse (BLIX 1941) puis par ultracentrifugation (HAVEL 1955) ce qui permit de les classer en CM-VLDL, IDL-LDL et HDL. Dans un second temps la découverte des apoprotéines a permis de mettre en évidence la composition protéique de ces diverses lipoprotéines et d'identifier en quelque sorte la partie "intelligente" de ces particules (ALAUPOVIC 1968 - 1972 - 1980, OSBORNE 1977). A ce moment, on caractérise les lipoprotéines par leur contenu en apoprotéines et on peut les isoler en deux groupes :

1) les lipoprotéines primaires ou simples, contenant une seule apoprotéine (ALAUPOVIC 1972 - 1982)

2) les lipoprotéines secondaires ou complexes contenant plusieurs apoprotéines.

Cette conception a rapidement fait exploser l'ancienne classification car on a pu mettre en évidence au sein d'une particule (HDL par exemple) de multiples "sous-particules" caractérisées par leur composition en apoprotéines. L'évolution de ces concepts avec le schéma suivant sur l'hétérogénéité des HDL (PUCHOIS 1985).

Figure n° 7 : Représentation schématique des lipoprotéines plasmatiques des HDL



a : Ancienne conception : mélange homogène de complexes lipides-apoprotéines identiques

b : Conception actuelle : mélange hétérogène de particules lipoprotéiques distinctes

Actuellement nous nous trouvons donc confrontés à une grande hétérogénéité au sein de chacune des classes de lipoprotéines antérieurement définies par leurs caractères physico-chimiques par exemple. L'étude en isoélectrofocalisation a permis également de séparer les différents composants des HDL (LULEY 1985) : chacune de ces fractions ayant probablement une signification métabolique particulière (LULEY 1985). La chromatographie d'affinité est actuellement le procédé de choix et le plus résolutif pour rendre compte de l'hétérogénéité des lipoprotéines. Les principaux ligands utilisés sont la concanavine A, l'héparine, et surtout les anticorps spécifiques des différentes apoprotéines. Une préparation de lipoprotéines peut être chromatographiée sur un immuno-absorbant préparé avec un AC dirigé contre une certaine apoprotéine : les fractions retenues ou non sur ce premier immuno-absorbant peuvent être re-chromatographiées sur un deuxième immuno-absorbant spécifique d'une autre apoprotéine.

Par ce procédé, il est maintenant possible d'identifier à l'intérieur des différentes classes de densité de lipoprotéines, plusieurs particules lipoprotéiques caractérisées qualitativement et quantitativement par un contenu différent en apolipoprotéines (KOREN 1982, INNERARITY 1978, CASTRO 1984, GIBSON 1982, KUNIKATE 1982). Les applications de ces techniques deviennent évidentes dans le domaine de l'athérosclérose par exemple (FRUCHART 1987). ATMEH (1983) a évalué à l'intérieur des HDL, les particules lipoprotéiques contenant l'apo A1 et l'apo A2 (Lp A1-A2) et celles contenant l'apo A1 mais pas l'apo A2 (Lp A1). Des traitements par l'acide nicotinique ou par le probucol ont des effets opposés sur les concentrations en apoprotéines A1 non liées à l'apo A2 (Lp A1). Les auteurs suggèrent qu'il existe à l'intérieur des HDL au moins deux types de particules lipoprotéiques contenant des Apo A1 mais ayant à l'origine des fonctions et des métabolismes distincts (ATMEH 1983, ZECH 1983). Par ailleurs, il a été établi que la susceptibilité des individus à développer une maladie cardio-vasculaire est corrélée négativement avec les concentrations en Apo A1 (reflet du cholestérol HDL) et positivement avec les concentrations en Apo B (reflet du LDL cholestérol) (DROUIN 1987, FRUCHART 1982, YAARI 1981, PARRA 1984). Toutefois, les dosages des LDL et HDL ou des Apo B et Apo A ne permettent pas encore une discrimination suffisante entre populations athéroscléreuse et non athéroscléreuse (PARRA 1984). Il est par contre envisageable que les dosages plus spécifiques de certaines particules lipoprotéiques des LDL ou des HDL puissent constituer des marqueurs plus significatifs du risque athéromateux (FRUCHART 1984a).

En résumé, les particules lipoprotéiques posséderaient donc des fonctions dépendantes de leur composition respective en apoprotéines. La particule lipoprotéique définie qualitativement par son contenu en apoprotéines pourrait représenter l'unité de base du métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

4.1.4. Les lipides et la MPE

4.1.4.1. Les apports et leur absorption

Les apports lipidiques des enfants malnutris sont faibles ; la prédominance des glucides est la règle quelles que soient les régions où l'on étudie les enfants souffrant de MPE ; cette prédominance s'effectue aux dépens des protéides mais aussi des lipides. Une malabsorption des graisses a été fréquemment trouvée dans la MPE (DE MAEYER 1958, DUTRA DE OLIVEIRA 1964, GOMEZ 1956b, HOLEMANS 1955, ROBINSON 1957), cette absorption n'étant au maximum que de 80 % selon HOLEMANS (1955). Les lipides totaux fécaux peuvent même être supérieurs aux ingestats lipidiques journaliers ce qui suggère une part endogène de ces lipides excrétés (ROBINSON 1957, UNDERWOOD 1967). UNDERWOOD trouve en effet une stéatorrhée persistante en cas de régime pauvre en lipides. Cette malabsorption lipidique a probablement trois origines : tout d'abord une diminution de la sécrétion de lipase pancréatique (THOMPSON 1952), ensuite un défaut d'acides biliaires (REDMOND 1972) en cas de kwashiorkor : en particulier il a recueilli au niveau jéjunal de la bile contenant des sels biliaires déconjugués ; enfin, la troisième raison de cette malabsorption lipidique est l'atrophie de la muqueuse de l'intestin grêle presque toujours retrouvée dans ce contexte (TRUSWELL 1975). Lors de la renutrition les lipides d'origine végétale seront mieux supportés et mieux absorbés que ceux d'origine animale (UNDERWOOD 1967) ; en effet, les graisses insaturées sont mieux absorbées que les graisses saturées en cas de malabsorption (PINTER 1964) ou chez le prématuré par exemple (TIDWELL 1935).

4.1.4.2. Le tissu adipeux

Le tissu adipeux peut être estimé grâce aux plis cutanés tricipital et sus-scapulaire (KEET 1970) ou par mesure directe à l'autopsie (GARROW 1965). Toutes ces études ont montré un tissu lipidique total supérieur dans le kwashiorkor par rapport au marasme. Cette différence est observée au niveau du tissu sous-cutané mais aussi au niveau du foie.

4.1.4.3. Contenu en lipides du foie

Le "Fatty liver" des anglo-saxons est également un critère majeur pour différencier les kwashiorkors qui ont une stéatose hépatique prouvée par biopsies (TRUSWELL 1969b) et à l'autopsie (TROWELL 1954, WILLIAMS 1935). Le contenu lipidique du foie est estimé à 4 % chez le sujet normal, à 3,5 % chez les sujets atteints de marasme et à 39 % chez les sujets atteints de kwashiorkor (CHATTERJEE 1968). Néanmoins, une stéatose modérée est retrouvée chez 33 % des enfants atteints de marasme après biopsie à l'aiguille et tous les kwashiorkors n'ont pas de stéatose ; la palpation d'une hépatomégalie ne suffit pas à faire le diagnostic de stéatose (TRUSWELL 1975). L'importance de la stéatose serait corrélée au pronostic vital (WATERLOW 1960) ; par contre, des suivis au long cours n'ont jamais trouvé d'évolution cirrhogène de ces stéatoses (SUCKLING 1957, COOK 1967).

4.1.4.4. Pathogénie de la stéatose hépatique

La composition lipidique des foies stéatosiques montre qu'il s'agit essentiellement de triglycérides, le cholestérol et les phospholipides n'intervenant que très peu dans ce phénomène (RIDOUT 1954). Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer cette excès de TG (LOMBARDI 1966): tout d'abord une synthèse normale de TG, leur catabolisme étant bloqué ; cette hypothèse correspond à certains modèles expérimentaux par intoxication au tétrachlorure de carbone par exemple (LOMBARDI 1965, AIYAR 1964) où l'intoxication est suivie d'une augmentation des TG hépatiques associée à une baisse de TG plasmatiques et des lipoprotéines plasmatiques (FELTS 1965). D'autres études réalisées avec des AG marqués montrent qu'il y a une incapacité à libérer les TG (MAILING 1962). La seconde hypothèse de LOMBARDI peut compléter la première : un apport accru de TG au niveau du foie avec secondairement une impossibilité d'utilisation de ces TG. L'étude de la composition en acides gras des TG de ces foies stéatosiques a donné des résultats contradictoires : MAC DONALD objective une différence qualitative entre la composition du foie et des tissus adipeux en TG (MAC DONALD 1963) alors que LEWIS propose un schéma selon lequel c'est une lipolyse périphérique qui entraîne une augmentation du taux plasmatique d'acides gras libres et une captation par le foie de ces AGL avec impossibilité pour le foie de les éliminer sous forme de particules lipoprotéiques (LEWIS 1964). Il appuie son hypothèse sur l'identité de composition en AG du foie stéatosique et du tissu adipeux. Son étude comprend une population de kwashiorkors et une population marastique ; ce n'est qu'en cas de kwashiorkor que le foie ne peut métaboliser correctement les AG alors qu'en cas de marasme il ne retrouve pas de foie stéatosique et donc une excrétion correcte de ces TG sous forme de lipoprotéines.

D'autres hypothèses (LOMBARDI 1966) concernant une synthèse de TG par des organites cellulaires non destinés à cet effet ont été émises (STEIN 1957, STEIN 1959) mais ne semblent pas correspondre au schéma du foie stéatosique retrouvé en cas de malnutrition. Dans le cadre de la malnutrition les mécanismes reconnus seraient un apport accru de TG au foie, des taux d'AGL plasmatiques normaux ou élevés (cela ayant été retrouvé par plusieurs auteurs (LEWIS 1964, JAYA RAO 1966, HOLMAN 1981, TAYLOR 1971) avec constamment un déficit en AG essentiels (STEIN 1959, JAYA RAO 1966, HOLMAN 1981). L'augmentation de la lipolyse périphérique serait consécutive aux faibles apports énergétiques et aux hypoglycémies chroniques de ces enfants (FLETCHER 1966). La captation hépatique d'AGL serait donc normale ou accrue et la sécrétion de TG serait bloquée par impossibilité de former les particules lipoprotéiques porteuses de TG : les VLDL. Cette impossibilité viendrait principalement d'un défaut de synthèse des apoprotéines nécessaires à la formation des VLDL (TRUSWELL 1975, MAC DONALD 1963, FLETCHER 1966). Ce déficit s'exprimant principalement en cas de kwashiorkor (TRUSWELL 1969) où la synthèse protéique est globalement ralentie et où l'on trouve ces foies stéatosiques. Par contre en cas de marasme, la synthèse protéique n'étant que peu touchée, la formation de VLDL peut se faire et on ne retrouve pas dans ce cadre de foie stéatosique (LEWIS 1964), sauf pour TRUSWELL (TRUSWELL 1975) qui trouve des foies modérément stéatosiques chez des enfants cliniquement porteurs de marasme.

Il faut noter que chez ces enfants marastiques, quand le foie est stéatosique, le bilan lipidique plasmatique est identique à celui des kwashiorkors de son étude, alors que les autres marasmes non stéatosiques, ont un bilan lipidique beaucoup moins perturbé.

4.1.4.5. Taux plasmatiques des Lipides

Les lipides sanguins dans la malnutrition ont été étudiés dès 1947 (CARVALHO 1947, DEAN 1953, DEMAeyer 1954). Les différents auteurs trouvent chez des enfants atteints de kwashiorkor des taux de cholestérol très abaissés. Ensuite, l'étude du métabolisme lipidique a été étudiée jusqu'en 1976, date à partir de laquelle on ne trouve presque plus de publications sur le sujet. En général les auteurs se sont surtout intéressés au kwashiorkor, ceci étant probablement dû aux anomalies plus importantes du bilan lipidique chez ces enfants et, surtout, du fait de leur stéatose hépatique. Cette stéatose a aussi été étudiée très tôt (AUFFRET 1950, WATERLOW 1948). Par contre, l'absence d'anomalies hépatiques et de légères perturbations sanguines ont rendu le bilan lipidique beaucoup moins intéressant pour les auteurs qui se sont intéressés à ce sujet chez les enfants atteints de marasme. Si les dosages de lipides totaux de cholestérol et de triglycérides ont été effectués dans le kwashiorkor, il n'existe aucune publication sur le bilan lipidique du marasme : ces résultats n'apparaissent que comme complémentaires dans des publications consacrées au kwashiorkor. Nous séparerons donc ces deux états, étant donné la physiopathologie différente des perturbations lipidiques dans le marasme et le kwashiorkor.

4.1.4.5.1 Le kwashiorkor

4.1.4.5.1.1. Les lipides totaux

Les lipides totaux sont toujours abaissés chez les kwashiorkors par rapport aux témoins (SCHWARTZ 1957, MACDONALD 1963).

4.1.4.5.1.2. Le cholestérol

Le cholestérol total a toujours été trouvé très abaissé en cas de kwashiorkor (DEAN 1953, SCHWARTZ 1957, ARROYAVE 1961, MAC DONALD 1963, LEWIS 1964, JAYA RAO 1966, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970, TAYLOR 1971, COWARD 1972). Seul DEVI (1978) ne trouve pas de chute du cholestérol.

4.1.4.5.1.3. Les triglycérides

La plupart des auteurs trouvent une baisse des triglycérides plasmatiques (MAC DONALD 1963, LEWIS 1964, JAYA RAO 1966, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970, COWARD 1972, FLORES 1974). Par contre, DEVI (1978) trouve une augmentation des triglycérides et TAYLOR (1971) des taux identiques aux témoins.

4.1.4.5.1.4. Les phospholipides

Comme le cholestérol et les triglycérides, les phospholipides sont trouvés abaissés en cas de kwashiorkor (SCHWARTZ 1957, ARROYAVE 1961, MAC DONALD 1963, LEWIS 1964, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970, TAYLOR 1971), mais DEVI (1978) trouve des valeurs normales.

4.1.4.5.1.5. Les acides gras libres (AGL)

Les AGL ont été étudiés plus tardivement. Des taux élevés (LEWIS 1964) ou normaux (FLORES 1970) ont été observés. L'étude de la composition en AGL des plasmas d'enfants malnutris a montré à deux reprises un déficit en acides gras insaturés et en acides gras essentiels (HOLMAN 1981, KOLETZKO 1986). KOLETZKO observe des taux élevés pour les AG non essentiels et n'observe aucune différence entre les kwashiorkors et les marasmes. Pour ces deux études, il faut noter que les comparaisons entre enfants malnutris et enfants témoins ne tiennent pas compte du type de malnutrition (marasme ou kwashiorkor).

En résumé, en cas de kwashiorkor, toutes les données de la littérature sauf une (SITA DEVI 1976) observent des lipides bas avec une chute importante et conjointe de tous les éléments exceptés les acides gras libres qui sont trouvés élevés mais avec un déficit relatif en AG essentiels.

4.1.4.5.2. Le Marasme

4.1.4.5.2.1. Les lipides totaux

Nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'études sur ce paramètre dans le marasme.

4.1.4.5.2.2. Le cholestérol

Certains auteurs ont trouvé des taux normaux (FLORES 1970) ou bas de cholestérol total (PRETORIUS 1966, TRUSWELL 1975). Une étude montre des taux de cholestérol plus élevés dans le marasme que dans le kwashiorkor (LEWIS 1964).

4.1.4.5.2.3. Les triglycérides

Les résultats parfois surprenants n'ont jamais été expliqués. Les triglycérides au cours du marasme sont trouvés normaux ou élevés (LEWIS 1964, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970). MAC LAREN (1967) observe une augmentation des lipoprotéines chez les enfants sans oedèmes par rapport à des enfants porteurs d'oedèmes et des VLDL sont mises en évidence avant tout traitement (TRUSWELL 1969). L'existence de triglycérides élevés est un problème soulevé par les auteurs (LEWIS 1964, MAC LAREN 1967) sans apporter d'hypothèse explicative et sans discuter les résultats dans des études portant principalement sur le kwashiorkor (TRUSWELL 1969b).

4.1.4.5.2.4. Les phospholipides

Les phospholipides sont trouvés plus élevés dans le marasme que dans le kwashiorkor (LEWIS 1964), mais d'autres auteurs (FLORES 1970, TRUSWELL 1975) les trouvent légèrement abaissés par rapport à une population témoin.

4.1.4.5.2.5. Les acides gras libres

LEWIS (1964) les trouve très augmentés dans le marasme par rapport à une population témoin.

4.1.4.5.3. Les lipides dans l'anorexie mentale

4.1.4.5.3.1. *Le cholestérol*

Les perturbations du bilan lipidique dans l'anorexie mentale portent essentiellement sur le cholestérol. Une hypercholestérolémie a été signalée par KLINEFELTER dès 1965. Cet hypercholestérolémie ne semble pas liée à la durée de la maladie, au type d'aliments consommés ni au sexe ou à l'âge des patients. Cette première étude sera confirmée par plusieurs autres études, observant un cholestérol total élevé qui se normalise avec la renutrition (BLENDIS 1968, KANIS 1974, MORDASINI 1978, SCHLIENGER 1980, BANJHI 1981, SANCHEZ-MUNIZ 1991).

Une seule étude a trouvé un taux de cholestérol normal et ne retrouve pas de variation avec la renutrition (ARDEN 1990). Par la suite, les études ont porté sur les lipoprotéines et les résultats sont contradictoires. Le plus souvent on trouve un LDL cholestérol élevé avec une apoprotéine B également élevée (MORDASINI 1978, SCHLIENGER 1980). Une étude observe une augmentation du HDL cholestérol avec un LDL cholestérol normal (ARDEN 1990). Enfin JAGUENAUD (1996) observe une augmentation conjointe du LDL et du HDL cholestérol qui tend à se normaliser avec la renutrition.

4.1.4.5.3.2. *Les triglycérides*

Les triglycérides ont en général été retrouvés élevés au cours de l'anorexie mentale (MORDASINI 1978, SANCHEZ-MUNIZ 1991, JAGUENAUD 1996). Les VLDL sont élevées et se normalisent avec la renutrition (JAGUENAUD 1996). Ces anomalies sont expliquées par une baisse des activités des triglycérides lipases et lipoprotéines lipases (MORDASINI 1978) en raison de l'hypoinsulinisme chronique que l'on observe dans l'AM.

4.1.4.5.3.3. *Les acides gras*

HOLMAN (1981) a montré un déficit en acides gras essentiels chez des femmes anorexiques par rapport à un groupe de femmes en bonne santé. Le profil de ce déficit est différent de ce qui est observé dans les autres cas de malnutrition : l'acide linoléique et l'acide α linoléique sont normaux mais les produits de l'élongation et de la désaturation de ces précurseurs sont significativement diminués (acide arachidonique et eicosapentaénoïque). Les désaturases sont des enzymes intracellulaires dont l'activité diminue lors des états d'hypoinsulinisme (POLONOVSKI 1989).

Cet étude met en évidence une augmentation parallèle des acides gras saturés et monoinsaturés. Ces anomalies des acides gras sont probablement responsables des anomalies des membranes cellulaires objectivées par la diminution de la fluidité des lipides membranaires montrée par LEJOYEUX (1996) au niveau des membranes érythrocytaires.

4.2 La cobalamine ou vitamine B12

4.2.1 Rappel historique

La Cobalamine (Cbl) a été décrite en 1928 (CASTLE 1928), elle correspond au facteur anti-pernicieux extrinsèque, substance qui permet de guérir l'anémie de Biermer. Cette Cbl est contenue dans les aliments d'origine animale. Elle est synthétisée par les micro-organismes et est absorbée chez l'homme au niveau de l'iléon grâce au facteur intrinsèque synthétisé par la région fundique de l'estomac. L'absence de ce facteur conduit à la même anémie pernicieuse. Cette substance purifiée en 1966 (GRASBECK 1966) a été appelée facteur intrinsèque dès 1928 par CASTLE.

Actuellement les déficits en Cbl sont principalement dus à des maladies gastriques (gastrite atrophique) ou intestinales (résections iléales, malabsorptions sévères) ou à des carences d'apports soit par non accès aux aliments d'origine animale soit par refus "philosophique" de ces aliments (végétaliens) (CHANARIN 1985, SPECKER 1988).

4.2.2. Structure de la cobalamine et de ses dérivés

4.2.2.1. La cobalamine

La vitamine B12 ou cobalamine (Cbl) appartient à la famille des corrinoïdes. Il s'agit d'une molécule complexe composée d'une structure tétrapyrrolique centrée par un atome de cobalt auquel viennent s'adjoindre par liaison de coordination un ribonucléotide (5'-diméthyl-benzimidazole) et une partie variable. Selon la nature de cette partie variable, on distingue plusieurs vitamères de la vitamine B12 : la 5'-désoxyadénylcobalamine (AdoCbl) et la méthylcobalamine (MeCbl) sont les deux formes coenzymatiques connues de la Cbl, mais il existe aussi à des concentrations beaucoup plus faibles l'aquocobalamine, l'hydroxocobalamine (OHCbl) et la cyanocobalamine (CnCbl). Dans le foie, l'AdoCbl représente 70% des Cbl alors que la MeCbl ne correspond qu'à 3% des Cbl totales. Parfois, les corrinoïdes se présentent sous forme d'aiguilles cristallines de couleur rouge orangée. Ils sont solubles dans l'eau. La vitamine B12 est caractéristique du métabolisme du règne animal où son rôle est essentiel dans les tissus à renouvellement rapide ce qui explique les manifestations hématologiques et digestives associées à des signes neurologiques engendrés par sa carence.

4.2.2.2. Les analogues de la cobalamine

Les analogues de la vitamine B12 sont des corrinoïdes qui sont dépourvus d'activité enzymatique. Ils ont été initialement isolés à partir de micro-organismes (KON 1955). La présence de ces analogues a été montrée dans de nombreux tissus et fluides de l'organisme (KANAZAWA 1983, GUEANT 1984, DJALALI 1988). Les analogues peuvent être séparés en plusieurs groupes : les cobinamides qui n'ont pas de nucléotide et les cobamides dont la base (benzimidazole, adénine ou autre) a été substituée par le 5,6-diméthyl benzimidazole (KOLHOUSE 1977). Il existe d'autres corrinoïdes qui diffèrent de la Cbl au niveau du tétrapyrrole ou qui ont un atome central différent du cobalt comme le zinc, le cuivre ou le nickel. Chez l'homme, ces analogues ont deux sources : la synthèse par les micro-organismes de la flore intestinale et le catabolisme de la Cbl.

Il y a peu de données sur la toxicité de ces analogues, certains de ces analogues peuvent altérer la croissance chez le jeune poulet (COATES 1960). SIDDON (1975) a montré que le 2-méthyl-2-aminopropanol (un analogue de la vitamine B12) causait une démyélinisation sévère des fibres nerveuses quand il était administré à des babouins déficients en cobalamine. En conclusion, il est montré que les analogues de la cobalamine peuvent agir comme inhibiteurs compétitifs de la vitamine B12 (GUEANT 1986, EL KHOLTY 1991), néanmoins leur neurotoxicité chez l'homme demeure hypothétique.

4.2.3. Les Transcobalamines (TC)

4.2.3.1. Les protéines R ou haptocorrine (Hc)

Elles sont appelées aussi transcobalamines I et III ; ce sont les mêmes transporteurs que l'on rencontre dans le plasma, les sucs gastrique et salivaire (CARMEL 1969 - 1981, ALLEN 1972, GRASBECK 1972). Ce sont des glycoprotéines de 56 000 à 63 000 Daltons qui ont un site de fixation pour la Cbl.

Les protéines R n'ont pas d'activité perméasique contrairement au facteur intrinsèque et à la TC II. Elles jouent également un rôle dans le cycle entéro-hépatique des corrinoïdes et elles pourraient avoir un rôle dans le transport des analogues de la B12. Elles jouent un rôle dans la phase digestive intra-luminale avant la prise en charge des Cbl par le FI puis au niveau plasmatique par la TC II. Il est possible que ces protéines jouent un rôle anti-bactérien. Toutefois leur rôle ne serait pas fondamental car elles ne sont pas indispensables à la survie de l'individu : les patients porteurs de déficit congénital en TC I ne présentent aucun trouble particulier (CARMEL 1969).

4.2.3.2. La transcobalamine II (TC II)

C'est le transporteur sérique effectif de la Cbl. La transcobalamine II (PM = 38 000) est synthétisée en partie au niveau des entérocytes de l'iléon où elle prend en charge la cobalamine, elle est externalisée dans le courant circulatoire (HALL 1965). Étant douée d'une activité perméasique elle apporte la Cbl au niveau des tissus et des cellules où celle-ci peut jouer son rôle métabolique principalement sous forme de coenzyme. Après sa liaison au récepteur membranaire et sa captation cellulaire, la TC II est alors dégradée au niveau lysosomal pour libérer la vitamine B12 (SEETHARAM 1985).

La demi-vie de la Cbl liée à la TC II est d'environ 12 heures (SCHNEIDER 1976). La baisse du pourcentage de TC II insaturée observée après ingestion de Cbl est proportionnelle à la quantité de Cbl ingérée. Il faut noter que le déficit congénital en TC II entraîne une anémie mégaloblastique sévère qui est difficilement traitable par de très fortes doses de vitamine B12 par voie parentérale (HITZIG 1974, HALL 1979).

4.2.4. Devenir de la vitamine B 12

La vitamine B12, après son ingestion, se lie aux protéines R au niveau salivaire et gastrique puis au facteur intrinsèque (FI) au niveau duodéno-jéjunal. Le "couple" FI-Cbl progresse jusqu'à

l'iléon terminal où la Cbl va être absorbée grâce à un récepteur spécifique du FI porté par les micro-villosités intestinales.

Le franchissement de l'entérocyte dure plusieurs heures : dans cette étape entérocytaire, la Cbl est trouvée dans les lysosomes (ROSENTHAL 1970, ROBERTSON 1985, TOYOSHIMA 1987, GUEANT 1990) ; 6 à 12 heures après son ingestion, on la retrouve dans la circulation portale, principalement liée à la TC II (SCHNEIDER 1976) qui la transporte soit vers le foie, lieu de stockage, soit vers les tissus périphériques où la Cbl sert au métabolisme intermédiaire principalement dans les cellules à renouvellement rapide. Après captation et internalisation du complexe TC II-Cbl, il y a une libération de la Cbl associée à une dégradation de la TC II au sein des lysosomes. La cobalamine est ensuite transformée, soit en méthylcobalamine dans le cytosol, soit en adénosylcobalamine dans la mitochondrie après réductions successives et adénosylation. La CH₃Cbl est le coenzyme actif de la méthionine synthase, enzyme cytoplasmique, tandis que l'adoCbl est celle de la méthylmalonyl CoA mutase, enzyme mitochondriale. Il faut noter l'importance du foie dans le métabolisme de la Cbl car cet organe, lieu de stockage principal, peut contenir des réserves en Cbl pour plusieurs années (environ 5 ans). Un cycle entéro-hépatique de la Cbl a été mis en évidence (GREEN 1981b) ; ce cycle est principalement valable pour la Cbl et non pour ses analogues qui sont éliminés par la bile, ne sont pas recaptés par le FI et par conséquent ne seront pratiquement pas réabsorbés (GUEANT 1986, EL KHOLTY 1991).

4.2.5. Rôles physiologiques de la vitamine B12

La vitamine B12 est le cofacteur de deux types de réactions enzymatiques : les réactions de transméthylation d'une part, qui utilisent le cofacteur CH₃Cbl et les réactions d'isomérisation d'autre part, qui nécessitent le cofacteur AdoCbl. Chez l'homme il n'existe que deux réactions cobalamine dépendantes.

4.2.5.1. La méthylation de l'homocystéine en méthionine

La méthionine est synthétisée à partir de l'homocystéine par addition d'un groupe méthyl. L'enzyme concernée est la 5-méthyl-tétrahydrofolate-homocystéine méthyl-transférase ou méthionine synthase. Le rôle de la Cbl est de recevoir le groupe méthyl du méthyltétrahydrofolate et de le transférer sur l'homocystéine. Dans cette réaction, la cobalamine passe par un stade intermédiaire de méthylcobalamine. L'initiation de la réaction nécessite la présence d'un autre donneur de méthyl, la S-adénosyl-méthionine. Au cours de cette réaction, l'OHCbl subirait simultanément une réduction de Cbl⁺⁺ en Cbl⁺ et une méthylation. Le méthyltétrahydrofolate pourrait ensuite prendre son rôle de donneur de méthyl, tandis que l'état réduit de l'atome de cobalt serait maintenu en présence de FADH₂.

4.2.5.2. L'isomérisation du méthylmalonyl-CoA

La transformation du méthylmalonylCoA en succinyl-CoA par la méthylmalonyl-CoA mutase est une réaction mitochondriale AdoCbl dépendante.

Le méthylmalonyl-CoA, intermédiaire du métabolisme de la valine, de l'isoleucine, de la méthionine et de la thréonine va, après avoir été isomérisé en succinyl-CoA, entrer dans le cycle de Krebs. Un état de carence en vitamine B12 entraîne un blocage secondaire de cette réaction. L'acide méthylmalonique ainsi accumulé va être excrété dans les urines. Ce fait est à la base d'un test d'exploration de la carence en vitamine B12.

4.2.6. Besoins journaliers et réserves en Cobalamine

Les besoins journaliers de la Cbl sont minimes, de 1 à 3 $\mu\text{g/j}$ selon les auteurs (SULLIVAN 1965, FAO-WHO Expert group 1976, HERBERT 1988, GUEANT données non publiées). Il existe des réserves hépatiques très importantes, suffisantes pour environ 5 ans. Son apport exogène est d'origine alimentaire : on la trouve surtout dans le foie, les rognons, les fruits de mer, le lait, la viande et les volailles (COMMITTEE ON DIETARY ALLOWANCES FOOD AND NUTRITION BOARD 1980). La vitamine B12 est synthétisée par certaines algues et bactéries. Les végétaux ne contiennent pas de Cbl, ils peuvent en contenir de très faibles quantités grâce à la synthèse de Cbl par les micro-organismes ayant colonisé ces légumes. Les aliments d'origine animale sont la principale source de vitamine B12 dans l'alimentation (Tableau n°10). Le stock global de B12 dans l'organisme est estimé à 3-4 mg. Le foie est l'organe le plus riche en cette vitamine, la vitamine B12 tissulaire est composée pour 70 à 80% d'adénosylcobalamine pour 20 à 30% d'hydroxocobalamine et moins de 5% de méthylcobalamine. L'importance de ces réserves explique le temps très long (de l'ordre de 5 ans) pour que se dévoile sa carence.

Tableau n° 10 : Contenu en cobalamine de différents aliments

| | B12 | ng/g |
|----------------|-------|-------|
| Foie de bœuf | 1000 | |
| Foie de poulet | 200 | |
| Veau | 16 | |
| Mouton | 13-25 | |
| Poisson | 10-40 | |
| Œuf | 7-30 | |
| Fromage | 5-10 | |
| Porc | 5 | |
| Poulet | 4 | |
| | B12 | ng/ml |
| Lait de femme | 1-1,5 | |
| Lait de vache | 3 | |

4.2.7. La carence en cobalamine

4.2.7.1. Causes de la carence en cobalamine

4.2.7.1.1. Les défauts d'absorption

Ils sont congénitaux ou acquis, et sont liés à des anomalies pouvant siéger, soit au niveau de l'estomac, du grêle ou du pancréas (GUEANT 1986). Les principales causes sont résumées dans le Tableau n° 11.

4.2.7.1.2. Les défauts d'apports

On ne les observe que chez les patients végétaliens. Ils concernent classiquement la population hindoue, mais actuellement la multiplication des sectes (Zen macrobiotique en particulier) imposant à leurs adhérents un tel régime fait croître le risque parmi la population occidentale. Tout ces sujets ont des taux sériques de B12 bas.

Néanmoins, le déficit ne s'accompagne pas obligatoirement de manifestations cliniques ou hématologiques. La symptomatologie, lorsqu'elle existe, disparaît rapidement après supplémentation orale en B12 à la dose de 2 à 10 $\mu\text{g}/\text{j}$. Les enfants de mères végétaliennes, en particulier les nourrissons nourris au sein sont susceptibles de manifester une carence en vitamine B12 (HIGGINBOTTOM 1978, STOLLHOFF 1987). Elle se révèle sur un mode subaigu après un intervalle libre de quelques mois. L'atteinte neurologique y est manifeste avec hypotonie, somnolence, irritabilité, désintérêt progressif pour l'entourage puis installation de troubles de conscience. S'y associent une anorexie avec arrêt de croissance, parfois des troubles cutanés avec éruption, dyspigmentation, ecchymoses. Sur le plan hématologique, on retrouve l'anémie arégénérative, macrocytaire, mégaloblastique et biologiquement une acidurie méthylmalonique et une hyperhomocystéinémie avec homocystinurie excessive. La supplémentation en B12 fait rapidement disparaître la symptomatologie.

Tableau n° 11 : Causes et mécanismes principaux des défauts d'absorption de la vitamine B12

| Localisation anatomique | Mécanisme | Causes |
|---|--|---|
| Gastrique | Perte ou déficit de la sécrétion de FI | Atrophie de la muqueuse (anémie pernicieuse de Biermer) Gastrite atrophique Gastrectomie totale ou partielle avec atrophie de la muqueuse restante Oesophagojéjunostomie |
| | Synthèse nulle ou anormale de facteur intrinsèque | Anémie pernicieuse juvénile |
| Anomalie du transport intestinal | Stase et pullulation bactérienne ou parasitaire de l'intestin proximal | <u>Anse borgne :</u> Gastroentérostomie, Atrésie intestinale, Fistule, Diverticulose du grêle <u>Ralentissement du transit :</u> Vagotomie + pyloroplastie, Sclérodermie, Maladie de Whipple |
| | Malabsorption de la vitamine B12 | Botriocéphalose (taenia du poisson) |
| | Défaut de liaison FI-B12 par défaut de dégradation des protéines R | Pancréatite, Insuffisance pancréatique exocrine Syndrome de Zollinger-Ellison |
| Anomalies siégeant au niveau de la muqueuse intestinale | Atteintes des récepteurs spécifiques du complexe FI-B12 | Résection de l'iléon, Maladie de Crohn, Intolérance au gluten, Sprue tropicale |
| | Déficit congénital du récepteur iléal du facteur intrinsèque. | Maladie d'Immerslund-Gräsbeck |
| Transport humoral | Absence de TC II | Déficit congénital en TC II |

4.2.7.2. Les conséquences de la carence en cobalamine

4.2.7.2.1. Les conséquences cliniques

La symptomatologie clinique de la carence en cobalamine est hématologique, neurologique et cutanéomuqueuse. L'anémie peut être responsable d'une pâleur parfois associée à un sub-ictère, d'un décalage thermique chronique, d'une dyspnée d'effort. Une symptomatologie cardiaque est parfois présente, le plus souvent minime, simple souffle systolique, mais dans les formes graves peut exister une défaillance cardiaque ou encore une angine de poitrine. Le plus souvent l'anémie sera la découverte d'un examen systématique pratiqué devant l'existence d'autres signes ou d'une cause connue de possible carence en B12 (CHANARIN 1985). L'atteinte neurologique se présente sous la forme d'une neuropathie d'autant plus sévère que la carence est ancienne. Elle peut être le seul symptôme, notamment lors de traitement insuffisant qui font disparaître la symptomatologie hématologique mais n'empêche pas l'évolution neurologique ou lors d'un traitement inadapté par acide folique. C'est une neuropathie sensitive bilatérale et symétrique avec paresthésies débutant au niveau des membres inférieurs. D'abord intermittente, elle devient ensuite permanente, en s'étendant progressivement de façon ascendante. A l'examen, elle se traduit par une baisse des sensibilités superficielle et profonde. Une neuropathie sensorielle peut y être associée ; il s'agit le plus souvent d'une anosmie ou au contraire, d'une hyperosmie, plus rarement une baisse de l'acuité visuelle avec atrophie optique. L'atteinte psychique est fréquente avec perte de la mémoire, irritabilité, état dépressif. La carence en B12 donne rarement lieu à des manifestations psychiatriques sévères.

L'atteinte cutanéomuqueuse est dominée par la glossite qui se traduit par des douleurs importantes de la langue, parfois de toute la bouche, déclenchées par les boissons chaudes. A l'examen, la langue est vernissée, lisse, dépapillée. Cet aspect est précédé de l'apparition de plaques érythémateuses, lisses, saillantes, sèches. Parfois existe en dehors de la pâleur une pigmentation anormale de la peau, une tendance à la chute ou au blanchissement précoce des cheveux.

La carence en B12 peut être responsable d'une stérilité, mode de découverte chez une femme jeune. Chez l'homme, elle peut être responsable d'une impuissance ou de troubles mictionnels.

4.2.7.2.2. Les conséquences biologiques

L'atteinte hématologique est la plus évidente avec initialement une augmentation de la taille des globules rouges, puis une anémie et enfin une leuconéutropénie.

L'augmentation du volume globulaire moyen peut être la seule anomalie pendant des mois voire des années. Par la suite s'installe une anémie normochrome régénérative avec inégalité de la taille et de la forme des érythrocytes. Dès que l'anémie est profonde ($< 2 \times 10^6 / \text{mm}^3$), il coexiste une thrombopénie et une leucopénie ($\text{GB} < 3000 \times 10^3 / \text{mm}^3$) avec hypersegmentation des neutrophiles et apparition de métamyélocytes géants. Enfin peut exister une hyperbilirubinémie non conjuguée secondaire à l'hémolyse intramédullaire. Au niveau sanguin le taux circulant de vitamine B12 chute de façon variable, il n'y a pas de corrélation entre le taux circulant de Cbl et la sévérité de la symptomatologie clinique ou hématologique. Les déficits d'apport ou d'absorption de Cbl entraînent un déficit des deux cofacteurs actifs de cette vitamine : la méthyl et l'adénosylCbl.

Les conséquences biochimiques de leurs carences sont l'existence d'une hypométhioninémie et d'une hyperhomocystéinémie avec homocystinurie pour la méthylcobalamine et l'apparition d'une acidurie méthylmalonique pour la carence en adénosylcobalamine.

4.2.8. Les études sur la cobalamine dans la malnutrition

La vitamine B12 et son métabolisme ont fait l'objet de peu d'études. En dosant la Cbl sérique chez des enfants malnutris (kwashiorkor, marasme), MAC DOUGALL (1960) a trouvé des taux parfois élevés. SATOSKAR (1961) a étudié chez des enfants marastiques de 1 à 8 ans les taux sériques de B12 parallèlement à un bilan protéique et à des biopsies hépatiques. Il trouve également des taux parfois très élevés de Cbl sérique, et il note une corrélation entre les taux de B12 sérique et la stéatose hépatique sur biopsie ; il en conclut que ces taux élevés de B12 sont dus aux altérations du stockage hépatique de la Cbl. Cet auteur observe également une chute importante des taux de Cbl sérique après renutrition. KHALIL (1973) a étudié les taux de Cbl sérique parallèlement aux taux de folates sériques et érythrocytaires afin d'établir leur responsabilité respective dans l'anémie de la malnutrition. Il observe des taux normaux voire élevés de Cbl sérique et des taux bas de folates sériques et érythrocytaires et en déduit la responsabilité du déficit en folates dans l'anémie de la MPE. Il faut noter qu'il n'observe aucune différence entre les taux de Cbl observés dans le marasme et dans le kwashiorkor.

THANANGKUL (1975) a relevé également des taux normaux voire élevés de Cbl sérique dans une population d'enfants malnutris du Nord Thaïlandais. Il compare 2 groupes qu'il réalimente avec ou sans supplémentation en B12 et observe une augmentation rapide de la B12 en cas de supplémentation. Après 6 semaines, les taux de B12 des deux groupes chutent régulièrement sans arriver à des taux inférieurs à la normale. Il en conclut que la supplémentation en Cbl n'est que rarement indiquée lors de la prise en charge nutritionnelle des enfants malnutris. OSIFO (1976) observe également des taux élevés de B12 sérique. Elle relie ces taux élevés à l'hépatomégalie plus importante que présentent les enfants à B12 élevée par rapport à ceux dont la B12 sérique est normale. Elle suggère à son tour une origine hépatique (trouble du stockage) pour expliquer ces taux élevés de Cbl sérique. Dans une deuxième étude (OSIFO 1983) elle trouve des taux de B12 plus élevés dans le kwashiorkor que dans le marasme. OSIFO a également étudié les transcobalamines sériques (OSIFO 1983) chez des enfants malnutris de type marasme et kwashiorkor. Elle conclut, dans son étude, que les transcobalamines permettraient de différencier les deux types de malnutrition, la TC I étant augmentée dans les 2 cas alors que la TC II n'est diminuée qu'en cas de kwashiorkor. Elle explique la chute de la TC II dans le kwashiorkor par les lésions hépatiques (plus importantes que dans le marasme), le foie étant le lieu principal de synthèse de cette TC II.

En conclusion, ces études montrent que :

- Les taux de Cbl sérique sont normaux voire élevés en cas de malnutrition (SATOSKAR 1962, THANANGKUL 1975, OSIFO 1983). Cette augmentation peut être plus importante en cas de kwashiorkor.
- Une origine hépatique par trouble du stockage de la Cbl a été évoquée par plusieurs auteurs (SATOSKAR 1962, THANANGKUL 1975).
- La TC I serait augmentée en cas de malnutrition quelle qu'en soit le type.
- La TC II serait normale en cas de marasme et abaissée en cas de kwashiorkor.

Il faut noter qu'il n'y a, à ce jour, aucune étude concernant les analogues de la Cobalamine dans la malnutrition protéino-énergétique.

4.3. La Riboflavine ou vitamine B2

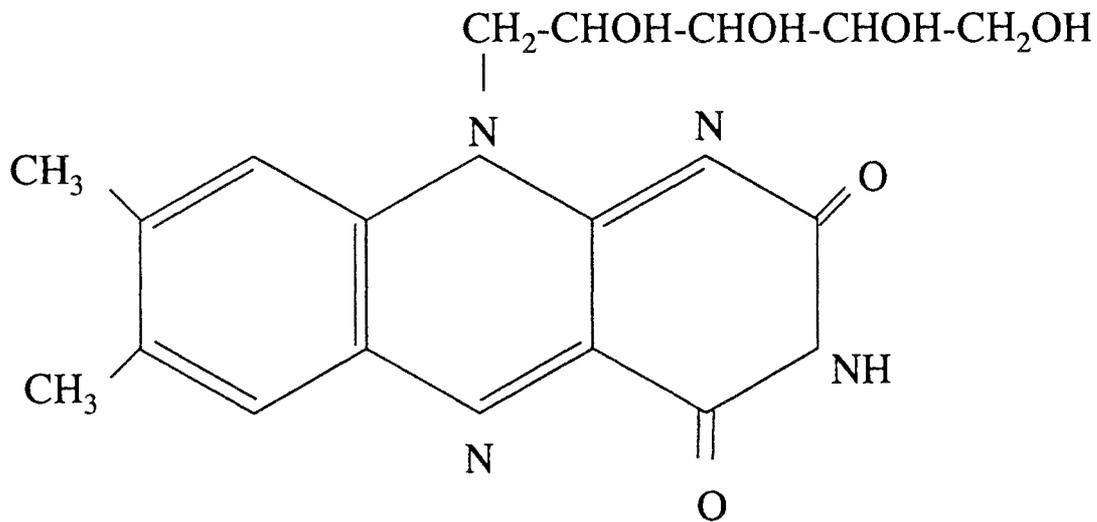
4.3.1. Rappel historique

En 1920, EMMET constate, qu'après destruction du facteur antinévritique (vitamine B1) par la chaleur, il persiste dans les extraits de levure un facteur de croissance, thermostable, dont on montrera un peu plus tard l'identité avec un pigment jaune isolé du lait par BLYTH dès 1879. Entre 1933 et 1935, plusieurs chercheurs réussissent à isoler ce facteur et la synthèse de riboflavine est réalisée séparément par KUHN et KARRER. En 1938 WARBURG et CHRISTIAN isolent et caractérisent le flavine adénine dinucléotide (FAD) et démontrent qu'il joue un rôle de coenzyme. En 1941, SEBRELL et SYDENSTRICKER rapportent les premières observations d'ariboflavinose chez l'homme. Les premières recommandations d'apport sont publiées aux États-Unis en 1958 en fonction de l'apport protéique et en 1964, en fonction de l'apport énergétique. A partir de 1982, diverses anomalies héréditaires du métabolisme dépendant de la riboflavine commencent à être décrites.

4.3.2. Structure de la riboflavine et de ses cofacteurs

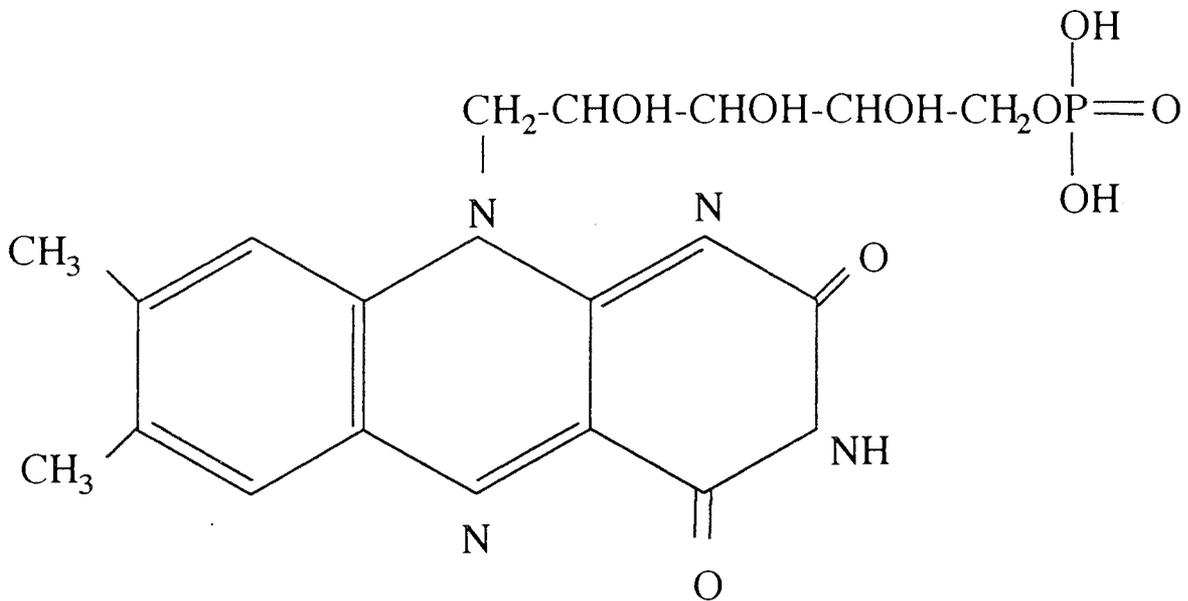
La riboflavine résulte de la combinaison d'une flavine qui est un hétérocycle azoté à trois noyaux (l'isoalloxazine) et d'un sucre à 5 carbones (le ribose). Cette association ribose et flavine est à l'origine de sa dénomination.

Figure n° 8 : Structure de la riboflavine



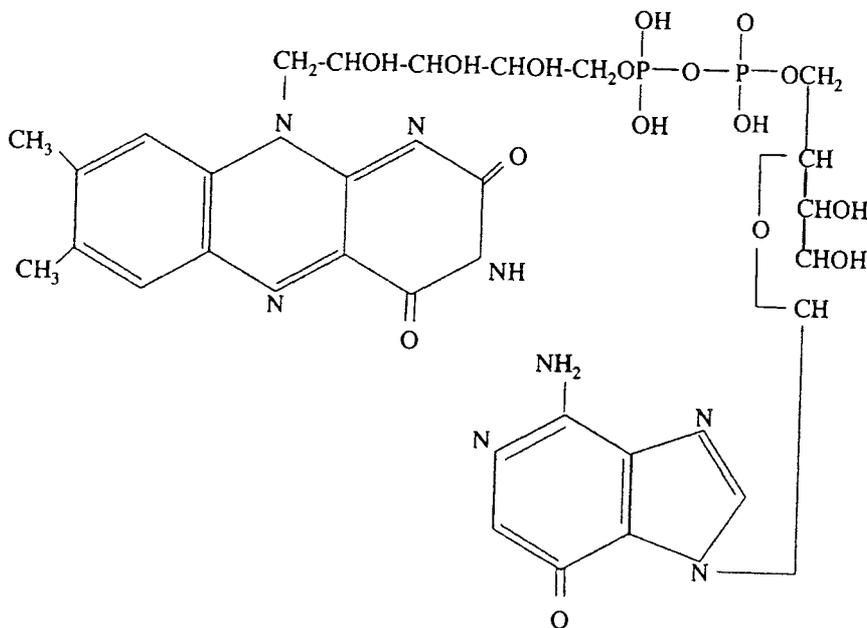
2 dérivés de la riboflavine sont particulièrement important sur le plan métabolique. Le phosphate de riboflavine ou flavine mononucléotide (FMN) qui comporte un groupement phosphate provenant de l'ATP en position 5'.

Figure n° 9 : Structure du FMN : flavine mononucléotide.



Le Flavine dinucléotide (FAD) est formé à partir du FMN par combinaison avec une molécule d'AMP provenant de l'ATP.

Figure n° 10 : Structure du FAD (flavine adénosine dinucléotide).



Le FAD peut être réduit en FADH₂ en fixant 2 atomes d'hydrogène sur les azotes 1 et 5. Purifiée, la riboflavine est une substance cristalline qui se présente en fines aiguilles de couleur jaune orange au goût amer ; elle est stable à la chaleur et ne s'oxyde pas à l'air.

Contrairement aux dérivés FMN et FAD, la Rf est peu soluble dans l'eau mais lui communique une fluorescence d'un jaune vert intense. Elle est très sensible à la lumière et aux rayons ultraviolets qui la décomposent rapidement en un dérivé inactif, la lumiflavine.

4.3.3. Sources de la riboflavine

Dans de nombreuses espèces animales, la Rf est synthétisée par les bactéries intestinales. Chez l'homme, cette synthèse est insuffisante pour assurer la couverture des besoins qui restent sous la dépendance de l'alimentation. Dans l'alimentation la vitamine B2 est sous forme de Rf, FAD ou FMN. Le FAD et le FMN sont hydrolysés au niveau gastro-intestinal puis sont absorbés au niveau de l'intestin grêle.

La riboflavine est surtout présente dans les aliments d'origine animale :

| Aliment | B2 (mg / 100 g) |
|-------------------|------------------------|
| Foie de Bœuf | 3,5 |
| Fromage (Cheddar) | 0,46 |
| Œuf | 0,30 |
| Viande de porc | 0,27 |
| Viande de bœuf | 0,24 |
| Brocoli | 0,20 |
| Viande de poulet | 0,19 |
| Lait de vache | 0,17 |
| Épinards | 0,14 |
| Semoule de blé | 0,11 |
| Millet | 0,11 |
| Maïs | 0,11 |
| Lentilles | 0,10 |

Le lait de femme n'est pas riche en riboflavine mais sa teneur (0.03-0.04 mg/100g) est suffisante pour assurer les besoins nutritionnels du nourrisson.

4.3.4. Métabolisme de la riboflavine

4.3.4.1. Absorption

L'absorption de la Rf libre se fait au niveau du jéjunum par un système de transport actif et saturable (JUSKO 1975, MAC CORMICK 1989). L'absorption intestinale est régulée en fonction de la quantité de Rf présente dans l'alimentation (MAYERSOHN 1969, JUSKO 1975, SAID 1993, ZEMPLINI 1996).

4.3.4.2. Distribution

Dans la cellule intestinale la Rf est partiellement transformée en FMN et FAD (JUSKO 1975, BATES 1997) ; celles-ci passent ensuite dans le courant sanguin où elles se lient aux protéines telles que l'albumine, les globulines et le fibrinogène (WHITE 1988) avant d'être délivrées aux tissus. Le FAD se trouve également de façon importante dans les globules rouges. Au niveau tissulaire, on trouve la riboflavine essentiellement au niveau du foie, des reins et du cœur. Les réserves de l'organisme sont faibles et n'assurent les besoins de celui-ci que pour une période de 2 à 6 semaines.

4.3.4.3. Élimination

L'excrétion de vitamine B2 se fait surtout par voie urinaire sous forme de Rf libre mais parfois aussi de FMN (ZEMPLINI 1996).

4.3.4.4. Les enzymes de la synthèse des cofacteurs flaviniques

4.3.4.4.1. La riboflavine kinase ou flavokinase (EC 2.7.1.2.6)

Cette enzyme transforme la Rf en FMN ; la réaction nécessite la présence de zinc, d'ATP et est influencée par le statut en Rf et en hormones thyroïdiennes plus particulièrement la T3 (MERRILL 1978, LEE 1983). Cette dernière agirait soit en stimulant la transcription du gène soit en stimulant la traduction des ARNm de la Rf kinase (RIVLIN 1966 et 1969, LEE 1985). L'activité de la Rf kinase est physiologiquement limitante dans la biosynthèse des coenzymes. Cette enzyme est trouvée dans le cytosol, la mitochondrie et les microsomes (HAMAJIMA 1979).

4.3.4.4.2. La FAD synthétase ou FMN adényltransférase ou FAD pyrophosphorylase (EC 2.7.7.2.1)

La FAD synthétase transforme le FMN en FAD en présence d'ATP et de Mg²⁺. Son activité n'est pas affectée par le statut en hormone thyroïdienne (RIVLIN 1969, LEE 1985). Cette enzyme est trouvée dans le cytosol, la mitochondrie et les microsomes (HAMAJIMA 1979). L'activité de cette enzyme est régulée par les taux de FAD.

4.3.5. Rôles physiologiques de la riboflavine

Les 2 cofacteurs de la Rf servent de coenzymes dans les réactions d'oxydo-réduction cellulaires incluant le transfert d'électrons vers la chaîne respiratoire mitochondriale (MAC CORMICK 1989). Parmi les enzymes les plus étudiées nous retiendrons :

- La glutathion réductase érythrocytaire dont l'activité permet la formation de glutathion réduit pour lutter contre les réactions de peroxydation.
- Les acyl-coenzymes A déshydrogénases (Acyl-CoA DH) et les oxydases dont les activités permettent l'oxydation des acyl-CoA dérivant des acides gras et de certains acides aminés (Acyl-CoA à courte chaîne).
- La déshydrogénase des protéines de transfert d'électrons (Electron transfer flavoprotein dehydrogenase ou ETF dehydrogenase), intervenant dans le transport d'électrons des coenzymes réduits vers la chaîne respiratoire mitochondriale.
- La méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR) dont l'activité permet la formation du 5-méthyl-tétrahydrofolate (5-MTHF) qui est un donneur de méthyl à l'homocystéine pour la formation de méthionine par un mécanisme vitamine B12 dépendant.
- La pyridoxine phosphate oxydase (PPO) dont le cofacteur est le FMN et intervient dans la réaction de conversion de la pyridoxine en ses cofacteurs qui sont impliqués dans la biosynthèse de certains neurotransmetteurs (BRADFORD 1986, COOPER 1986).

Ainsi, les cofacteurs de la riboflavine (FMN et FAD) sont indispensables non seulement aux réactions d'oxydoréduction de l'organisme permettant le métabolisme des glucides, lipides et protides, mais aussi au métabolisme de certains neurotransmetteurs.

4.3.6. La carence en riboflavine

4.3.6.1. Les causes de la carence en riboflavine

La cause la plus connue est l'insuffisance d'apport en Rf dans les cas de malnutrition (SAUDUBRAY 1987, LE MOEL 1998). Sinon il faut signaler la malabsorption due à une atrophie de la muqueuse intestinale (SAUDUBRAY 1987), la prise d'antidépresseurs (PINTO 1981), l'alcoolisme (SAUDUBRAY 1987), la photothérapie chez le nouveau-né (GROMISCH 1977) ou certaines infections (BAMJI 1987, BRIJLAL 1996).

4.3.6.2. Les conséquences de la carence en riboflavine

4.3.6.2.1. Les conséquences cliniques

Le déficit en riboflavine se manifeste par des signes cutanéomuqueux et oculaires. Chez l'homme, les symptômes sont habituellement frustrés, non spécifiques et le plus souvent intriqués à des signes en rapport avec des carences associées : autres vitamines, protéines. Au cours d'un régime carencé, les premiers signes n'apparaissent qu'après 3 à 4 mois. Les lésions cutanées se présentent sous forme d'une dermatite séborrhéique de la face prédominant aux ailes du nez et parfois sur le lobe des oreilles ou la queue des sourcils. On observe parfois une hyperpigmentation de la vulve et du scrotum (DUHAMEL 1979, LAKSHMI 1990). Les lésions muqueuses touchent essentiellement les lèvres et la langue : sur des lèvres lisses, brillantes, sèches et de couleur anormalement rouge se forment des crevasses suintantes et croûteuses (chéilite). Les commissures labiales présentent des fissures (perlèche). La langue devient pourpre et présente une atrophie des papilles (glossite) (NEWMAN 1978, DUHAMEL 1979). Les signes oculaires comportent photophobie et larmoiement. La conjonctive est le siège d'une hypervascularisation qui envahit la cornée en formant des anastomoses en réseaux concentriques. On peut également observer des opacifications cornéennes voire une cataracte. On a décrit des neuropathies (SAUDUBRAY 1987), des atteintes hépatiques (stéatose) (SAUDUBRAY 1987), et une sensibilité accrue aux infections reliée à une baisse de l'activité phagocytaire des leucocytes (LAKSHMI 1994).

4.3.6.2.2. Les conséquences biologiques de la carence en riboflavine

La détermination de l'activité de la glutathion réductase érythrocytaire est la meilleure méthode fonctionnelle pour détecter une carence en riboflavine. Elle consiste à mesurer l'activité d'une enzyme érythrocytaire FAD-dépendante : la glutathion réductase (GARRY 1976, PRASAD 1992). On mesure l'activité de cette enzyme avant et après adjonction de FAD. En cas de carence l'adjonction de FAD entraîne une augmentation de l'activité enzymatique.

Par ailleurs l'étude des acides organiques urinaires permet d'évaluer de façon indirecte le déficit des acylCoA déshydrogénases avec excrétion urinaire d'acides organiques, en particulier des acides éthylmalonique, adipique et glutarique (GREGERSEN 1982b, LARGILLIERE 1993).

4.3.7. Les études sur la riboflavine dans la malnutrition

Les déficits en riboflavine ont été décrits dans des populations d'enfants défavorisés (LOPEZ 1975, WILSON 1978) ou porteurs de maladies chroniques comme le diabète (COLE 1976) ou les cardiopathies congénitales (STEIER 1976).

Ces études étaient réalisées par une estimation indirecte du statut en Rf par la mesure de l'activité glutathion réductase (GARRY 1976, PRASAD 1992). Une étude réalisée en Gambie a montré un déficit en Rf chez les femmes enceintes ou allaitantes (BATES 1981). Chez l'enfant des déficits ont été mis en évidence dans des populations végétariennes (SAUNDERS 1981) dans l'anorexie mentale (VAN BINSBERGEN 1988) et dans la MPE de l'enfant (BATES 1982, AJAYI 1984a). Il a été montré que la carence en Rf avait un effet protecteur contre le paludisme (Anonyme 1984 - 1992).

Nous n'avons pas trouvé d'étude sur la riboflavine et ses cofacteurs dans la MPE. La mise en évidence du statut direct en Rf par l'étude de la vitamine, du FMN et du FAD est possible par chromatographie liquide haute performance (CLHP) (BLANCO 1994, CAPO-CHICHI 2000) mais difficile à réaliser en routine, c'est pourquoi, la plupart des études sont réalisées avec des méthodes d'évaluation indirecte du statut en Rf. Dans l'anorexie mentale, CAPO-CHICHI (1999) a montré qu'il n'y avait pas de déficit en Rf mais un déficit de conversion de la Rf en ses cofacteurs à cause de l'hypothyroïdie liée à la malnutrition. Ce travail permet de remettre en cause les études antérieures qui se basaient sur une analyse indirecte du statut en Rf. Elles ne faisaient pas la différence entre le déficit en Rf et le déficit en FMN ou FAD. Ces données posent également la question de savoir si l'efficacité observée lors de la supplémentation en Rf de certaines populations (AJAYI 1984b, BATES 1994) était due à la supplémentation en Rf ou à la disparition de l'hypothyroïdie liée à la renutrition.

4.4. Les acides organiques

4.4.1. Définition

Le terme acide organique (AO) est attribué à toutes les molécules hydrosolubles à chaîne courte, moyenne ou aromatique, portant un ou plusieurs groupements acides (COOH) et porteurs ou non des groupements hydroxyles (OH), méthyles (CH₃) et cétones (C=O). Par contre ces AO n'ont pas de groupement aminé (NH₂) (TANAKA 1975, CHALMERS 1982).

4.4.2. Origine des acides organiques

L'origine de la majorité des acides organiques est endogène ; mais elle peut être exogène. Certains acides organiques ingérés, absorbés et éliminés tels que ceux provenant du métabolisme bactérien intestinal, absorbés et éliminés car non métabolisables par l'organisme (ex : l'acide D lactique), des acides organiques présents dans les ingestats (additifs tels que l'acide benzoïque, médicaments tels que l'aspirine, l'acide valproïque) sont métabolisés par l'organisme et éliminés sous forme d'un mélange d'acides organiques parfois complexe. Par ailleurs, une alimentation riche en triglycérides à chaîne moyenne (TCM) entraînera une acidurie dicarboxylique par ω -oxydation d'une partie de ces acides gras. Les acides organiques excrétés dans les urines sont des substances issues du métabolisme des acides gras, des glucides, de certains acides aminés, de certains médicaments, de certains additifs alimentaires ou des molécules synthétisées par les bactéries urinaires ou intestinales (HANSEN 1972, CHALMERS 1976 - 1979).

4.4.3. Structure des acides organiques

Les acides organiques se présentent sous différentes formes : les AO à chaîne linéaire (acides monocarboxyliques, hydroxy-monocarboxyliques, dicarboxyliques, hydroxy-dicarboxyliques, céto-dicarboxyliques et tricarboxyliques) ; les AO aromatiques (monocarboxyliques) et les conjugués de la glycine ou de la carnitine. Dans cette étude, nous parlerons des AO à chaîne linéaire et des conjugués de la glycine. Les dérivés conjugués à la carnitine qui ne sont pas mis en évidence par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ne seront pas abordés dans ce chapitre.

4.4.3.1. Les acides monocarboxyliques non aromatiques

Ils possèdent une fonction COOH en position alpha de la molécule ; on distingue les monocarboxyliques à chaîne courte (acides isovalérique, butyrique et propionique), à chaîne moyenne (acides hexanoïque, heptanoïque, octanoïque, decanoïque et dodécanoïque). Les dérivés des acides gras à chaîne longue (stéarique, oléique, linoléique et palmitique) ne sont pas solubles dans l'eau et ne font donc pas partie des acides organiques.

4.4.3.1.1. Les acides hydroxy-monocarboxyliques

Ils proviennent du catabolisme des glucides (acide lactique), des acyl-CoA par la voie de la ω -1 oxydation ; l'hydroxylation se fait sur l'avant-dernier carbone de la chaîne.

On distingue les acides β -isobutyrique, β -hydroxy-butyrique, β -hydroxy-isobutyrique, β -hydroxy-isovalérique, β -hydroxy-isovalérique et 5-hydroxycaproïque. L'acide β -OH-isovalérique provient du catabolisme de la leucine (TANAKA 1975). L'acide β -OH-butyrique provient du catabolisme des acides gras et sa concentration est élevée en période de restriction énergétique. L'acide β -OH-isobutyrique provient du catabolisme de la valine (TANAKA 1975, GREGERSEN 1982a, SAUDUBRAY 1987).

4.4.3.1.2. Les acides α -céto-monocarboxyliques

Ils proviennent du catabolisme des glucides (acides pyruvique et glyoxylique), du catabolisme des acides gras (acide acéto-acétique), du catabolisme de l'isoleucine (acide α -céto- β -méthyl-isovalérique) et du catabolisme de la valine (acide α -céto-isovalérique) (TANAKA 1975, SAUDUBRAY 1987).

4.4.3.1.3. Les monocarboxylglycines

L'isovalérylglycine et la méthylcrotonylglycine proviennent de la conjugaison d'une molécule de glycine avec l'isovaléryl-CoA et le méthylcrotonyl-CoA, respectivement. Ces 2 AO proviennent du catabolisme de la leucine (TANAKA 1975, SAUDUBRAY 1987).

4.4.3.2. Les acides dicarboxyliques

Ils proviennent du catabolisme des acyl-CoA par la voie de l'oméga-oxydation (ω -oxydation). L'oxydation a lieu sur le dernier carbone de la chaîne et elle se déroule dans le micrososome sur les acides gras à chaîne moyenne pour donner l'acide dicarboxylique correspondant (ex : l' ω -oxydation de l'acide dodécanoïque (C12) va donner l'acide dodécanedioïque). L'acide dodécanedioïque va subir une β -oxydation peroxysomale pour fournir successivement les acides sébacique (C10), subérique (C8) et adipique (C6). On distingue aussi les acides azélaïque et pimélique qui sont issus de l' ω -oxydation des acides gras à nombre impair de carbones. Certains acides dicarboxyliques à chaîne courte proviennent de l'oxydation du butyryl-CoA dans la mitochondrie (acides éthylmalonique et méthylsuccinique), d'autres proviennent de l'oxydation des acides aminés (acides glutarique, 3-méthylglutarique, méthylmalonique), et de l'oxydation du glucose via le cycle de Krebs (acides succinique et fumarique) (SAUDUBRAY 1987).

4.4.3.2.1. Les acides hydroxy-dicarboxyliques

Les acides 5-hydroxy-caproïque et 5-hydroxy-sébacique proviennent de l'hydroxylation respective des acides caproïque et sébacique par la voie de l' ω -1 oxydation.

4.4.3.2.2. Les acides α -céto-dicarboxyliques

Ils proviennent de l'acide isocitrique dans le cycle de Krebs (α -cétoglutarique) du catabolisme des acides gras (acide cétoadipique) et du catabolisme de la leucine (acide α -cétoisocaproïque) (TANAKA 1975).

4.4.3.2.3. Les dicarboxyl-glycines

La subérylglycine, par exemple, provient de la conjugaison d'une molécule de glycine avec l'acide subérique.

4.4.4. Étiologie des aciduries organiques

Certains acides organiques sont des catabolites normaux physiologiquement excrétés en faibles quantités dans l'urine. L'excrétion urinaire excessive des acides organiques dans l'urine se produit généralement lorsqu'il existe un dysfonctionnement d'une activité enzymatique impliquée dans leur catabolisme. Ce dysfonctionnement enzymatique peut être dû à une anomalie de l'enzyme elle-même ou de sa structure (BURLINA 1991) ou à un défaut du coenzyme indispensable à l'activité enzymatique (MANTAGOS 1979, GREGERSEN 1990). Ces coenzymes sont souvent des métabolites actifs des vitamines, par exemple, les cofacteurs de la riboflavine sont indispensables aux activités enzymatiques des acyl-CoA déshydrogénases (HOPPEL 1979, GREGERSEN 1990).

Des études expérimentales chez l'animal (HOPPEL 1979, GREGERSEN 1982a, GREEN 1985, GREGERSEN 1990) ont montré que la carence en riboflavine était à l'origine d'une excrétion urinaire excessive d'acides dicarboxyliques à courte chaîne (acides éthylmalonique et glutarique) et à chaîne moyenne (acides adipique, subérique et sébacique), d'hydroxy-acides (acides 3-OH-isovalérique et 5-OH-caproïque) et de conjugués de la glycine (isovalérylglycine, 2-méthylbutyrylglycine et isobutyrylglycine).

Une acidurie organique semblable au profil observé dans la carence expérimentale en riboflavine chez le rat a aussi été observée chez l'homme dans le cas de malabsorption digestive (LARGILLIERE 1993), d'enfants souffrants de MPE (TERAN-GARCIA 1998) et dans l'anorexie mentale (CAPO-CHICHI 1999).

4.4.5. Toxicité des acides organiques

De nombreuses maladies liées à des anomalies héréditaires du métabolisme entraînant une accumulation d'acides organiques sont maintenant décrites. La plupart de ces maladies ont une expression clinique neurologique (sommolence, coma, convulsions, troubles psychiatriques, atteintes des noyaux gris centraux). Cette symptomatologie est due en partie à la toxicité directe des acides organiques qui s'accumulent dans l'organisme lors des épisodes de décompensation (SAUDUBRAY 1987). L'épuration de ces substances toxiques permet d'ailleurs de normaliser l'état clinique, quand elles sont mises en place suffisamment tôt avant l'instauration de lésions neurologiques définitives.

4.4.6. Modalité d'élimination des acides organiques

Les acides organiques sont hydrosolubles. Leur élimination se fait essentiellement par voie urinaire. Certains seront en partie détoxifiés par conjugaison à la glycine avant d'être excrétés dans les urines (GREGERSEN 1982b).

4.4.7. Les acides organiques dans la malnutrition

Il y a peu d'études concernant les acides organiques dans la MPE. Les AO ont été surtout étudiés pour démontrer des déficits vitaminiques en mettant en évidence des profils spécifiques de déficit en thiamine (TANG 1989, NAKASAKI 1997), en Rf (VEITCH 1989), en biotine (MOCK 1985) ou en cobalamine (CASTERLINE 1987, NORMAN 1987, SPECKLER 1988).

Une étude réalisée dans l'anorexie mentale a montré des profils compatibles avec un déficit apparent en riboflavine : en réalité, il y avait un défaut de conversion de la riboflavine en ses cofacteurs (en particulier en FAD) probablement secondaire à une hypothyroïdie fonctionnelle observée dans cette malnutrition (syndrome dit de " basse T3 ")(CAPO-CHICHI 1999). TERAN-GARCIA a publié en 1998 une étude longitudinale des acides organiques urinaires au cours de la renutrition dans 4 populations différentes d'enfants malnutris (TERAN-GARCIA 1998). Cet auteur a trouvé dans presque la moitié des cas, un profil compatible évoquant un bloc sur la voie du propionate (acidurie propionique ou méthylmalonique) et / ou de l'oxydation des acides gras (acidurie dicarboxylique). Quantitativement, l'excrétion la plus importante était observée sur les échantillons intermédiaires, recueillis en cours de renutrition, ces profils d'AO disparaissant sur les échantillons recueillis en fin de renutrition.

MÉTHODES

5. Études personnelles

5.1. But des études

Le statut vitaminique dans la MPE a été surtout étudié pour les vitamines liposolubles. Il y a relativement peu d'études concernant les vitamines hydrosolubles. Le développement des connaissances sur le métabolisme de la cobalamine et de ses transporteurs, nous a permis d'étudier cette vitamine dans la MPE. L'analyse des acides organiques urinaires permet de mettre en évidence de façon indirecte plusieurs déficits en vitamines du groupe B (thiamine, biotine, riboflavine, cobalamine). L'étude des AO nous permet d'authentifier d'éventuels déficits en cobalamine et de mettre en évidence d'autres déficits en vitamines que nous n'avons pas étudiés lors de cette première étude. Devant les résultats de cette première étude permettant de suspecter un déficit en riboflavine, nous avons étudié avec le Dr CAPO-CHICHI dans deux populations d'enfants malnutris venant d'une région côtière du Togo et d'une région de savane du Bénin, la riboflavine et ses cofacteurs dans le plasma et les érythrocytes, en parallèle avec le statut thyroïdien et les acides organiques urinaires afin de savoir si dans la MPE, il existait réellement un déficit en Rf et/ou un défaut de conversion de la Rf en ses cofacteurs actifs.

La deuxième partie de notre travail concerne le métabolisme lipidique que nous avons étudié dans la population marastique du Nord Mauritanien d'une part et dans une population de jeunes filles atteintes d'anorexie mentale d'autre part. Les études antérieures ont surtout mis en évidence des taux bas de cholestérol et des taux normaux ou bas en triglycérides dans la MPE. Nous avons voulu préciser les perturbations du métabolisme lipidique grâce à l'étude des particules lipoprotéiques et des apoprotéines afin de mieux comprendre les résultats observés. Dans l'anorexie mentale, des taux de cholestérol élevés ont été décrits depuis longtemps. Nous avons effectué la même étude que dans la MPE en y ajoutant le dosage du lathostérol (précurseur de la synthèse endogène du cholestérol). Nous voulions vérifier si le cholestérol était élevé d'une part, et si, d'autre part, ces taux élevés étaient dus à une augmentation de sa synthèse endogène.

5.2. Les populations étudiées

5.2.1. Les études réalisées dans le Nord Mauritanien

Trente neuf enfants malnutris ont été étudiés à leur admission à l'hôpital de Nouadhibou, ville du Nord Mauritanien située en région désertique. Ces enfants ont participé à l'étude sur la cobalamine, ses transporteurs et les acides organiques urinaires d'une part et à l'étude des lipides plasmatiques d'autre part. Dix huit enfants français appariés pour l'âge et le sexe ont été étudiés comme groupe témoin pour ces études. Ces enfants ne présentaient aucune pathologie nutritionnelle ni inflammatoire. Cette étude a été réalisée chez les enfants à jeun, ne présentant pas de déshydratation et avant toute renutrition pouvant contenir des suppléments vitaminiques. Dix cm³ de sang ont été prélevés par ponction de la veine fémorale sur tube contenant de l'éthylène-diamine-tétracétique (EDTA) de sodium.

Un hématocrite est réalisé immédiatement par micro-centrifugation de 50 μ l de sang puis le reste du sang est centrifugé à 2500G pendant 15 minutes, enfin le plasma est aliquoté puis congelé immédiatement à -20°C . Le transport en France de ces prélèvements a été effectué dans de la carboglace, pour éviter toute décongélation du moment du recueil à celui du dosage. Les urines ont été prélevées sur les 12 premières heures suivant l'hospitalisation ; elles ont été congelées immédiatement à -20°C puis transférées en France selon les mêmes modalités que les prélèvements sanguins.

5.2.2. L'étude réalisée chez les enfants du Togo et du Bénin

Nous avons étudié la riboflavine et ses cofacteurs (FAD et FMN) ainsi que le statut thyroïdien et les acides organiques urinaires dans 2 populations malnutries et chez des sujets sains. Les enfants malnutris ont été étudiés dans le Nord du Bénin dans une région de savane et dans la région côtière du Sud Togo. Le groupe provenant de la savane du Bénin est constitué de 40 enfants malnutris âgés de 6 à 48 mois, dont 28 kwashiorkors et 12 marasmes. Ces enfants ont été hospitalisés pour diarrhée, fièvre, infection, vomissement ou anorexie au centre pédiatrique du CHR Sédo-Goho à Abomey. Les mesures anthropométriques et les prélèvements ont été réalisés par les infirmières. Le groupe provenant de la région côtière du Togo est constitué de 32 enfants hospitalisés pour diarrhée, fièvre, infection vomissements ou anorexie au service de pédiatrie du CHU de Tokoin à Lomé. Les mesures anthropométriques et les prélèvements ont été effectués par 6 étudiants de 2^{ème} et 3^{ème} année de la Faculté de Médecine de Nancy lors d'un stage réalisé au Togo. Cette étude était réalisée chez les enfants ne présentant pas de déshydratation, à jeun, en particulier avant toute renutrition pouvant contenir des suppléments vitaminiques. Par ailleurs une population témoin de 30 enfants provenant de la région de savane (n=15) et de la côte (n=15) a été étudiée selon le même protocole que les deux populations d'enfants malnutris. Du sang veineux a été prélevé le matin à jeun (jeûne de 12 heures), dans un tube hépariné de 5 ml enveloppé dans de l'aluminium pour protéger la Rf et ses cofacteurs de la lumière. Le tube est immédiatement centrifugé à 1200 G et le plasma est aliquoté. Le culot érythrocytaire est rincé 3 fois avec une solution de NaCl à 0,9%. Les échantillons sont conservés à -20°C sur place puis transférés congelés en France où ils seront stockés à -20°C jusqu'au dosage. Pour le recueil d'urines, la première miction du matin est recueillie dans un flacon stérile et conservée immédiatement à -20°C . Ces échantillons seront transférés congelés en France et stockés à -20°C jusqu'à utilisation.

5.2.3. L'étude réalisée chez les jeunes filles atteintes d'anorexie mentale

22 jeunes filles anorexiques ont été étudiées lors de leur hospitalisation à l'hôpital d'enfants de Nancy pour prise en charge de leur anorexie mentale. Quatorze études ont pu être menées au terme des 30 jours et réalisées complètement. Nous avons étudié chez ces jeunes filles l'anthropométrie, le statut nutritionnel, un bilan endocrinien comprenant l'ACTH, le cortisol et les oestrogènes et le bilan lipidique à trois temps différents :

J0 : Au début de l'hospitalisation avant renutrition.

J10 : Après dix jours d'hospitalisation.

J30 : Après 30 jours d'hospitalisation.

Le protocole de renutrition consistait en une période d'alimentation spontanée suivie en cas d'échec d'une prise en charge nutritionnelle par nutrition entérale nocturne à débit constant (NEDC). Les prélèvements sanguins (15 ml de sang sur héparine) sont réalisés le matin à jeun aux trois temps de l'étude indiqués plus haut. Ces tubes sont centrifugés immédiatement, le plasma est aliquoté puis congelé à -20°C jusqu'à réalisation des dosages.

5.3. L'anthropométrie

Le poids (exprimé en kg) et la taille (exprimée en m) ont été les deux mesures utilisées chez tous les sujets étudiés. Ces deux paramètres nous ont permis le calcul de l'indice de corpulence ou indice de Quetelet défini comme : Indice de Quetelet (kg/m^2) : Poids/Taille². Ces valeurs seront comparées aux valeurs normales de la population française (ROLLAND-CACHERA 1991). Pour les enfants de Mauritanie, le périmètre crânien (PC exprimé en cm), reflet indirect de la croissance cérébrale (relativement préservée en cas de malnutrition) et le périmètre brachial (PB exprimé en cm) qui reflète la croissance musculaire (très altérée en cas de malnutrition), ont été mesurés et ont permis le calcul du rapport PB/PC qui est relativement constant jusqu'à trois ans et qui permet d'évaluer l'état nutritionnel (KANAWATI 1970). Les valeurs de poids et de taille ont été comparées aux valeurs normales pour l'âge données par le National Center for Health Statistics (STUART 1987).

5.4. Biologie

5.4.1. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

L'albumine (Alb), la transthyréline (Transt), la C Réactive Protéine (CRP) et l'orosomucoïde (Oro) ont été dosées en immunonéphélométrie laser (Automatic nephelometer, BEHRING-Marburg, FRG). Ces analyses ont été réalisées avec des anti-sérums (BEHRING et un sérum standard comme référence (CONRAD 1978). Pour l'étude sur la Rf dans la MPE, l'Alb, la Transt, la transferrine et l'orosomucoïde ont été dosées par immunonéphélométrie Beckman (Array 360 CE system, Beckman, Brea, California).

5.4.2. Les acides aminés plasmatiques

Les acides aminés (AA) sont dosés par chromatographie en phase gazeuse sur chromatographe LKB 4151 "alpha plus" avec une colonne contenant une résine échangeuse de cation (Ultropac 8, forme lithium). La réaction colorimétrique terminale se fait à la ninhydrine et est mesurée par spectrophotométrie à 440 nm pour la proline et l'hydroxyproline et à 570 nm pour les autres AA. L'aire sous la courbe de chaque AA permet de calculer sa concentration après l'avoir comparé à la courbe d'une solution standard étudiée dans les mêmes conditions expérimentales (RAHM 1971).

5.4.3. Les dosages hormonaux

5.4.3.1. Les hormones thyroïdiennes

La thyrotropine, la thyroxine totale (T4), la triiodothyronine totale (T3), la thyroxine libre (FT4) et la triiodothyronine libre (FT3) ont été dosées par immunofluorimétrie avec des kits DELFIA selon la méthode décrite par HEMMILA (1984). Les mesures ont été effectuées sur un lecteur Wallac (Wallac-Oy, Turku, Finland).

5.4.3.2. ACTH, cortisol et oestradiol

L'ACTH, le cortisol et le 17- oestradiol ont été dosés par radio-immunologie avec respectivement les kits suivants : ELSA-ACTH (cis bio, international), Ref 1114 (Immunotech. International, France) and ESTR CTRIA CIS (Bio International).

5.4.4. La cobalamine, ses transporteurs et ses analogues

5.4.4.1. Dosage de la CLF (Capacité latente de fixation de la vitamine B 12) et des Transcobalamines par technique radio-isotopique

5.4.4.1.1. Principe du dosage

Le dosage des transcobalamines insaturées est réalisé en saturant tous les transporteurs libres présents dans le plasma par une solution de B 12 radioactive, puis en éliminant la B 12 libre restante par adjonction de charbon activé puis centrifugation ; le comptage du surnageant permet par calcul d'obtenir les concentrations de TC insaturées totales. On peut éliminer la TC II par adjonction d'une suspension de silice (QUSO G 32) puis centrifugation : le comptage du surnageant permettra d'établir le taux d'haptocorrines insaturées (TC I + TC III) et le comptage du culot, le taux de TC II insaturée. On peut également selon le même schéma absorber sur un gel DE 52 la TC I et ainsi réaliser le dosage de la TC I et de la TC III au sein des haptocorrines.

5.4.4.1.2. Technique de dosage

Ces dosages sont réalisés en utilisant le protocole de JACOB modifié (JACOB 1977). Chaque analyse est effectuée en double. Les aliquots de plasma sont incubés pendant 20' avec 300 μ l d'une solution de CN (^{57}Co) Cbl / CN Cbl (0,55 pmoles) (0,042 μ Ci/ml). Le volume final est complété à 1 ml avec de l'eau distillée. L'incubation est réalisée à 4°C sous agitation rotative ; 0,75 ml de charbon activé sont ensuite ajoutés afin de précipiter le restant de B 12 libre, après agitation et après centrifugation à 2500 G pendant 15' à 4°C ; 1,5 ml de surnageant contenant les transcobalamines saturées avec la CN (^{57}Co) sont collectés. La CLF B 12 est calculée après passage sur compteur Gamma du culot et du surnageant. Après le comptage, 500 μ l de QUSO G 32 à 30 mg/ml (qui est une poudre de silice précipitant sélectivement la TC II et laissant dans le surnageant les TC I et TC III) sont ajoutés aux 1,5 ml de surnageant. Après centrifugation le second surnageant (contenant TC I et TC III) est incubé dans un troisième temps avec 0,5 g de gel DE 52 dans 3 ml de tampon phosphate 0,03 M pH 6,35 afin de séparer la fraction acide de l'haptocorrine (TC I).

et la fraction basique (TC III). La CLF B 12 de la TC II, de l'haptocorrine et de ses 2 fractions : TC I et TC III sont calculées après comptage Gamma des culots et des surnageants des étapes 2 et 3.

5.4.4.2. Dosages de la Cobalamine et de ses analogues

5.4.4.2.1. Principe de dosage

Le dosage de la B 12 repose sur une technique radio-isotopique mettant en jeu une compétition entre la substance S endogène à doser et la substance S marquée et ajoutée en quantité constante. Cette technique de dosage comprend plusieurs étapes :

- adjonction aux échantillons d'une solution de B 12 radioactive
- séparation de la B 12 liée et de ses transporteurs
- adjonction d'un transporteur non dénaturé (FI pour le dosage de la B 12 vraie et protéine R pour le dosage des analogues)
- incubation
- adjonction de charbon afin d'éliminer la B 12 libre
- centrifugation
- comptage (compteur γ) des surnageants qui permet de déterminer les taux de B 12 et d'analogues.

5.4.4.2.2. Technique de dosage

Les concentrations en corrinoïdes sont déterminées en double en utilisant une technique radio-isotopique (KOLHOUSE 1978). Cent μ l de plasma sont nécessaires par échantillon. Toutes les manipulations sont réalisées à l'obscurité ou en lumière rouge. Il est ajouté aux échantillons 24 mmoles de CN (^{57}Co) dans 1 ml de tampon borate (0,082 moles/l) contenant 0,3 moles/l KCN, 0,3 % thioglycérol, 0,02 % BSA (pH 9,2) ; puis les corrinoïdes sont libérés des protéines porteuses par chauffage à 100°C pendant 15'. Ces corrinoïdes libres contiennent donc les corrinoïdes endogènes plus la quantité connue CN (^{57}Co). Du facteur intrinsèque et de l'haptocorrine sont utilisés ensuite comme transporteurs, après incubation des corrinoïdes et des transporteurs, 1 ml d'une suspension de charbon activé est ajouté afin d'éliminer les corrinoïdes libres puis l'échantillon est centrifugé pendant 15' à 2000 G (GOTTLIEB 1965). Le pourcentage de corrinoïde marqué lié au transporteur sera donc fonction du taux initial de corrinoïde endogène. Les taux de corrinoïdes sont obtenus par calcul après lecture des échantillons au compteur Gamma ; les résultats obtenus avec le facteur intrinsèque comme transporteur étant la Cobalamine vraie et les résultats obtenus avec l'haptocorrine étant les corrinoïdes totaux, on obtient par soustraction :

$(\text{Hc-Corrinoïdes}) - (\text{FI-Corrinoïdes}) = \text{Analogues de la B 12.}$

5.4.4.3. Les transcobalamines saturées

Après dosage de la B 12 plasmatique liée aux transporteurs, la transcobalamine II saturée est séparée de l'haptocorrine saturée par précipitation au QUSO G 32 comme nous l'avons décrit pour les transcobalamines insaturées. Après centrifugation, l'haptocorrine (TC I + TC III) saturée est calculée après comptage du surnageant et la TC II saturée est obtenue par soustraction de l'haptocorrine saturée du contenu total en corrinoïdes . Tous ces résultats sont exprimés en pg de B 12 /ml.

5.4.5. Dosage de la riboflavine et de ses cofacteurs

5.4.5.1. Extraction de la riboflavine plasmatique

L'extraction de la vitamine B2 du sang est réalisée selon la méthode de CAPO-CHICHI (2000) en utilisant la galactoflavine (GF) comme étalon interne. Toutes les procédures sont réalisées à l'obscurité pour éviter la dégradation de la riboflavine par la lumière ; 0,5 ml d'hémolysat (pour le dosage de la Rf et de ses cofacteurs érythrocytaires) ou 1 ml de plasma (pour le dosage de la Rf et de ses cofacteurs plasmatiques) sont utilisés pour l'extraction de la vitamine, auquel est ajouté un volume équivalent de solution A (10 mmol/L de KH_2PO_4^- , 15 mmol/L d'acétate de Mg, ramené à un pH de 3,4 avec de l'acide ortho-phosphorique) et 100 μl de galactoflavine (206 nmol/L). Les échantillons sont incubés à 65°C pendant 15 minutes pour permettre le relargage du FAD et du FMN des apoenzymes présents dans le milieu. Les protéines sont précipitées en ajoutant 0,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% à la solution, puis l'échantillon est centrifugé à 3200g à 4°C pendant 10 minutes ; le surnageant est gardé dans un tube. Le culot est à nouveau rincé avec 1 ml de solution A, puis on centrifuge à nouveau à 3200g à 4°C pendant 5 minutes, le second surnageant est ajouté au premier. Le surnageant est ensuite introduit dans une cartouche Sep-Pack C18 (Waters Milford, MA, USA) préalablement conditionnée par 2 ml de méthanol (Prolabo, Paris France) et 2 ml de solution A. La cartouche est ensuite rincée avec 2 ml de solution A et les vitamines sont ensuite éluées par 2 ml d'une solution B (méthanol et solution A mélangées avec un rapport de 1:1).

5.4.5.2. Analyse en HPLC de la Rf et des cofacteurs

Cent μl de l'extrait vitaminique sont ensuite injectés dans une colonne d'HPLC pour l'analyse. Une solution standard contenant 265 nmol/L de Rf (Merck Darmstad, Germany), 240 nmol/L de FAD et 220 nmol/L de FMN (Sigma St Louis, Mo, USA) et 206 nmol/L de GF (Merk Sharp & Dohm, New Jersey, USA) est utilisée pour le calibrage. Le taux d'extraction des pics des échantillons est respectivement pour le FAD, le FMN et la Rf de : 99,0 ; 3,81, 99,0 ; 5,80 et 97,0 ; 2,80. Le coefficient de variation inter essai est de 5,9% (FAD), 6,8% (FMN), 4,3% (Rf) et de 2,1% pour la GF. L'analyse de la Rf et de ses cofacteurs est réalisée sur une colonne à phase inverse C18 de 250 mm de longueur, de 4 mm de diamètre et de 5 μm de granulométrie (Interchim, Montluçon, France). La solution d'éluion est la solution A avec 15% d'acétonitrile à un débit de 1ml/min. Le système HPLC est composé de deux pompes (Waters, Milford, MA, USA) connectées à un spectrofluorimètre RF-355 et un intégrateur (Shimadzu, Kyoto, Japon). Le spectrofluorimètre est réglé sur 445 nm pour la longueur d'onde d'excitation et sur 530 nm pour la longueur d'onde d'émission de Rf, FAD, FMN et GF. La limite de détection est respectivement pour la FAD, la FMN, la GF et la Rf de 4,0 ; 3,4 ; 2,9 et 2,9 nmol/L.

5.4.6. Les acides organiques urinaires

Le dosage des acides organiques urinaires a été effectué par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse selon la méthode décrite par LEFEBVRE et al (LEFEBVRE 1982). L'analyse se fait selon les 4 étapes décrites ci-dessous.

5.4.6.1. Dosage de la créatinine urinaire

Le dosage de la créatinine urinaire a été effectué selon la méthode colorimétrique de Jaffe (BUTLER 1975).

5.4.6.2. Extraction des acides organiques

Un volume d'urine contenant 1 mg de créatinine est mis dans un tube en verre de 20 ml, on y ajoute 50 μ l d'étalon interne (acide ortho-hydroxyphényl acétique, 1mg/ml). L'extraction des acides organiques se fait en milieu acide, mais les acides alpha cétoniques ne sont pas stables si une oximation n'est pas effectuée au préalable pour stabiliser la double liaison de leur groupement cétone C=O ; cette dernière est très sensible à l'hydrolyse acide. La réaction d'oximation s'effectue dans un bain-marie à 60°C en milieu basique (pH : 11-12) grâce à l'addition de 200 μ L de NaOH 10% et de chlorure d'hydroxylamine (NH₂OH-HCL : 7,5 mg/ml) correspondant à 1/5 du volume d'urine. Avant la réaction d'oximation, le milieu est saturé en chlorure de sodium (NaCl), le pH est vérifié par des bandelettes et le tube contenant le mélange (urine, étalon interne, NaOH, NH₂OH, NaCl) est placé au bain-marie à 60°C sous agitation pendant 30 minutes. Après refroidissement, un volume de 200 μ L d'acide chlorhydrique 6 N est ajouté pour ramener le mélange à pH 1. L'extraction est effectuée trois fois successivement avec un mélange de 2 ml de solvant éther/acétate d'éthyle (v/v). A chaque extraction, 2 ml de solvant sont ajoutés, puis il faut centrifuger à 1000 G pendant 15'. La phase organique est ensuite prélevée et filtrée dans une fiole à travers du sulfate de sodium (Na₂SO₄) pour éliminer les gouttelettes de phase aqueuse qui pourraient interférer avec la phase organique. Après les 3 extractions, la phase organique contenue dans la fiole est récupérée dans un flacon en verre de 1 ml et mise à sécher par évaporation du solvant d'extraction sous un flux d'azote à température ambiante.

5.4.6.3. Dérivation des acides organiques

La dérivation des AO se fait par addition de 200 μ L de bistriméthyl-silyl-trifluoroacétamide "BSTFA" Pierce Chemical Co. (Interchim, Montluçon, France) à la phase sèche et la réaction de silylation se déroule en température ambiante pendant 12 heures. En cas d'urgence, la phase de silylation peut se faire à 60°C en 30 minutes.

5.4.6.4. Séparation, analyse et quantification des acides organiques

L'extrait silylé (1 μ l) est injecté dans le chromatographe en phase gazeuse (modèle 5890 Séries II : Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) équipé avec une colonne capillaire dont la température initiale est à 80°C. La température est programmée pour monter graduellement de 80 à 260°C (5°C/min), après un temps de latence. L'éluant est un flux d'hélium, à un débit de 1,5 ml/min. Lorsque la température du four atteint le point de fusion d'une molécule d'acide organique, celle-ci se décroche de la colonne et est recueillie dans un champ magnétique au niveau du spectromètre de masse ou la molécule est fragmentée par un faisceau d'électrons. Le spectromètre de masse (modèle HP 5971A, Hewlett Packard) permet de détecter les spectres de masse des molécules ionisées, et de les identifier par comparaison avec des spectres de molécules standards connues.

Chaque AO identifié, est quantifié en calculant le rapport surface acide organique (SAO)/ surface étalon interne (SEI) ; ce dernier est rapporté à une droite de régression ($y = ax+b$) tracée à partir d'une gamme standard où, y représente le rapport SAO standard/SEI et x représente la concentration de l'AO à déterminer. La concentration en acide organique est exprimée en $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ de créatinine.

5.4.7. Les lipides

5.4.7.1. Le Cholestérol

5.4.7.1.1. Le cholestérol total

Il a été dosé par réaction enzymocolorimétrique basée sur une double réaction liée catalysée par la cholestérol estérase :

- 1- ester de cholestérol -----> cholestérol + AG
- 2- cholestérol -----> Δ^4 cholestanone + H_2O_2

Cette production d'hydroperoxyde peut être obtenue grâce à des micro-organismes du genre *Noocardia* qui possèdent l'équipement enzymatique cité plus haut. La dernière étape consiste à mesurer les hydroperoxydes par la réaction de TRIADES : l'hydroperoxyde en présence de 4-aminopyrine, de phénol et de peroxydase va donner une réaction colorée lue à 540 nm (FRUCHART 1989).

5.4.7.1.2. Le HDL cholestérol

Il est dosé de la même manière que le cholestérol total mais après une précipitation préalable de l'échantillon au MnCl_2 qui permet de récupérer les HDL dans le surnageant et d'effectuer ainsi le dosage (WARNICK 1978, ASSMAN 1983, PUCHOIS 1987).

5.4.7.1.3. Le LDL cholestérol

Le LDL cholestérol a été obtenu par la formule de FRIEDEWALD où tous les paramètres sont exprimés en g/l (FRIEDEWALD 1972). $\text{LDL chol.} = \text{chol. total} - (\text{HDL chol.} + \text{TG}/5)$.

5.4.7.2. Les Triglycérides

Les triglycérides sont également dosés par méthode enzymo-colorimétrique. Cette technique est basée sur la mesure du glycérol relâché par les TG après extraction des lipides (chloroforme / méthanol) et hydrolyse alcaline (saponification ou trans-estérification).

Le glycérol ainsi libéré va être phosphorylé grâce à une glycérol kinase puis va être déshydrogéné et va ainsi réduire le NAD^+ qui va pouvoir à son tour donner une réaction colorée lue à 340 nm (ZIEGENHORN 1975, FRUCHART 1989).

5.4.7.3. Les Apoprotéines

Le dosage des apoprotéines est fait par une technique immuno-enzymatique dont le principe est le suivant : il faut d'abord posséder un anticorps (AC) spécifique de l'apoprotéine que l'on veut doser.

Celui-ci s'obtient après purification de l'apoprotéine et puis production d'un AC polyclonal (KOSTNER 1972). Ensuite, on effectue un couplage entre l'AC anti-apo et une enzyme révélatrice : la peroxydase. Une fois les AC préparés, la technique de dosage va se faire en 6 étapes :

- 1) Incubation des puits avec l'AC anti-apo seul
- 2) blocage de tous les sites non occupés au niveau des puits grâce à du sérum de lapin dilué au 1/100ème
- 3) incubation de l'échantillon contenant l'apo dans les plateaux où est fixé l'AC spécifique
- 4) incubation de l'AC anti-apo couplé à la peroxydase qui vient se fixer sur l'apo
- 5) réaction colorimétrique avec la peroxydase (AVRAMEAS 1969)
- 6) lecture à la densité optique voulue (PUCHOIS 1986)

Un des écueils de cette technique se situe au niveau de la standardisation de l'immun sérum contenant les AC anti-apo. Ce problème a été globalement résolu en passant ces sérums sur chromatographie d'affinité avec l'apoprotéine comme ligand. L'éluat de cette chromatographie permettant une standardisation correcte du dosage qui est toujours réalisé en faisant au préalable, une courbe témoin avec des standards dont la valeur en apo est connue. C'est donc grâce à cette technique que nous avons pu doser l'apo A₁ (PUCHOIS 1987), l'apo A₂ (PUCHOIS 1986), l'apo B (FRUCHART 1984b), l'apo C III (PARSY 1985) et l'apo E (KOFFIGAN 1987). Les résultats des dosages des apoprotéines sont exprimés en g/l. Il faut noter que pour les apo A₁, A₂ et B, on dispose actuellement d'AC monoclonaux, ce qui rend les dosages encore plus précis (BETARD 1987, FRUCHART 1989).

5.4.7.4. Dosage des particules lipoprotéiques

Le principe de ce dosage rejoint celui des apoprotéines mais il se fait en deux étapes. C'est une technique immuno-enzymatique utilisant deux AC anti-apo au lieu d'un seul pour les dosages d'apoprotéines. Nous décrirons en détail la technique pour la particule Lp A₁-A₂. Les dosages des Lp C₃-B et Lp E-B se font exactement sur le même principe : il n'y a que la spécificité des AC anti-apo qui change en fonction de la particule que l'on veut doser.

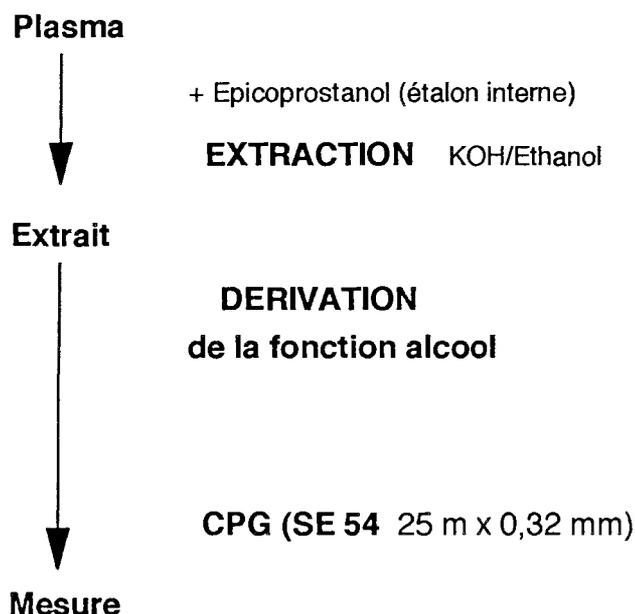
5.4.7.4.1. Principe du dosage de la Lp A₁-A₂

Ce dosage se réalise en deux temps. Tout d'abord, on prépare des puits en faisant incubé l'AC anti-apo A₂ pendant 18 à 25 heures en chambre humide. Ensuite, on bloque tous les sites libres grâce à du sérum de lapin dilué au 1/100ème. L'échantillon (50 ml), dilué dans un tampon phosphate de pH 6,5, est introduit dans les puits pour une incubation de 18 heures à 4°C. Pendant cette incubation, il n'y aura que les particules Lp A₁-A₂ qui vont se fixer dans les puits (les particules ne contenant que de l'apo A₂ sans apo A₁ n'existent pas ou n'ont pas pu être mis en évidence jusqu'à ce jour). Dans un second temps, après un lavage des puits, on dosera les particules liées grâce à un anti-A₁ couplé à la peroxydase. On mettra donc en évidence les Lp A₁-A₂ en terminant le dosage par la réaction enzymo-colorimétrique (KOREN 1987). Pour les Lp E-B et Lp C₃-B, on utilise le même principe. Il y a fixation des particules par un AC spécifique d'une apoprotéine et révélation de cette particule grâce à un AC spécifique de l'autre apoprotéine qui est, lui, couplé à une enzyme révélatrice : la peroxydase. Les résultats du dosage de ces particules sera exprimé en g/l. Le dosage de la Lp(a) est basé sur le même principe (VU-DAC 1989).

5.4.7.5. Dosage du lathostérol

Le lathostérol plasmatique a été dosé par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire après séparation de la phase contenant les stérols de la phase non saponifiable. L'analyse a été réalisée en suivant la procédure suivante. Une quantité connue d'épicoprostanol (1µg) est ajoutée à 50µL de sérum comme étalon interne. Les échantillons sont saponifiés en ajoutant 1 ml de KOH 3,5M dans une solution à 90% d'éthanol (WOLTHERS 1991). L'extraction des lipides non saponifiables se fait avec 3 ml d'hexane puis évaporation sous flux d'azote à 60°C. La solution résultante de stérols est silylée par addition de 100 µL de Trisil/TBT. Le lathostérol est ensuite quantifié en chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur un chromatographe Carlo Erba 4100 équipé d'un injecteur Ross. Une colonne SE 54 est utilisée pour la chromatographie aux conditions suivantes : la température initiale est de 160°C avec un gradient de température de 20°C par minute jusqu'à 255°C. L'hélium, utilisé comme gaz vecteur, est administré au débit 3,75 ml/mn. La température d'injection et de détection est de 290°C. Le chromatographe est connecté à un détecteur à ionisation de flamme connecté à un intégrateur électronique automatique (Shimadzu C-R3A) pour la mesure de l'aire des pics. Le coefficient de variation inter-essai est de 6,7%.

Figure n° 11 : Méthode de dosage du lathostérol



5.5. Les enquêtes nutritionnelles

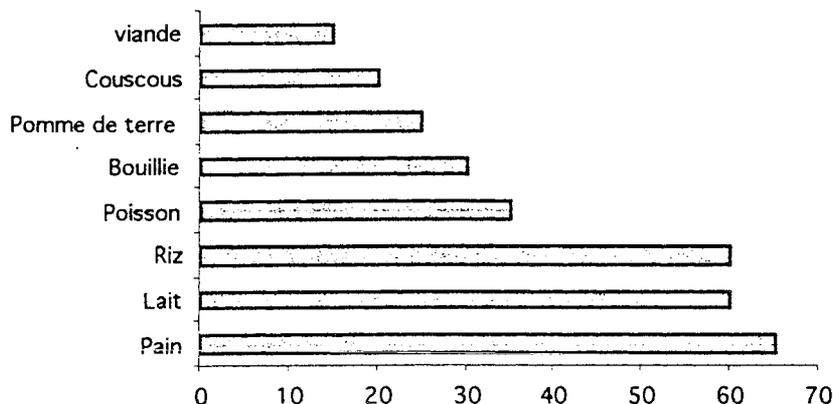
Des enquêtes alimentaires ont été réalisées lors des études que nous avons faites nous-mêmes. Ces enquêtes sont très imparfaites en raison du contexte dans lequel elles ont été menées, néanmoins elle permettent d'apporter certains éléments de discussion.

5.5.1. Enquête nutritionnelle pour la population malnutrie de Mauritanie

Les apports alimentaires des enfants malnutris n'ont pas pu être estimés précisément. Nous n'avons pu obtenir que des données qualitatives sur le régime de ces enfants.

L'obstacle de la langue (10 langues ou dialectes parlés dans la ville de Nouadhibou) et l'absence de connaissance quantitative de la prise alimentaire de ces enfants de la part des mères rendaient impossible une enquête plus précise. Nous donnerons les résultats de cette enquête dans ce paragraphe, sachant qu'ils sont pris en compte pour toutes les études concernant cette population. Les résultats de cette enquête sont résumés dans la Figure 12.

Figure n° 12 : Enquête alimentaire des enfants étudiés en Mauritanie
 % : Pourcentage des enfants consommant les aliments indiqués



65% de ces enfants mangent du pain, 60% du riz et du lait, 35% du poisson, 30% de la bouillie et 15% seulement ont de la viande dans leur régime alimentaire. La quantité des aliments ingérés est inévaluable pour les raisons citées plus haut. Néanmoins les aliments protéiques (poisson et viande) étaient très faibles quantitativement partant du fait du très faible niveau socio-économique des familles auxquelles appartenaient ces enfants.

5.5.2. Enquête nutritionnelle dans les populations malnutries du Bénin et du Togo

Chez ces enfants malnutris les enquêtes étaient aussi difficiles et sujettes à caution que pour les enfants de Mauritanie. Néanmoins la consommation alimentaire a été évaluée qualitativement grâce à des questionnaires soumis aux parents. La teneur en riboflavine de chaque aliment a été estimée à partir de tables de composition alimentaire (Food Composition and Nutritional Tables 1986/1987).

5.5.3. Enquête nutritionnelle dans le cadre de l'anorexie mentale

Dans l'anorexie mentale, nous avons évalué la teneur de leur régime en glucides, lipides, protéines et en plusieurs vitamines. Le contenu lipidique de leur réalimentation a attiré notre attention avec en particulier la détermination de l'apport d'acides gras saturés et insaturés lors de la renutrition.

5.6. Analyse statistique

Les analyses statistiques de ces études ont été effectuées avec un logiciel "Statview 4.02 software" (Abacus Concepts, Inc, Bekerley, CA) pour les 4 premières études. Les statistiques de l'étude sur les lipides dans l'anorexie mentale ont été réalisées en utilisant le logiciel BMDP (BMDP 1981). Pour toutes les études le degré de significativité a été retenu pour $p < 0,05$.

5.6.1. Étude sur la vitamine B12 et ses transporteurs dans la MPE

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm 1 déviation standard. Les données anthropométriques des patients et des contrôles sont exprimées en pourcentage des valeurs normales pour l'âge et le sexe ; les valeurs du National Center for Health Statistics (NCHS) sont utilisées comme références (STUART 1987). Les différences entre les paramètres des patients et des témoins ont été étudiées par analyse de variance (ANOVA F test) ou par le test de Mann et Whitney. Le groupe des patients a été séparé en trois groupes en fonction des concentrations de cobalamine plasmatique, et les autres paramètres ont été étudiés dans ces différents groupes. Ensuite le groupe des patients a été séparé en deux sous-groupes égaux en fonction des index nutritionnels (Alb x Transt) et inflammatoires (CRP x Oro). Les paramètres de la cobalamine ont été comparés dans ces sous-groupes par analyse de variance.

5.6.2. Étude acides organiques et MPE

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm 1 déviation standard. Les données anthropométriques des patients et des contrôles sont exprimées en pourcentage des valeurs normales pour l'âge et le sexe ; les valeurs du National Center for Health Statistics (NCHS) sont utilisées comme références (STUART 1987). Les différences entre les paramètres des patients et des témoins ont été étudiées par analyse de variance (ANOVA F test). Le coefficient de Spearman Rank a été utilisé pour estimer le degré d'association qu'il pouvait y avoir entre deux variables. Le groupe des patients a été séparé en deux sous-groupes en fonction du taux d'excrétion d'acide éthylmalonique. Le seuil retenu pour constituer les deux sous-groupes a été la valeur moyenne \pm 2 déviations standards du groupe témoin. Groupe EMA + : excréteur d'acide éthylmalonique ($\geq 20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ créatinine) et groupe EMA - : non excréteur d'acide éthylmalonique ($\leq 20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ créatinine).

5.6.3. Étude riboflavine et MPE

Tous les résultats sont exprimés en moyenne \pm déviation standard. Les données anthropométriques des patients et des témoins sont exprimées en pourcentage des valeurs normales pour l'âge et le sexe, les valeurs du National Center for Health Statistics (NCHS) sont utilisées comme références (STUART 1987). Les différences entre les paramètres des patients et des témoins ont été étudiées par analyse de variance (ANOVA F test). La comparaison a été faite en fonction de trois critères : comparaison entre les enfants malnutris et témoins ; comparaison entre les enfants malnutris du Bénin et ceux du Togo ; enfin comparaison entre les groupes d'enfants atteints de kwashiorkor et de marasme. Le coefficient de Spearman Rank a été utilisé pour estimer le degré d'association qu'il pouvait y avoir entre deux variables ; ont ainsi été étudiées les relations entre la Rf, la FMN et la FAD, les hormones thyroïdiennes et les acides organiques.

5.6.4. Étude des lipides dans la MPE

L'analyse statistique a comporté plusieurs étapes. Tout d'abord les malades ont été comparés aux témoins par analyse de variance pour chaque paramètre de l'étude. Puis, à l'intérieur du groupe des malades, la population a été séparée en deux en fonction de différents paramètres : sexe, âge et en fonction de différents critères biologiques : facteurs nutritionnels ou inflammatoires. Nous avons choisi de séparer cette population en deux sous-groupes équivalents en nombre ; pour cela, les sous-groupes ont été réalisés à partir de la médiane de répartition de chaque paramètre étudié. Nous avons donc étudié l'influence de ces paramètres sur le bilan lipidique par analyse de variance simple. Lorsque deux paramètres faisaient varier le bilan lipidique de la même façon, nous avons pratiqué une analyse de variance multiple pour tenter de déterminer l'influence prépondérante de tel ou tel paramètre, et cela d'autant plus que les facteurs nutritionnels et inflammatoires sont étroitement liés par une corrélation négative. Nous avons également étudié les corrélations qu'il pouvait y avoir entre chaque paramètre du bilan lipidique et les autres paramètres de ce bilan lipidique, ainsi qu'entre chaque paramètre nutritionnel ou inflammatoire et tous les éléments du bilan lipidique (SNEDECOR 1980).

5.6.5. Étude sur les lipides dans l'anorexie mentale

Les différences entre les paramètres des patients et des témoins ont été étudiées par analyse de variance (ANOVA F test). La comparaison entre les valeurs des témoins à J0, J10 et J30 a été réalisée par analyse de variance répétée. Le test de Wilcoxon a été utilisé pour comparer les valeurs des patients entre J0 et J30. Le coefficient de Spearman Rank a été utilisé pour estimer le rapport qu'il pouvait y avoir entre deux variables.

RÉSULTATS

6. Résultats des études

6.1. Étude cobalamine et MPE du Nord Mauritanien

6.1.1. Anthropométrie

Nous avons étudié 39 enfants âgés de 9 à 42 mois à l'hôpital de Nouadhibou dans le Nord Mauritanien et 18 témoins à l'hôpital d'enfants de Nancy en France.

Les données anthropométriques sont résumées dans le Tableau n° 13.

Tableau n° 13 : Anthropométrie des patients et des témoins

| | Poids % | Taille % | PC % | PB % | BMI | PB/PC |
|----------|------------|------------|------------|-----------|--------------|-------------|
| Patients | 57 ± 7,3 | 89 ± 4,5 | 92 ± 2,6 | 71 ± 7 | 12 ± 1,2 | 0,25 ± 0,02 |
| Témoins | 99 ± 9,7 † | 98 ± 4,9 † | 99 ± 2,5 † | 100 ± 8 † | 17,5 ± 2,4 † | 0,33 ± 0,02 |

† : p < 0,0001 (test t non apparié)

Le poids, la taille, le périmètre brachial et le périmètre crânien sont exprimés en % de la norme pour l'âge.

Le BMI ou Poids/Taille² est exprimé en Kg/m². Tous ces paramètres ainsi que les rapports Poids/Taille² et PB/PC sont significativement inférieurs chez les patients par rapport aux témoins avec p < 0,0001.

Nous pouvons classer ces enfants malnutris selon les critères de WELLCOME (Anonyme 1970) comme une population essentiellement marastique : 35 marasmes et 4 kwashiorkor-marasmes.

6.1.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

Les résultats du bilan protéique sont résumés dans le Tableau n° 14.

Ce bilan comprend les protéines nutritionnelles (albumine (Alb) et transthyréline (TTR)) et les protéines inflammatoires (C Réactive protéine (CRP) et orosomucoïde (Oro)).

Tableau n° 14 : Protéines nutritionnelles et inflammatoires chez les patients et les témoins

| | Albumine | Transthyréline | C Réactive Prot | Orosomucoïde |
|----------|------------|----------------|-----------------|--------------|
| Patients | 36,7 ± 8,8 | 0,09 ± 0,05 | 42,4 ± 54,6 | 2,7 ± 1,1 |
| Témoins | 46 ± 4,5 ‡ | 0,18 ± 0,02 ‡ | 2,2 ± 0,2 † | 0,8 ± 0,1 ‡ |

† : p < 0,003, ‡ : p < 0,0001 (test t non apparié).

L'Alb et l'Oro sont exprimés en g/L, alors que la TTR et la CRP sont exprimés en mg/L.

On observe un déficit global et très significatif des protéines nutritionnelles (Alb et TTR) ; par contre, les protéines inflammatoires sont augmentées chez les patients par rapport aux témoins. La CRP est très dispersée chez les patients, ce qui explique que la différence est un peu moins significative que pour les autres protéines.

INGENBLEEK (1985a) a utilisé, pour obtenir un index pronostic, le produit Albumine x Transthyrétine (g/l x mg/l) comme index nutritionnel (I Nutr) et CRP x Orosio (mg/l x g/l) comme index inflammatoire (I Infl). Nous avons étudié ces deux index et avons obtenu une potentialisation des résultats ci-dessus, à savoir :

I Nutr : $3,6 \pm 2,3$ (P) vs $8,2 \pm 1,5$ (T) avec $p < 0,0001$.

I Infl : 154 ± 251 (P) vs $1,87 \pm 0,8$ (T) avec $p < 0,01$.

Analyse par le test t non apparié. P : patients ; T : témoins.

6.1.3. Les acides aminés plasmatiques

Tout d'abord il faut noter que nous avons dû éliminer la taurine des résultats. Elle présente des variations très importantes dans chaque population, et un même échantillon peut donner des valeurs très différentes alors que l'analyse simultanée des autres acides aminés reste constante. Le tryptophane manque également dans les résultats car il ne peut être valablement analysé avec la technique utilisée. Les concentrations de chaque acide aminé sont résumées dans le Tableau n°15 qui comprend les patients et les témoins, et trois sous-groupes individualisés chez les patients en fonction des valeurs de B 12 plasmatique :

Groupe I : B 12 plasmatique < 200 pg/ml ;

Groupe II : $200 < B 12 < 600$ pg/ml ;

Groupe III : B 12 plasmatique > 600 pg/ml

*200 à 600 pg/ml sont les limites des valeurs normales du laboratoire dans lequel ont été effectués les dosages.

Tableau n° 15 : Acides aminés plasmatiques chez les patients et les témoins et en fonction des valeurs de vitamine B12 chez les témoins

| Acides aminés $\mu\text{mol/L}$ | Témoins | | Patients | | |
|------------------------------------|-------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| | n = 18 | Groupe entier n = 39 | B12 basse n = 11 | B12 normale n = 21 | B12 élevée n = 7 |
| Ac Aspartique | 12 ± 4 | 24 ± 24 * | 23 ± 7 | 29 ± 31 | 12 ± 9 |
| Thréonine | 88 ± 30 | 109 ± 76 | 96 ± 41 | 120 ± 95 | 91 ± 53 |
| Sérine | 107 ± 37 | 136 ± 67 * | 154 ± 39 | 139 ± 77 | 99 ± 62 |
| Asparagine | 38 ± 75 | 71 ± 40 * | 71 ± 30 | 75 ± 44 | 62 ± 49 |
| Ac Glutamique | 34 ± 21 | 136 ± 85 ‡ | 131 ± 76 | 121 ± 67 | 190 ± 129 |
| Glutamine | 376 ± 151 | 384 ± 178 | 414 ± 116 | 377 ± 213 | 358 ± 158 |
| Proline | 96 ± 35 | 243 ± 147 ‡ | 235 ± 95 | 270 ± 174 | 173 ± 112 |
| Glycine | 146 ± 55 | 210 ± 117 * | 193 ± 68 | 199 ± 125 | 268 ± 149 |
| Alanine | 205 ± 81 | 269 ± 161 | 275 ± 143 | 270 ± 172 | 254 ± 179 |
| Valine | 168 ± 43 | 143 ± 84 | 134 ± 48 | 160 ± 100 | 99 ± 57 |
| Méthionine | 16 ± 7 | 19 ± 11 | 18 ± 4 | 18 ± 10 | 22 ± 20 |
| Isoleucine | 47 ± 17 | 49 ± 30 | 43 ± 15 | 56 ± 36 | 35 ± 22 |
| Leucine | 87 ± 23 | 82 ± 56 | 72 ± 28 | 92 ± 67 | 63 ± 51 |
| Tyrosine | 49 ± 16 | 82 ± 41 † | 86 ± 44 | 84 ± 41 | 62 ± 37 |
| Phénylalanine | 39 ± 12 | 79 ± 49 † | 76 ± 50 | 86 ± 53 | 61 ± 33 |
| Ornithine | 33 ± 11 | 34 ± 17 | 36 ± 14 | 32 ± 17 | 32 ± 24 |
| Lysine | 91 ± 29 | 117 ± 52 * | 123 ± 29 | 114 ± 55 | 118 ± 75 |
| Histidine | 54 ± 15 | 70 ± 29 * | 62 ± 15 | 73 ± 28 | 76 ± 50 |
| Arginine | 30 ± 18 | 39 ± 23 | 39 ± 20 | 42 ± 24 | 34 ± 26 |
| V + I + L | 303 ± 80 | 274 ± 167 | 250 ± 85 | 311 ± 201 | 198 ± 129 |
| G/V + I + L | 0,48 ± 0,14 | 1 ± 0,7 * | 0,9 ± 0,6 § | 0,8 ± 0,6 § | 1,7 ± 1 |
| AA NE/AA E | 0,37 ± 0,1 | 2,3 ± 0,9 ‡ | 2,38 ± 0,9 § | 1,95 ± 0,8 § | 3,1 ± 0,9 |

V : Valine ; I : Isoleucine ; L : Leucine ; G : Glycine ; AA NE : Acides aminés non essentiels ;
AA E : Acides aminés essentiels.

* : $p < 0,05$, † : $p < 0,01$, ‡ : $p < 0,001$. Analyse faite entre les patients et les témoins : test t non apparié.

§ : $p < 0,05$. Analyse faite entre les groupes patients B12 basse et normale et le groupe patients B12 élevée.
Test t non apparié.

Nous avons observé une augmentation significative de certains acides aminés chez les patients par rapport aux témoins : acide aspartique, sérine, acide glutamique, glycine, proline, tyrosine, phénylalanine, lysine, histidine. Lorsque l'on considère les rapports d'acides aminés décrits dans la malnutrition : la somme des AA ramifiés (valine + isoleucine + leucine) n'est pas modifiée, par contre le rapport glycine / valine + isoleucine + leucine,

et le rapport de WHITEHEAD (1964a - 1964b) sont significativement augmentés chez les patients respectivement $p < 0,05$ et $p < 0,001$. Entre les 3 sous-groupes individualisés selon le taux de B12 plasmatique chez les patients, nous n'avons observé aucune différence significative pour les différents acides aminés. Par contre, l'étude des différents rapports d'AA au sein de ces trois sous-groupes montre une aggravation des indices nutritionnels d'acides aminés dans le sous-groupe à B12 plasmatique élevée lorsqu'il est comparé aux sous-groupes à B12 plasmatique normale ou basse.

6.1.4. Les enzymes hépatique : ASAT et ALAT

Les enzymes hépatiques sont dans les valeurs de la normale chez les patients (P) et les témoins (T), néanmoins nous avons observé une très légère augmentation des ALAT dans le groupe patients :

-ALAT : 9 ± 9 mU/ml (P) vs 7 ± 4 mU/ml (T) avec $p < 0,03$; test t non apparié.

-ASAT : 38 ± 31 mU/ml (P) vs 22 ± 7 (T) Non significatif.

6.1.5. La vitamine B12, les transcobalamines et les analogues de la vitamine B12

L'hématocrite et les corrinoïdes sont résumés dans le Tableau n°16. L'hématocrite est diminuée chez les enfants malnutris. Les taux de Cbl plasmatique ne sont pas différents dans les 2 groupes, par contre, on observe une dispersion beaucoup plus importante des taux de B 12 plasmatique chez les patients : extrêmes : 75-2250 pgr/ml (P) ; 250-540 pgr/ml (T). Enfin, nous observons une augmentation très importante des analogues de la B12 chez les patients (Tableau n° 16).

Tableau n° 16 : Hématocrite et corrinoïdes sériques chez les patients et les témoins

| | Ht | B12 Ser | Cor R | Cob FI | Analogues |
|----------|-------------------------|---------------|----------------------|---------------|-----------------------|
| Patients | $27,6 \pm 6,7$ | 420 ± 413 | 1143 ± 849 | 492 ± 609 | 652 ± 261 |
| Témoins | $36,5 \pm 3,8 \ddagger$ | 411 ± 120 | $496 \pm 75 \dagger$ | 319 ± 73 | $177 \pm 46 \ddagger$ |

\dagger : $p < 0,01$, \ddagger : $p < 0,001$; test t non apparié

Patients : $n = 39$, Témoins : $n = 18$.

Ht : Hématocrite en % ; B12 Ser : B12 sérique en pg/ml ; Cor R : Corrinoïdes totaux liés aux protéines R en pg/ml ; Cob FI : Cobalamine liée au facteur intrinsèque en pgr/ml ; Analogues : Analogues de la B12 en pg/ml (Corrinoïdes totaux -Cobalamine).

Les résultats des transcobalamines sont résumés dans les Tableaux n°17 et 18.

Tableau n° 17 : Transcobalamine II (TC II) chez les patients et les témoins

| | TC II totale | TC II sat | TC II insat | Coeff sat TC II | % TC II sat/ TC sat tot | % TC II insat/ TC insat tot |
|----------|--------------|-----------|--------------|--------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Patients | 1740 ± 698 | 215 ± 168 | 1524 ± 684 | 15,3 ± 15 | 56 ± 22 | 61 ± 8 |
| Témoins | 1323 ± 302 † | 230 ± 48 | 1093 ± 287 † | 18 ± 5 | 59 ± 16 | 74,7 ± 14 ‡ |

† : p < 0,05 ; ‡ : p < 0,001. Test t non apparié.

TC II : transcobalamine II ; sat : saturée ; insat : insaturée ; tot : totale ; Coeff : coefficient.

Les valeurs de TC II totale, saturée et insaturée sont exprimées en pg/ml.

La TC II totale est supérieure chez les patients par rapport aux témoins, cela est dû à une augmentation de la TC II insaturée. Il n'a pas de différence entre les patients et les témoins pour la TC II saturée. Nous avons également étudié le coefficient de saturation de la TC II : TC II saturée / TC II totale (saturée + insaturée) , ce rapport serait selon HERZLICH (1988), un marqueur le plus fiable et le plus précoce du déficit en vitamine B 12. Il n'y a pas de différence du CS TC II entre les patients et les témoins.

Les résultats des TC I et III ou haptocorrines sont résumés dans le Tableau n°18. Les TC I et III saturées sont identiques chez les patients et les témoins. Par contre les TC I et TC III insaturées sont également supérieures chez les patients (Figure n° 13).

Tableau n° 18 : Transcobalamines I et III (TC I + III) chez les patients et les témoins

| | TC I + III tot | TC I + III sat | Coeff sat TC I + III | TC insat tot I + II + III | TC I + III insat |
|----------|----------------|----------------|-------------------------|------------------------------|------------------|
| Patients | 1255 ± 830 | 271 ± 333 | 20 ± 20 | 2538 ± 1387 | 984 ± 701 |
| Témoins | 764 ± 1226 | 181 ± 98 | 34 ± 18 † | 1676 ± 1360 † | 583 ± 1227 |

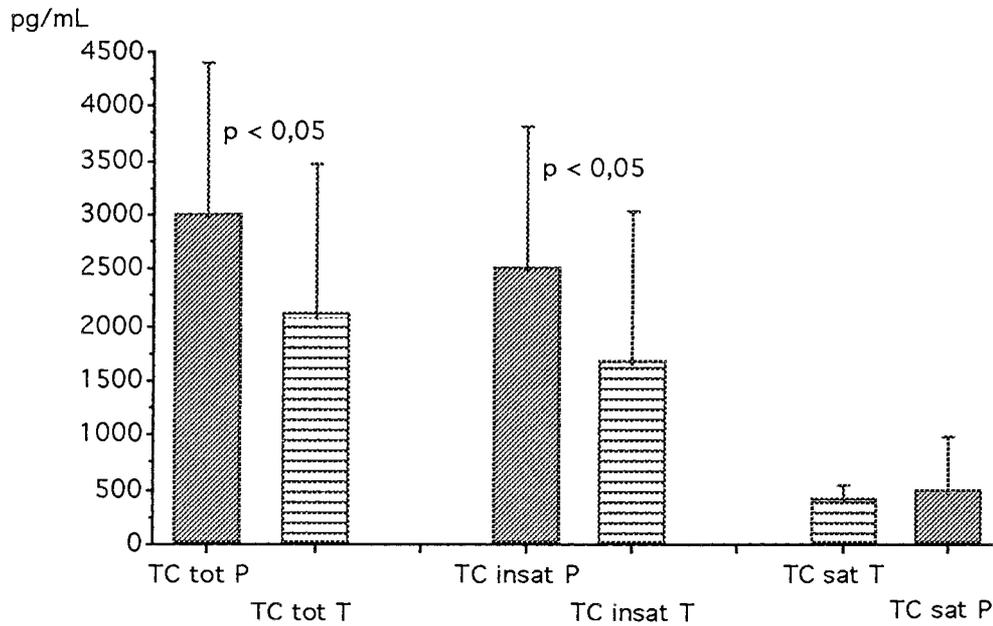
| | TC I insat | TC III insat | % TC I + III insat /TC insat tot | % TC I insat/ TC insat tot | % TC III insat/ TC insat tot |
|----------|--------------|--------------|-------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Patients | 849 ± 649 | 135 ± 66 | 38 ± 8 | 32,3 ± 8,31 | 6,1 ± 3 |
| Témoins | 518 ± 1144 † | 64 ± 84 † | 25 ± 14 ‡ | 21,6 ± 13,4 ‡ | 3,7 ± 1,2 ‡ |

† : p < 0,05 ; ‡ : p < 0,001. t test non apparié entre les patients et les témoins.

TC II : transcobalamine II ; sat : saturée ; insat : insaturée ; tot : totale ; Coeff : coefficient.

Les transcobalamine I et III totales, saturées ou insaturées sont exprimées en pg/ml.

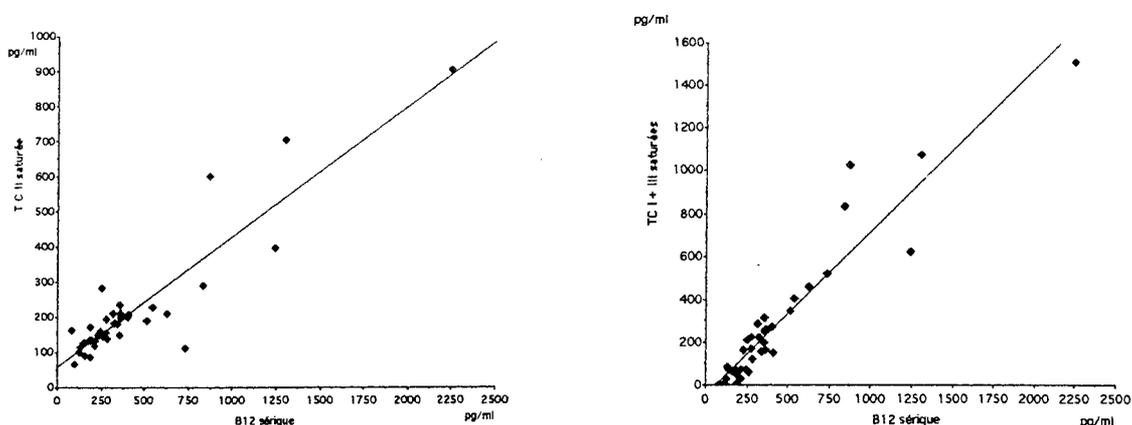
Figure n°13 : Transcobalamines totales, insaturées et saturées chez les patients et les témoins



TC : transcobalamine ; P : Patients ; T : Témoins ; Tot : totales, sat : saturées, insat : insaturées.
Les différences entre les patients et les témoins sont mesurées par le test t non apparié.

Les taux de transcobalamines saturées sont directement liés aux taux de B 12 plasmatique comme le montrent les corrélations positives entre les TCI + III saturées et TC II saturées et les taux plasmatiques de B12.

Figure n°14 : Corrélation entre la B12 sérique et la TC II saturée et entre la B12 sérique et les TC I + III saturées



La B12 sérique et les transcobalamines sont exprimées en pg/ml.
 Le degré de relation entre les variables est réalisée par analyse de coefficient de régression.
 $r = 0,95$; $p < 0,0001$ et $r = 0,96$; $p < 0,0001$ pour ces deux corrélations respectivement.

Nous avons également étudié la proportion qu'occupait chaque TC insaturée au sein des TC insaturées totales. Nous observons une augmentation très significative du % d'haptocorrine insaturée / TC insaturées totales chez les patients avec $p < 0,0001$ (Tableau n°19) et, par conséquent, une baisse de la proportion de TC II insaturée chez les patients avec $p < 0,0001$ (Tableau n°19). L'augmentation de l'haptocorrine chez les patients n'est pas significative. Par contre, le coefficient de saturation de l'haptocorrine (TC I + III) est abaissé chez les patients alors que le coefficient de saturation de la TC II n'est pas différent entre les deux populations. Au sein de l'haptocorrine, il n'y a pas de différence pour la TC I ; par contre la TC III est significativement augmentée chez les patients : 135 ± 66 pg B12/ml (P) vs 64 ± 84 pg B12/ml (T) , $p < 0,001$.

6.1.6. Analyse du statut en Cbl au sein du groupe des malnutris selon les paramètres nutritionnels et inflammatoires

Nous avons scindé le groupe de malnutris en deux sous-groupes en fonction de la médiane de chacun des paramètres suivants :

- les ALAT et les ASAT
- Albumine x TTR (Index nutritionnel [I Nutr])
- CRP x Orosio (Index inflammatoire [I Inf])
- le sevrage, le groupe I comprenant les enfants non sevrés ou sevrés depuis moins d'un mois, et le groupe II comprenant les enfants sevrés depuis plus d'un mois.

Nous n'avons observé aucune différence significative dans les éléments du bilan vitamine B12 en fonction des ASAT. Par contre, les taux de B 12 plasmatique ont été trouvés significativement plus élevés ($p < 0,03$) dans le groupe ALAT élevés : 723 ± 665 pgr/ml (ALAT > 9 mU/ml) vs 320 ± 217 pgr/ml (ALAT < 9 mU/ml). Le reste du bilan ne montrait pas de différence en fonction du taux d'ALAT, en particulier nous n'avons pas pu mettre en évidence de corrélation entre le taux d'ALAT et les paramètres du statut en cobalamine. En fonction des index nutritionnel et inflammatoire et du sevrage, on observe une augmentation significative du taux de B 12 plasmatique

lorsque l'index nutritionnel est plus bas (< 3), lorsque l'index inflammatoire est plus élevé (> 30) ou lorsque le sevrage est plus lointain (Tableau n°19). Au sein des transcobalamines insaturées, nous observons une baisse du % de TC II insaturée et une augmentation du % d'haptocorrine insaturée quand l'I Nutr est bas, quand l'I Inf est élevé ou lorsque le sevrage est plus lointain (Tableau n°19). Par contre nous n'avons observé aucune différence avec les autres paramètres du bilan vitamine B12 en fonction de ces trois paramètres, en particulier les analogues de la B12 ne sont pas différents dans les 2 sous-groupes quelque soit le paramètre étudié.

Tableau n° 19 : Statut en cobalamine, en analogues et en transcobalamines insaturées en fonction de l'état nutritionnel, inflammatoire et du sevrage

| | B12 pg/ml | CS TC II % | Analogues pg/ml | TC insat tot pg/ml | TC II insat % | TC I insat % | TC III insat % |
|-------------|--------------|---------------|--------------------|-----------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| I Inf < 30 | 288 ± 167 | 9,3 ± 3,3 | 601 ± 101 | 2458 ± 629 | 66,3 ± 4,6 | 27,7 ± 4,8 | 6 ± 1,3 |
| I Inf > 30 | 623 ± 592 † | 19,5 ± 17 † | 686 ± 327 | 2593 ± 1745 | 57,7 ± 8,3 ‡ | 35,4 ± 8,5 ‡ | 6,2 ± 3,8 |
| I Nutr > 30 | 261 ± 115 | 13 ± 13 | 670 ± 340 | 2295 ± 988 | 64 ± 6,4 | 28,8 ± 5,8 | 6,6 ± 3 |
| I Nutr < 30 | 571 ± 527 † | 17 ± 16 | 634 ± 160 | 2768 ± 1675 | 58,1 ± 8,6 ‡ | 35,5 ± 8,8 ‡ | 5,7 ± 3,1 |
| Non sevrés | 285 ± 196 | 13,2 ± 15 | 687 ± 344 | 2675 ± 1842 | 63 ± 8 | 29,2 ± 6 | 6,9 ± 3,9 |
| Sevrés | 548 ± 518 † | 17,3 ± 13 | 617 ± 146 | 2407 ± 772 | 59 ± 8 | 35 ± 9 † | 5,4 ± 1,6 |

† : p < 0,05, ‡ : p < 0,01

CS TC II : Coefficient de saturation de la TC II ; TC insat totales : Transcobalamines insaturées totales ;

I Nutr : Index nutritionnel (Albumine x Transthyrétine) ; I Inf : Index inflammatoire (CRP x Orosomucoïde).

Le % TC i insat (i = I, II ou III) représente le rapport TC I insaturée/TC I totales.

On observe un taux de B12 plus élevé dans le groupe à index nutritionnel bas, dans le groupe à index inflammatoire plus élevé et chez les patients sevrés. Il n'y a pas de différences pour les analogues de la B12 en fonction de ces différents sous-groupes. On trouve des % de TC I et TC II insaturées moins important dans les groupes nutritionnel bas et inflammatoire élevé, ce qui est logique car c'est dans ces groupes que la B12 est la plus élevée.

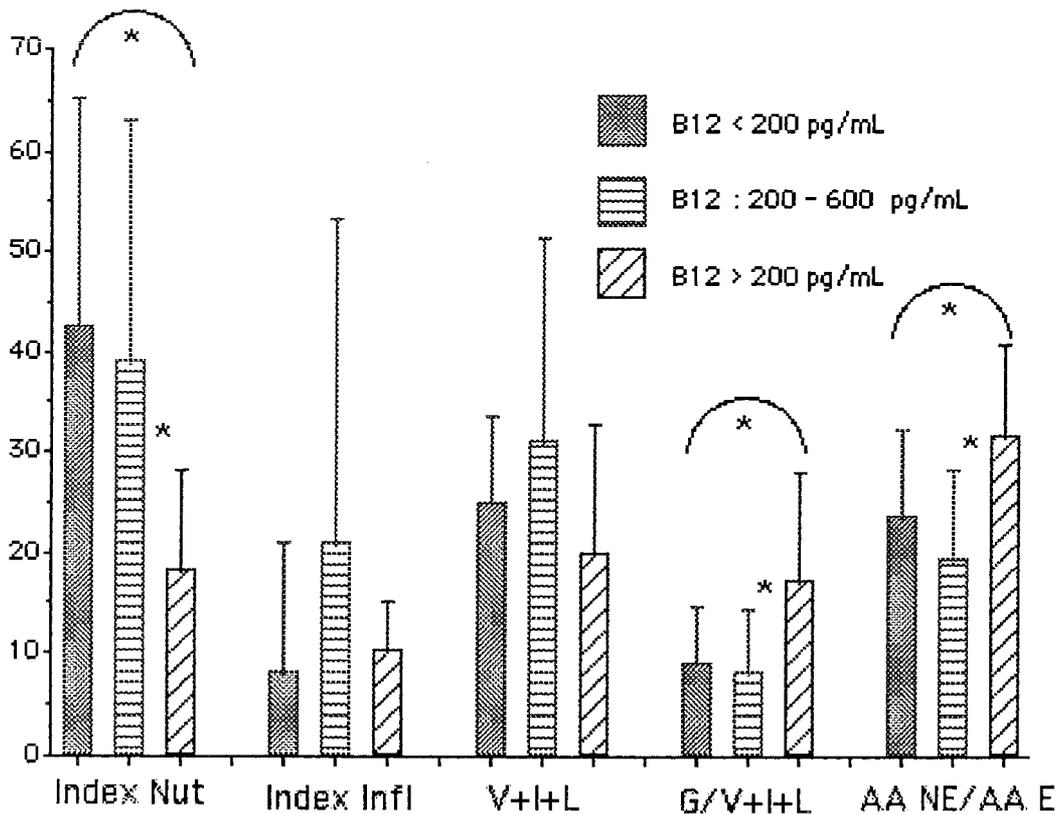
6.1.6. Analyse des index nutritionnel et inflammatoire en fonction de taux de B12 dans le groupe patient.

Nous avons séparé les patients en trois groupes en fonction du taux de B12, en prenant en compte des limites inférieures et supérieures de notre laboratoire : < 200 pg/ml (n = 11) ; 200 – 600 pg/ml (n = 21) et > 600 pg/ml (n = 7). Nous avons étudié les marqueurs nutritionnels et inflammatoires dans ces trois groupes (Figure n°15). Paradoxalement, nous avons observé une augmentation des rapports d'acides aminés (G/V+I+L et AA non essentiels/AA essentiels) et une baisse significative de l'index nutritionnel dans le groupe à B12 élevée.

Ces résultats sont en faveur d'un état nutritionnel plus grave dans le groupe B12 élevée. Nous n'avons pas observé de différence de l'index inflammatoire en fonction des taux de B12. Pour les 3 sous-groupes réalisés en fonction du taux de B12 plasmatique à l'intérieur du groupe de patients, nous n'avons observé aucune différence significative pour aucun acide aminé. Par contre, la réalisation des rapports d'AA au sein de ses trois sous-groupes met en évidence une différence significative allant dans le sens de l'aggravation particulièrement dans le sous-groupe à B12 plasmatique élevée par rapport au sous-groupe à B12 plasmatique normale (Figure n° 15).

Figure n° 15 :

Index nutritionnel et inflammatoire dans le groupe patients en fonction du taux de B12



Index Nut : Albumine x Transthyréline

Index Infl : CRP x Orosomucoïde

V+I+L : Valine + Isoleucine + Leucine

G/V+I+L : Glycine / Valine + Isoleucine + Leucine

AA NE/AA E : Acides aminés non essentiels / Acides aminés essentiels

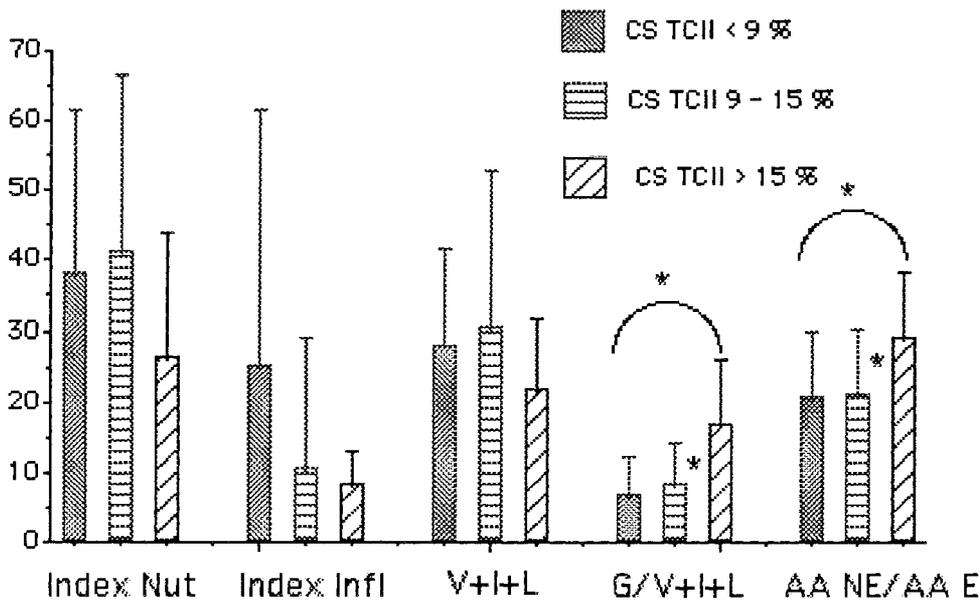
$p < 0,05$; soit entre les groupes B12 < 200 pg/ml et > 600 pg/ml,

soit entre les groupes 200-600 pg/ml et > 600 pg/ml

6.1.7. Analyse des index nutritionnels et inflammatoires en fonction du taux de coefficient de saturation de la TC II (CS TC II)

Nous avons réalisé 3 sous-groupes en fonction de ce CS TC II : groupe I : < 9 % (n = 14) ; groupe II : 9 < CS TC II < 15 % (n = 15) ; groupe III : > 15 % (n = 10). Puis nous avons étudié dans les 3 sous-groupes faits à partir de ces deux paramètres (B12 plasmatique et CS TC II) les index nutritionnels et inflammatoires ainsi que les rapports d'AA. Nous observons une aggravation significative des index nutritionnels et inflammatoires lorsque l'on se situe dans les groupes de B12 plasmatique élevés ou lorsque le CS TC II est > 15 % (Fig.n° 16).

Figure n° 16 : Index nutritionnels et inflammatoires dans le groupe patients en fonction du taux de coefficient de saturation de la transcobalamine II.



Afin de mettre tous ces paramètres sur une seule figure, nous avons multiplié l'I Nut, et les rapports d'acides aminés par 10 et nous avons divisé l'I Infl et la somme des acides aminés ramifiés par 10.

Index Nut : Albumine x Transthyrétine, Index Infl : CRP x Orosomucoïde

V+I+L : Valine + Isoleucine + Leucine, G/V+I+L : Glycine / Valine + Isoleucine + Leucine

AA NE/AA E : Acides aminés non essentiels / Acides aminés essentiels

p < 0,05 ; soit entre les groupes CS TC II < 9 % et > 15 %, soit entre les groupes 9 - 15 % et > 15 %.

6.2. Etude Acides organiques dans la MPE de l'enfant

Cette étude a été menée chez 38 des 39 enfants malnutris décrits dans l'étude sur le statut en cobalamine exposée précédemment. Nous avons étudié parallèlement une population témoins de 12 enfants étudiés à Nancy.

6.2.1. L'anthropométrie

L'anthropométrie des patients et des témoins est résumée dans le tableau ci-dessous.

Tableau n° 20 : Anthropométrie des patients et des témoins

| | Témoins n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA- n = 28 |
|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|----------------|
| Age (mois) | 19.7 ± 6.6 | 19.9 ± 6.5 | 20.8 ± 6.7 | 17.5 ± 5.6 |
| Sexe | 7 G / 5 F | 23 G / 15 F | 5 G / 5 F | 18 G / 10 F |
| Poids (kg) | 11.2 ± 1.1 | 6.6 ± 0.9 † | 6.8 ± 1.1 | 6.6 ± 0.9 |
| Poids (%) | 100 ± 12 | 57 ± 7 † | 56 ± 8 | 61 ± 5 |
| Taille (cm) | 80.3 ± 5.9 | 74.1 ± 4.3 † | 73.3 ± 4.7 | 74.5 ± 4.2 |
| Taille (%) | 98 ± 5 | 89 ± 5 † | 89 ± 5 | 91 ± 3 |
| BMI | 17.5 ± 2.3 | 12.1 ± 1.1 † | 12.6 ± 1.2 | 11.8 ± 1.1 |

Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

Le groupe EMA + représente les enfants malnutris avec une excrétion urinaire élevée d'acide éthylmalonique et le groupe EMA - représente le groupe de patients avec une excrétion urinaire d'acide éthylmalonique basse.

G: Garçons, F: Filles

Le poids et la taille sont exprimés en kg et en cm et ils sont aussi exprimés en pourcentage de la norme rapporté à l'âge et au sexe (STUART 1987).

BMI : body mass index (Kg/m²). EMA: Acide éthylmalonique.

† Différence significative par rapport aux témoins, $P < 0.001$ (ANOVA, F test).

Les patients présentent une malnutrition marastique typique avec en particulier un poids à $57 \pm 7 \%$ et une taille à $89 \pm 5\%$ de la norme pour l'âge. Le poids, la taille et le BMI sont identiques dans les deux groupes EMA+ et EMA-.

6.2.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

Les résultats du bilan protéique sont résumés dans le Tableau n°21.

Ce bilan comprend les protéines nutritionnelles (albumine (ALB) et transthyrétine (TTR)) et les protéines inflammatoires (C Réactive protéine (CRP) et orosomucoïde (ORO)).

Tableau n° 21 : Protéines nutritionnelles et inflammatoires chez les patients et les témoins

| | Témoins n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA - n = 28 |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|------------------------|------------------------|
| Alb (gr/L) | 46.2 ± 5.6 | 36.9 ± 8.8 † | 39.2 ± 6.2 | 36 ± 9.6 |
| TTR (mg/L) | 0.18 ± 0.03 | 0.09 ± 0.05 † | 0.10 ± 0.06 | 0.08 ± 0.04 |
| I Nutr | 8.3 ± 1.8 | 3.6 ± 2.3 † | 3.9 ± 2.6 | 3.5 ± 2.3 |
| CRP (mg/L) | 2.3 ± 0.2 | 43.5 ± 55 † | 61 ± 68.2 | 37.3 ± 49.4 |
| Oro (gr/L) | 0.8 ± 0.2 | 2.7 ± 1.1 † | 2.5 ± 1.3 | 2.8 ± 1.1 |

Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

Le groupe EMA + représente les patients avec une excrétion urinaire élevée d'acide éthylmalonique et le groupe EMA - représente le groupe de patients avec une excrétion urinaire d'acide éthylmalonique basse.

Alb : Albumine, TTR : Transthyréline, CRP : C réactive protéine, Oro : Orosomucoïde,

I Nutr : Index nutritionnel protéique (Alb x TTR).

† Différence significative par rapport aux témoins, $P < 0.001$ (ANOVA, F test).

On observe une baisse très significative des protéines nutritionnelles (Alb et TTR) chez les patients par rapport aux témoins. Par contre, les protéines inflammatoires sont augmentées. La CRP est très dispersée chez les patients, ce qui explique que la différence est un peu moins significative que pour les autres protéines. INGENBLEEK (1985a) a utilisé, pour obtenir un index pronostic, le produit Albumine x Transthyréline (gr/l x mgr/l) comme index nutritionnel (I Nutr). Nous n'avons pas retrouvé de différence entre les groupes EMA + et EMA - en fonction des paramètres protéiques nutritionnels ou inflammatoires.

6.2.3. Les acides aminés plasmatiques

Les résultats des acides aminés plasmatiques sont résumés dans le Tableau n° 22.

Quelques acides aminés comme la taurine, la proline, l'acide glutamique, la phénylalanine et la tyrosine ont des valeurs supérieures chez les patients par rapport aux témoins. A l'exception de la phénylalanine, il n'y a pas de différence dans les acides aminés essentiels entre les patients et les témoins. Une corrélation positive a été observée entre de nombreux acides aminés essentiels et l'index nutritionnel (Alb x TTR) : Thréonine [Thre; $r=0.41$, $P<0.02$], Valine [Val; $r=0.50$, $P<0.01$], Leucine [Leu; $r=0.45$, $P<0.004$], Isoleucine [Ile; $r=0.48$, $P<0.002$] et avec la somme des acides aminés branchés (Leu+Ile+Val; $r=0.5$, $P<0.002$). Les deux rapports Gly/Val + Ile + Leu et Gly + Ala + Sér / Val + Ile + Leu sont significativement plus élevés chez les patients par rapport aux témoins (Tableau n° 22). Nous avons observé une corrélation négative entre l'index nutritionnel et certains rapports d'acides aminés : Phé / Tyr ($r=-0,56$, $P< 0,0001$), Gly / Sér ($r=-0,45$, $P<0,004$) et Gly / Val + Ile + Leu ($r = - 0,39$, $P<0,01$). A l'exception de la tyrosine et de l'ornithine, qui sont abaissées dans le groupe EMA - par rapport au groupe EMA +, aucune autre différence dans la composition en AA plasmatiques n'a été observée entre ces deux groupes d'enfants malnutris. Par contre, si l'on considère les rapports d'acides aminés proposés comme index de la malnutrition, nous avons trouvé des rapports significativement plus bas dans le groupe EMA + par rapport

au groupe EMA- (Gly/Val+Ile+Leu [0.49 ± 0.15 vs 1.18 ± 0.83 ; $P<0.001$], Gly+Ala+Sér/Val+Ile+Leu [1.51 ± 0.42 vs 3.18 ± 1.71 ; $P<0.001$ et le rapport AA non essentiels (AANE) / AA essentiels (AAE) [1.57 ± 0.49 vs 2.37 ± 1.57 ; $P<0.01$]). Ces résultats suggèrent que la malnutrition est plus sévère dans le groupe EMA – que dans le groupe EMA +.

Tableau n° 22 : Acides aminés plasmatiques chez les témoins et les patients et des sous-groupes de ceux-ci selon qu'ils excrètent ou non de l'acide éthylmalonique (EMA). Les acides aminés sont exprimés en $\mu\text{mol/L}$

| | Controls n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA – n = 28 |
|---------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| Taurine | 48 ± 22 | 166 ± 99 ‡ | 179 ± 107 | 162 ± 98 |
| Glutamic acid | 40 ± 22 | 137 ± 86 ‡ | 128 ± 83 | 141 ± 89 |
| Glutamine | 368 ± 170 | 385 ± 181 | 407 ± 203 | 377 ± 175 |
| Proline | 99 ± 36 | 246 ± 148 ‡ | 261 ± 184 | 240 ± 137 |
| Glycine | 146 ± 47 | 211 ± 119 | 163 ± 73 | 228 ± 128 |
| Alanine | 218 ± 82 | 269 ± 164 | 205 ± 109 | 292 ± 175 |
| Valine | 174 ± 38 | 145 ± 84 | 184 ± 109 | 131 ± 71 |
| Méthionine | 17 ± 8 | 19 ± 11 | 21 ± 13 | 18 ± 11 |
| Isoleucine | 50 ± 20 | 50 ± 30 | 65 ± 41 | 44 ± 24 |
| Leucine | 91 ± 25 | 83 ± 56 | 110 ± 38 | 73 ± 47 |
| Tyrosine | 55 ± 19 | 84 ± 41 † | 111 ± 38 | 74 ± 38 § |
| Phénylalanine | 41 ± 14 | 80 ± 50 ‡ | 92 ± 49 | 75 ± 50 |
| Ornithine | 35 ± 13 | 33 ± 18 | 43 ± 21 | 30 ± 16 § |
| Gly/Sér | 1.21 ± 0.42 | 1.78 ± 1.08 | 1.32 ± 0.55 | 1.95 ± 1.18 |
| V+L+I | 314 ± 79 | 277 ± 168 | 359 ± 221 | 249 ± 138 |
| G/V+L+I | 0.47 ± 0.14 | 1 ± 0.77 † | 0.49 ± 0.15 | 1.18 ± 0.83 §§ |
| G+A+S/V+I+L | 1.7 ± 0.35 | 2.74 ± 1.65 † | 1.51 ± 0.42 | 3.18 ± 1.71 §§ |
| AANE/AAE | 1.71 ± 0.35 | 2.19 ± 0.93 | 1.57 ± 0.49 | 2.37 ± 1.57 § |

Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

Le groupe EMA + représente les patients avec une excrétion urinaire élevée d'acide éthylmalonique et le groupe EMA – représente le groupe de patients avec une excrétion urinaire d'acide éthylmalonique basse.

EMA: Acide éthylmalonique. Gly/Sér: glycine/sérine, V+I+L: valine + isoleucine + leucine, G/V+I+L: glycine/valine + isoleucine + leucine,

G+A+S/V+I+L: glycine + alanine + sérine/valine + isoleucine + leucine

AANE/AAE: Acides aminés non essentiels/acides aminés essentiels : glycine + alanine + sérine + acide glutamique + glutamine/ valine + isoleucine + leucine + méthionine + phénylalanine + tyrosine.

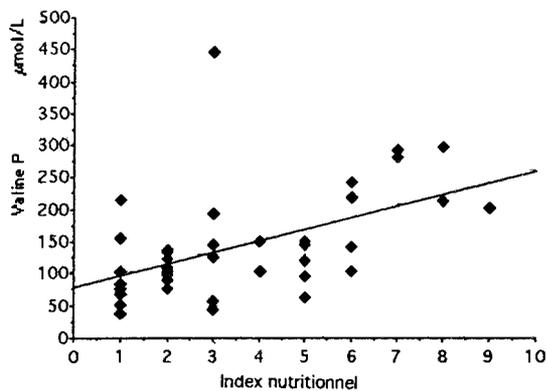
† Différence significative par rapport aux témoins, $P<0.05$ (ANOVA, F-test)

‡ Différence significative par rapport aux témoins, $P<0.001$ (ANOVA, F-test)

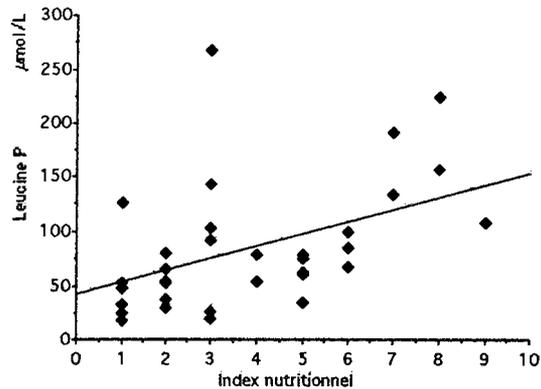
§ Différence significative par rapport au groupe EMA +, $P<0.05$ (ANOVA, F-test).

§§ Différence significative par rapport au groupe EMA +, $P<0.001$ (ANOVA, F-test).

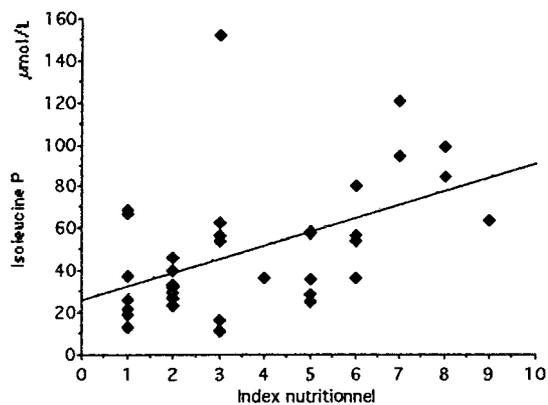
Figure n° 17 : Corrélations entre l'index nutritionnel (Alb x Transt) et la thréonine, la leucine, l'isoleucine, la valine et la somme des acides aminés ramifiés



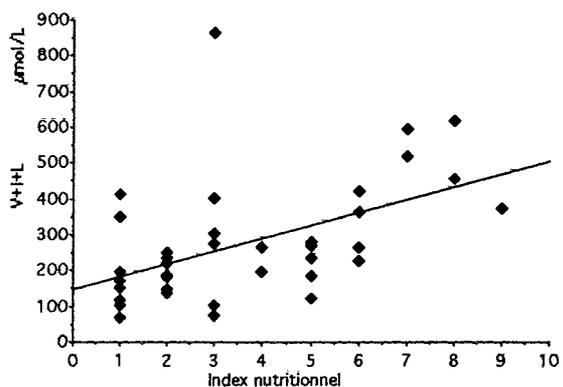
Valine : $r = 0,5$; $p < 0,001$



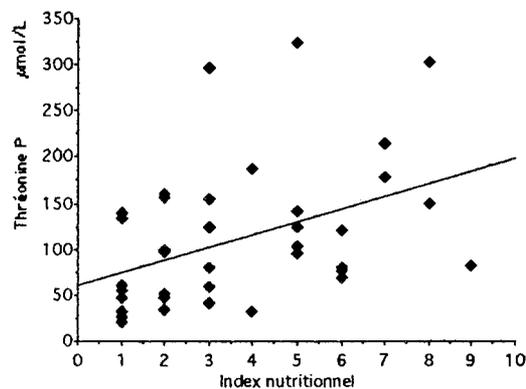
Leucine : $r = 0,45$; $p < 0,004$



Isoleucine : $r = 0,48$; $p < 0,002$



Somme des AA ramifiés : $r = 0,5$; $p < 0,002$



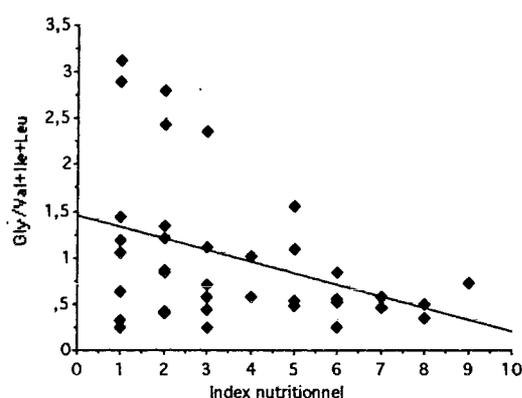
Thréonine : $r = 0,41$; $p < 0,02$

Les acides aminés sont exprimés en $\mu\text{mol/L}$

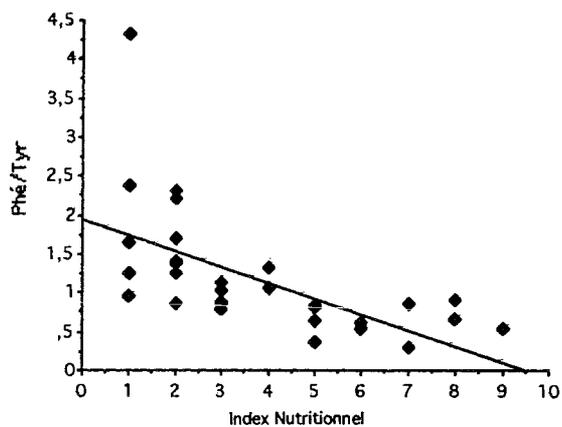
Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Par ailleurs nous avons observé une corrélation négative entre l'index nutritionnel et certains rapports d'acides aminés (Phé/Tyr, Gly/Sér, Gly/Val+Ile+Leu) qui sont plus élevés quand la malnutrition est plus sévère

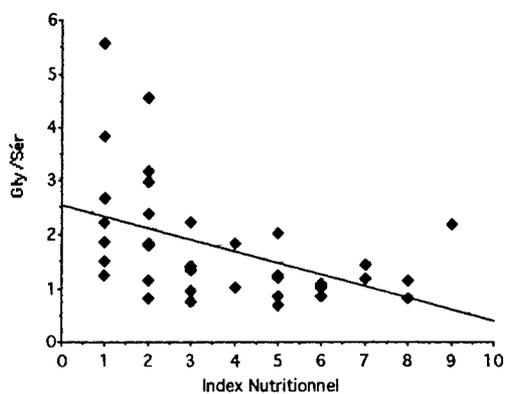
Figure n° 18 : Corrélations entre l'index nutritionnel (Alb x Transt) et les rapports d'acides aminés indicateurs de la sévérité de la malnutrition



Gly/Val+Ile+Leu : $r = -0,39$; $P < 0,01$



Phé/Tyr : $r = -0,56$; $P < 0,004$



Gly/Sér : $r = -0,45$; $P < 0,004$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

6.2.4. Les acides organiques urinaires (AOU)

Les principaux AOU sont résumés dans le Tableau n° 23.

La plupart des acides organiques sont significativement augmentés par rapport aux témoins. Cette augmentation concerne surtout les acides dicarboxyliques (succinique, β -CH₃-succinique, azélaïque, et β -CH₃-adipique). De plus, il y a une augmentation de l'acide lactique et de l'acide β -OH-butyrique chez les patients. Nous avons observé un profil compatible avec un déficit en riboflavine chez 10 patients sur 39. Le profil d'un de ces patients est présenté sur la Figure n° 20. Comme nous avons séparé les enfants malnutris en fonction de leur excrétion d'acide éthylmalonique nous retrouvons une excrétion d'acide dicarboxylique significativement supérieure dans le groupe EMA+ par rapport au groupe EMA-.

Tableau n° 23 : Les acides organiques urinaires chez les patients et les témoins.

| Acide organique | Témoins n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA – n = 28 |
|------------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| Lactique | 20 ± 8 | 152 ± 117 ‡ | 208 ± 157 | 135 ± 98 |
| Pyruvique | 86 ± 63 | 39 ± 24 ‡ | 46 ± 22 | 38 ± 25 |
| β OH Butyrique | 48 ± 25 | 192 ± 152 ‡ | 355 ± 146 | 120 ± 87 § |
| β OH Isovalérique | 85 ± 61 | 84 ± 87 | 134 ± 115 | 62 ± 64 §§ |
| Ethylmalonique | 10 ± 5 | 30 ± 39 | 52 ± 50 | 11 ± 5 § |
| Succinique | 10 ± 4 | 61 ± 70 † | 116 ± 97 | 34 ± 27 § |
| β CH ₃ Succinique | 53 ± 27 | 12 ± 7 † | 15 ± 7 | 8 ± 3 §§ |
| Fumarique | 7 ± 3 | 30 ± 34 | 48 ± 39 | 11 ± 13 §§ |
| Glutarique | 14 ± 16 | 19 ± 10 | 16 ± 10 | 22 ± 11 |
| Adipique | 7 ± 5 | 42 ± 40 † | 69 ± 44 | 29 ± 32 § |
| α ketoglutarique | 38 ± 37 | 123 ± 107 † | 136 ± 110 | 121 ± 116 |
| Subérique | 123 ± 98 | 28 ± 21 ‡ | 43 ± 23 | 20 ± 15 § |
| Azélaïque | 5 ± 2 | 17 ± 16 † | 22 ± 19 | 10 ± 8 |

Les données sont exprimées en moyenne \pm déviation standard ($\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$ de créatinine). Le groupe EMA + représente les patients avec une excrétion urinaire élevée d'acide éthylmalonique et le groupe EMA – représente le groupe de patients avec une excrétion urinaire d'acide éthylmalonique basse.

† Différence significative par rapport aux témoins, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test)

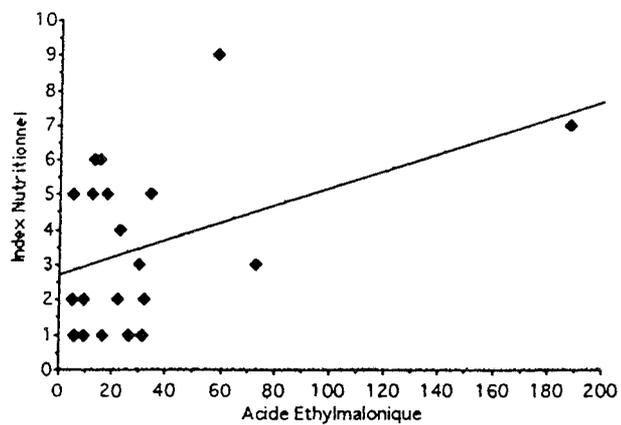
‡ Différence significative par rapport aux témoins, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test)

§ Différence significative par rapport au groupe EMA+, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test)

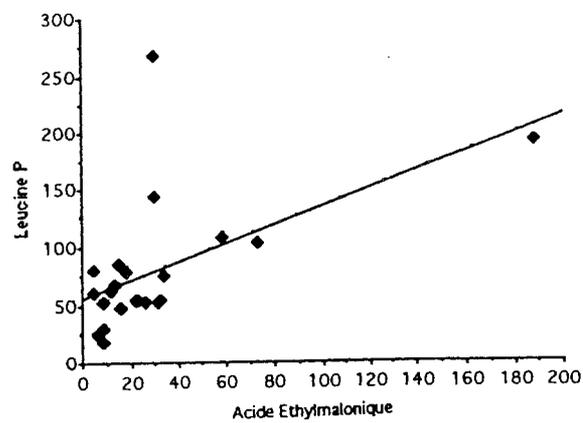
§§ Différence significative par rapport au groupe EMA+, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test).

En prenant la totalité des patients nous avons observé une corrélation positive entre l'excrétion d'acide éthylmalonique et plusieurs marqueurs nutritionnels comme l'index nutritionnel ($r = 0,54$; $P < 0,01$), la leucine ($r = 0,54$; $P < 0,01$) et la somme des acides aminés ramifiés ($r = 0,53$; $P < 0,01$).

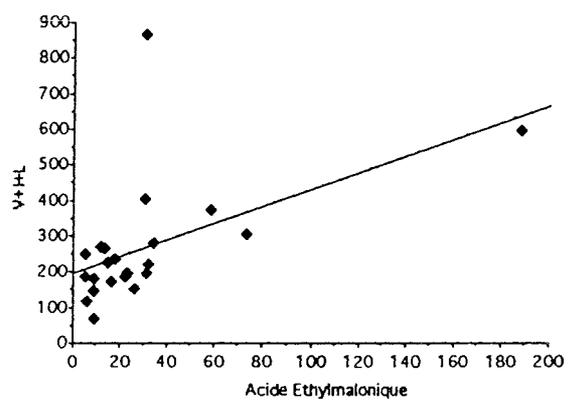
Figure n° 19 : Corrélations entre l'acide éthylmalonique, la leucine, l'index nutritionnel et la somme des acides aminés ramifiés



$r = 0,54 ; p < 0,01$

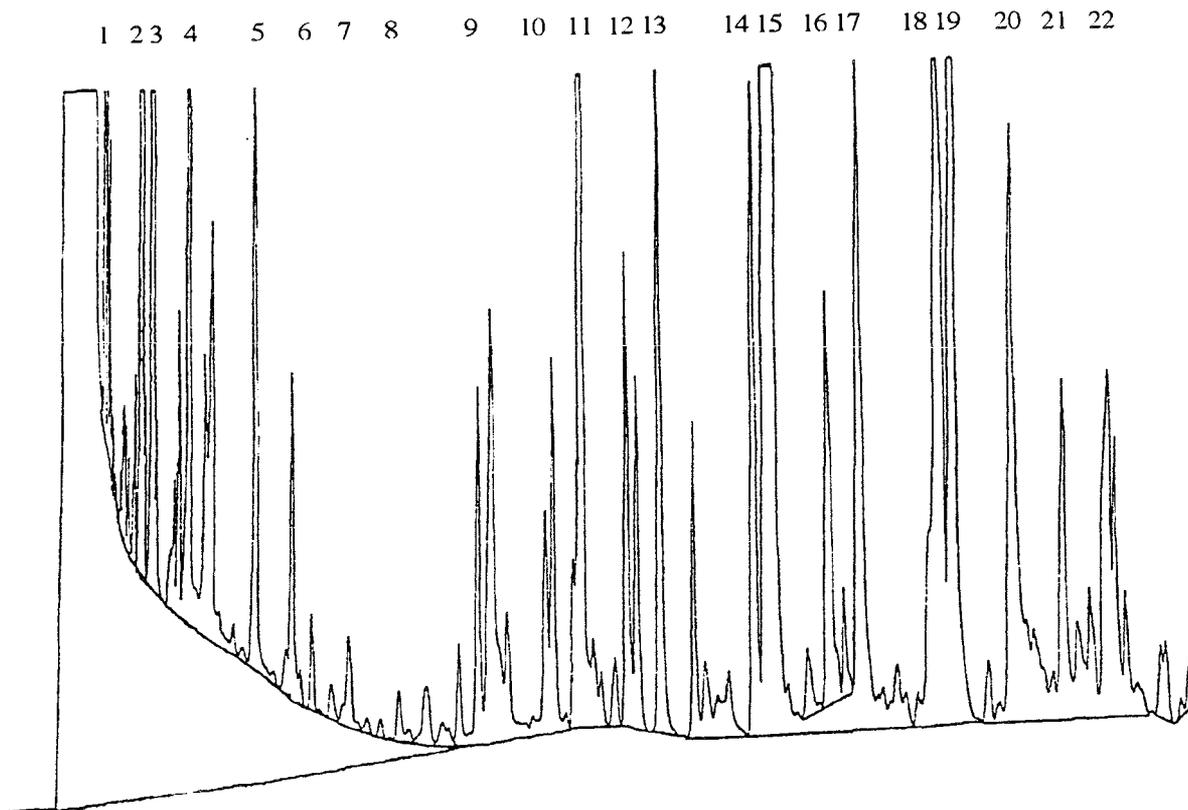


$r = 0,54 ; p < 0,01$



$r = 0,53 ; p < 0,01$

Figure n° 20 : Profil des acides organiques urinaires chez un enfant malnutri



- 1: Acide Lactique; 2: Acide Glyoxylique; 3: Acide β -OH-butyrique; 4: α Acide β -OH-isovalérique;
5: Acide Ethylmalonique ; 6: Acide Succinique ; 7: Acide Fumarique ; 8: Acide Glutarique ;
9: Acide β -CH₃-Glutaconique ; 10: Acide β -CH₃-Glutaconique; 11: Acide Adipique ; 12: Acide β -CH₃-adipique;
13: Etalon interne; 14: Acide β -OH-benzoïque; 15: Acide Para-OH-phenylacétique; 16: Acide Déhydrosubérique;
17: Acide Subérique; 18: Acide Azelaïque ; 19: Acide Cisaconitique + Acide Homovanilique; 20: Acide Hippurique ;
21: Inconnu; 22: Acide Vanillylmandélique

6.3. Résultats de l'étude riboflavine et ses cofacteurs dans la malnutrition protéino-énergétique de l'enfant

6.3.1. Les enquêtes alimentaires

Ces enquêtes ont pour but d'évaluer le type d'aliment ingérés (et leur contenu en riboflavine). Elles sont basées sur les indications données par les parents. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'enfants prenant le type d'aliment. Les résultats sont résumés dans le Tableau n° 24. Nous n'avons pas constaté de différences pour les aliments riches en protéines (lait, viande et poisson) entre les deux groupes du Togo (T) et du Bénin (B). Par contre, les enfants du groupe T ont plus d'aliments riches en riboflavine (maïs et mil) que les enfants du groupe B.

Tableau n° 24 : Pourcentage des enfants prenant les aliments décrits dans les enquêtes alimentaires

| Aliments | Groupe B % | Groupe T % | Contenu en Rf (mg/100g) |
|-----------------|---------------|---------------|----------------------------|
| Lait maternel * | 100 | 100 | 0.03 - 0.04 |
| Lait de vache | 41 | 33 | 0.14 - 0.22 |
| Viande | 41 | 38 | 0.16 - 0.18 |
| Poissons | 59 | 61 | 0.04 - 0.35 |
| Œufs | 6 | 0 | 0.29 - 0.62 |
| Légumes | 65 | 49 | 0.03 - 0.16 |
| Riz | 47 | 42 | 0.01 - 0.03 |
| Maïs | 29 | 63 | 0.11 - 0.17 |
| Mil | 0 | 38 | 0.14 |
| Haricots | 6 | 16 | 0.09 - 0.36 |
| Banane | 58 | 35 | 0.02 - 0.08 |
| Patates | ND | 7 | 0.03 - 0.075 |
| Arachides | 6 | 12 | 0.09 - 0.21 |

* enfants âgés de moins de 12 mois

ND : non déterminé

Les estimations sont données en pourcentage par rapport au nombre d'échantillons recueillis.

La composition alimentaire a été reconstituée à partir des tables de composition alimentaire (Food composition and nutrition tables 1986/1987).

Les seules différences concernent le maïs et mil (riches en riboflavine) qui sont absorbés par un nombre plus important d'enfants dans le groupe T que dans le groupe B.

6.3.2. L'évaluation de l'état nutritionnel

6.3.2.1. L'anthropométrie

Les enfants des deux groupes du T et du B sont sévèrement malnutris. En particulier ils ont un pourcentage du poids par rapport à la norme pour l'âge très inférieur à celui des témoins ;

on trouve la même différence pour la taille et le BMI. Nous avons exprimé les résultats en séparant les groupes T et B d'une part et en séparant les enfants atteints de marasme et de kwashiorkor d'autre part. Ces résultats sont résumés dans le Tableau n° 25.

Tableau n° 25 : Anthropométrie des groupes Bénin-Togo, des groupes marasme-kwashiorkor et des témoins

| Paramètres | Groupe B (n = 40) | Groupe T (n = 32) | Kwashiorkor (n = 36) | Marasme (n = 36) | Témoins (n = 30) |
|--------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Age (mois) | 20 ± 7 | 18 ± 8 | 21 ± 8 | 18 ± 7 | 16 ± 8 |
| Poids (%) | 58 ± 11,2 * b | 65,7 ± 19,4 b | 60,4 ± 17,6 * b | 64,8 ± 13,7 b | 94,5 ± 14,5 |
| Taille (%) | 90,1 ± 7,9 b | 91,4 ± 9,4 | 90,4 ± 8,6 b | 91,2 ± 8,7 | 96 ± 8,1 |
| Z-score | - 3,1 (± 1,7) c | - 2,6 (± 1,7) c | - 3,1 (± 1,8) c | - 2,6 (± 1,4) c | 0,43 (± 8,9) |
| PB/PC | 0,25 ± 0,1 * b | 0,26 ± 0,1 b | 0,25 ± 0,1 * b | 0,26 ± 0,1 b | 0,32 ± 0,1 |
| BMI (Kg/m ²) | 12,4 ± 2,1 b | 12,4 ± 1,9 b | 12,7 ± 1,8 c | 11,9 ± 2,3 c | 17,3 ± 2,3 |

Le poids et la taille sont exprimés en pourcentage des valeurs standards pour l'âge (standards NHCS/OMS) et sont calculés sur le logiciel Epi-info 6.0 (OMS).

PB : périmètre brachial, PC : périmètre crânien, BMI : Body mass index ou indice de corpulence.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, et l'analyse statistique a été effectuée avec le test t non apparié.

* p<0,05 (comparaison Bénin-Togo ou marasme-kwashiorkor)

b : p<0,001, c : p<0,0001 (comparaison par rapport au groupe témoin)

Le BMI, le poids relatif et le rapport PB/PC sont plus bas dans les deux groupes d'enfants malnutris comparés aux témoins. La taille relative, le poids relatif et le rapport PB/PC sont plus bas dans le groupe B (où il y a plus de kwashiorkors) comparé au groupe T (où il y a plus de marasmes).

Le rapport périmètre brachial/périmètre crânien (PB/PC) est beaucoup plus faible dans les groupes B et T ainsi que dans les sous-groupes marasme et kwashiorkor comparés aux témoins. L'étude statistique entre les différents sous-groupes montre que les enfants du groupe B ont un pourcentage du poids par rapport à la norme et un rapport PB/PC significativement inférieurs aux enfants du T (Tableau n° 25).

6.3.3. Évaluation des protéines marqueurs des états nutritionnel et inflammatoire et des acides aminés plasmatiques

Les 4 groupes malnutris (Bénin, Togo, marasme et kwashiorkor) ont des concentrations plasmatiques en albumine et en transthyrétine significativement plus basses que celles des témoins. Ces protéines sont significativement diminuées chez les enfants du Bénin par rapport à ceux du Togo et dans le groupe kwashiorkor par rapport au marasme. La transferrine est significativement abaissée dans le groupe B comparée au groupe T et aux témoins ; il n'y a pas de différence pour la transferrine entre le groupe T et le groupe témoins (Tableau n° 26). La transferrine est aussi abaissée dans le groupe Kwashiorkor mais pas dans le groupe marasme.

Nous avons également dosé les acides aminés plasmatiques et nous n'indiquerons comme résultat que le rapport acides aminés non essentiels (AANE)/acides aminés essentiels (AAE) que nous avons défini dans les études précédentes. L'augmentation de ce rapport AANE/AAE n'est pas significative dans les groupes B et T comparé au groupe des témoins, par contre ce rapport est plus élevé dans le groupe kwashiorkor par rapport au groupe marasme et au groupe témoin (Tableau n° 26).

La protéine-C réactive et l'orosomucoïde sont significativement plus élevées chez les enfants malnutris que chez les témoins (Tableau n° 26). Cette élévation des concentrations plasmatiques en protéines indicatrices d'inflammation est aussi bien observée dans le groupe des enfants atteints de kwashiorkor que dans le groupe des enfants atteints de marasme (Tableau n° 26). Il n'y a pas de différence non plus entre ces trois groupes en ce qui concerne la concentration plasmatique en cystatine C, protéine indicatrice de l'intégrité du taux de filtration glomérulaire (Tableau n° 26).

Les concentrations des protéines nutritionnelles sont plus faibles dans la MPE de la Savane Béninoise (groupe B) que de la Côte Togolaise (groupe T) alors que celles des protéines de la phase inflammatoire sont très élevées dans les deux groupes B et T. Le rapport AANE/AAE est élevé dans les deux groupes B et T, mais la différence n'est pas significative comparée aux témoins.

Tableau n° 26 : Les concentrations des marqueurs de l'état nutritionnel et inflammatoire chez les enfants malnutris et les témoins

| Paramètres | Groupe B (n = 34) | Groupe T (n = 30) | Kwashiorkor (n = 33) | Marasme (n = 31) | Témoins (n = 30) |
|---------------|----------------------|----------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Alb (g/l) | 18,4 ± 7,1 * c | 30,9 ± 9,9 b | 17 ± 6,9 * c | 31,9 ± 7,9 b | 39,8 ± 5,8 |
| TTR (g/l) | 0,11 ± 0,04 c | 0,13 ± 0,06 c | 0,11 ± 0,05 c | 0,12 ± 0,05 c | 0,21 ± 0,06 |
| Transf (g/l) | 1,2 ± 0,4 * c | 2,3 ± 0,9 | 08, ± 0,7 * c | 2,2 ± 1,2 | 2,2 ± 0,7 |
| AANE/AAE | 4,1 ± 1,8 | 4,4 ± 2,2 | 5 ± 2 * b | 2,8 ± 0,6 | 3 ± 0,4 |
| Oroso (g/l) | 2,3 ± 0,8 c | 2,3 ± 0,9 c | 2,3 ± 0,8 c | 2,4 ± 0,9 c | 0,9 ± 0,8 |
| CRP (mg/l) | 55,7 ± 51,2 b | 62,2 ± 58,7 b | 52 ± 51,6 b | 64 ± 59,2 c | 3 ± 0,2 |
| Cyst-C (mg/l) | 0,9 ± 0,7 | 0,7 ± 0,2 | 0,7 ± 0,2 | 0,9 ± 0,7 | 0,8 ± 0,2 |

Alb : albumine ; Transt : transthyréline, Transf : transferrine.

AANE/AAE : acides aminés non essentiels/acides aminés essentiels (Gly + Ser + Glu + Gln / Val + Met + Leu + Ile)

Oroso : orosomucoïde ; CRP : protéine-C réactive ; Cyst-C : cystatine C.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, et l'analyse statistique a été effectuée avec le test t non apparié.

* p<0,0001 (groupe B comparé au groupe T et marasmes comparé aux kwashiorkors)

b : p<0,001, c : p<0,0001 (groupes malnutris comparés aux témoins)

6.3.4. Évaluation de la thyrotropine (TSH) et des hormones thyroïdiennes plasmatiques

Nous avons observé une hypothyroïdie biologique dans les deux groupes du Bénin et du Togo, avec des concentrations plasmatiques en FT4 et FT3 significativement plus faibles dans ces deux groupes de MPE par rapport aux témoins. La concentration de la T3 est significativement plus faible dans le groupe Bénin comparé au groupe Togo et aux témoins. La T3 des enfants du groupe Togo n'est pas différente de celle des témoins.

La concentration plasmatique en T4 est plus faible dans les groupes Bénin et Togo par rapport aux témoins et la diminution de la T4 est plus sévère dans le groupe Bénin que le groupe Togo. Le rapport T3/T4 ne montre pas de différence entre les groupes MPE et les témoins, alors que le rapport FT3/FT4 est plus faible dans le groupe Bénin comparé au aux témoins. Enfin, l'augmentation de la concentration plasmatique de la thyrotropine (TSH) dans les deux groupes d'enfants malnutris n'est pas significative. Dans les groupes kwashiorkor et marasme, nous avons observé que les concentrations plasmatiques en FT3 et en FT4 sont significativement plus faibles dans les deux groupes MPE par rapport aux témoins, mais la diminution de la FT3 est plus sévère dans le kwashiorkor que dans le marasme. La concentration de la T3 est significativement plus faible dans le groupe kwashiorkor comparé au groupe marasme et aux témoins. La concentration plasmatique en T4 est plus faible dans le kwashiorkor et le marasme par rapport aux témoins, mais la diminution de la T4 est plus sévère dans le kwashiorkor que dans le marasme. Les rapports T3/T4 et FT3/FT4 ne sont pas différents entre les MPE et les témoins. Enfin, la concentration plasmatique de la TSH est significativement plus élevée dans le groupe kwashiorkor que dans le groupe marasme et les témoins. En conclusion, nous avons observé une hypothyroïdie biologique dans tous les groupes d'enfants malnutris, cette hypothyroïdie est plus sévère dans le groupe B que dans le groupe T et dans le groupe kwashiorkor que dans le groupe marasme (Tableau n° 27).

Tableau n° 27 : Concentrations plasmatiques en hormones thyroïdiennes et en thyrotropine chez les enfants malnutris et les témoins

| Paramètres | Groupe B (n = 33) | Groupe T (n = 21) | Kwashiorkor (n = 28) | Marasme (n = 26) | Témoins (n = 30) |
|--------------|----------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|---------------------|
| FT3 (pmol/l) | 4,8 ± 3 b | 5,2 ± 2,1 b | 4,8 ± 3,2 b | 5,1 ± 1,9 b | 7,2 ± 1,8 |
| FT4 (pmol/l) | 12,8 ± 3,9 b | 11,3 ± 2,7 b | 12,4 ± 4,2 b | 11,66 ± 2,5 b | 16,6 ± 7,5 |
| T3 (nmol/l) | 0,9 ± 0,8 * c | 1,7 ± 0,8 | 1 ± 0,9 ** b | 1,5 ± 0,8 | 1,9 ± 0,6 |
| T4 (nmol/l) | 54,1 ± 27 * c | 94,6 ± 39,4 b | 54,1±27,9** c | 86,9 ± 39,9 b | 127,9 ± 20 |
| FT3 / FT4 | 0,3 ± 0,2 b | 0,4 ± 0,2 | 0,4 ± 0,2 | 0,4 ± 0,1 | 0,5 ± 0,2 |
| T3 / T4 | 0,02 ± 0,02 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,01 | 0,02 ± 0,02 | 0,02 ± 0,01 |
| TSH (mU/l) | 4 ± 3,4 | 3,1 ± 2,2 | 4,6±3,58 ** a | 2,6 ± 1,8 | 1,9 ± 1,3 |

T3 : triiodityronine, T4 : thyroxine, FT3 : triiodothyronine libre ; FT4 : thyroxine libre ; TSH : Thyrotropine
Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type.

L'analyse statistique a été effectuée avec le test t non apparié.

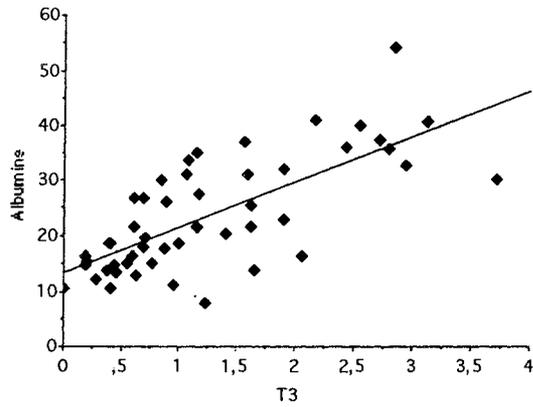
* : p<0,0001 (Bénin comparé au Togo) ; ** : p < 0,0001 (groupe Kwashiorkor comparé au groupe marasme)

b : p<0,001, **c** : p<0,0001 (groupes malnutris comparés aux témoins)

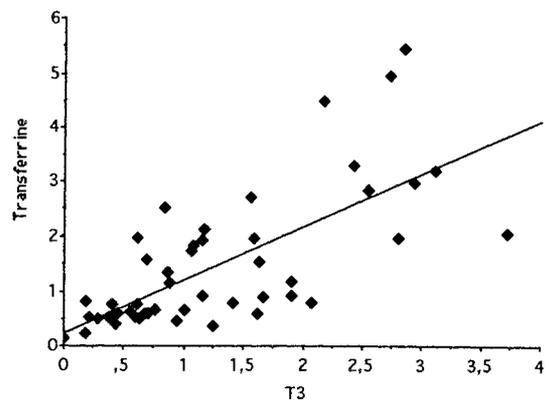
6.3.4.1. Corrélations entre les protéines plasmatiques et la T3

Les concentrations plasmatiques en T3 sont positivement corrélées avec celles de la transthyréline (r = 0,4 ; p < 0,01 ; n = 72), de l'albumine (r = 0,72 ; p < 0,0001, n = 72) et de la transferrine (r = 0,71 ; p < 0,0001, n = 72) (Figure n° 21).

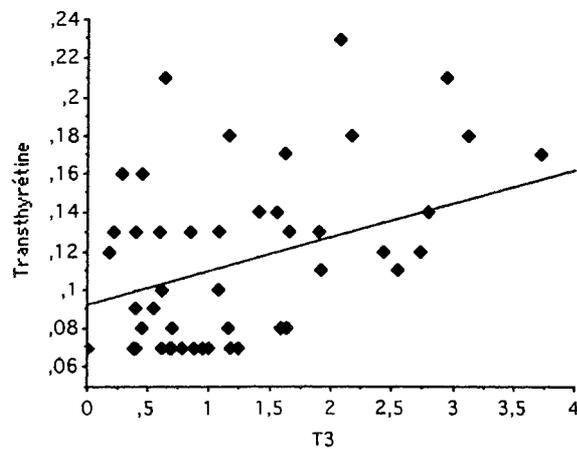
Figure n° 21 : Corrélations entre la triiodothyronine avec les marqueurs nutritionnels : Albumine, Transthyréline et Transferrine



$r = 0,72 ; p < 0,001$



$r = 0,72 ; p < 0,001$



$r = 0,4 ; p < 0,01$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank

La triiodothyronine est corrélée positivement avec les marqueurs protéiques de l'état nutritionnel.

6.3.5. Étude de la riboflavine (Rf) et de ses cofacteurs dans le plasma et les érythrocytes

6.3.5.1. Profils chromatographiques de la Rf et de ses cofacteurs plasmatiques (FMN et FAD)

La Figure n° 22 représente les différents profils de la Rf et des FAD et FMN plasmatiques obtenus en CLHP. Dans la situation où le statut en Rf est normal, la concentration plasmatique de la FAD est environ 6 fois supérieure à celle de la FMN et 4 fois supérieure à celle de la Rf (Figure n° 22 A). Lorsqu'il y a une carence en Rf, on observe une diminution des trois composés (Rf, FAD et FMN) (Figure n° 22 B). En cas de défaut de conversion de la Rf en ses cofacteurs FMN et FAD, on observe une augmentation du pic de Rf et une baisse du pic en FAD dont la concentration devient environ trois fois inférieure à celle de la Rf (Figure n° 22 C).

6.3.5.2. Résultats des vitamers B2

Nous avons observé que la concentration plasmatique en Rf est plus élevée et le FAD plus faible dans le groupe B par rapport au groupe T et aux témoins. Nous retrouvons les mêmes différences dans les groupe kwashiorkor et marasme par rapport aux témoins. La concentration plasmatique en FMN n'est pas différente entre les MPE et les témoins. Les rapports FMN/Rf, FAD/FMN et FAD/Rf sont significativement plus faibles dans le groupe B comparé au groupe T et aux témoins. Il n'y a pas de différence entre le groupe T et les témoins. Les rapports FMN/Rf et FAD/Rf sont significativement plus bas dans le groupe kwashiorkor comparé au groupe marasme et aux témoins. Il n'y a pas de différence pour ces paramètres entre le groupe marasme et les témoins. Nous n'avons observé aucune différence dans les concentrations érythrocytaires en FAD et FMN évaluées entre les groupes malnutris et les témoins.

Tableau n° 28 : Concentrations plasmatiques et érythrocytaires de la riboflavine et de ses cofacteurs chez les enfants malnutris et les témoins

| | Groupe B n = 30 | Groupe T n = 29 | Kwashiorkor n = 20 | Marasme n = 39 | Témoins n = 16 |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Plasma | | | | | |
| Rf nmol/L | 62,1 ± 59,34* b | 27,9 ± 44,2 | 49,1 ± 42,4 a | 42,3 ± 66,8 a | 20,6 ± 15,1 |
| FMN nmol/L | 11,7 ± 8,96 | 18,3 ± 16,6 | 12,6 ± 8,7 | 17,5 ± 16,9 | 15,7 ± 9,6 |
| FAD nmol/L | 30,1 ± 45,5* b | 68,9 ± 54,1 | 45,7 ± 48,9 a | 52,8 ± 58,0 a | 81,1 ± 54,9 |
| FMN/Rf # | 0,4 ± 0,6* b | 1,94 ± 2,4 | 0,5 ± 0,8** a | 1,8 ± 2,5 | 1,24 ± 1,1 |
| FAD/Rf # | 0,9 ± 1,4* c | 6,9 ± 9,5 | 1,7 ± 2,1** c | 6,33 ± 9,9 | 5,1 ± 3,1 |
| FAD/FMN # | 2,3 ± 2,4* b | 6,1 ± 5,2 | 4,3 ± 4,9 | 4,4 ± 4,4 | 6,0 ± 4,5 |
| Erythrocytes | | | | | |
| FMN § | 22,3 ± 25,3 | 15,5 ± 14,9 | 22,1 ± 22,9 | 16,3 ± 19,6 | 12,62 ± 3,6 |
| FAD § | 75,3 ± 31,2 | 69,2 ± 36,2 | 74,7 ± 32,8 | 70,3 ± 34,4 | 59,9 ± 27,2 |

FAD : flavine adénine dinucléotide, FMN : flavine mononucléotide, Rf : riboflavine.

Les résultats sont exprimés en moyenne ± 1 écart-type, et l'analyse statistique a été effectuée avec le test t non apparié.

représente la moyenne des rapports produit / substrat.

§ : Les FMN et FAD érythrocytaires sont exprimés en nmol/mol d'hémoglobine.

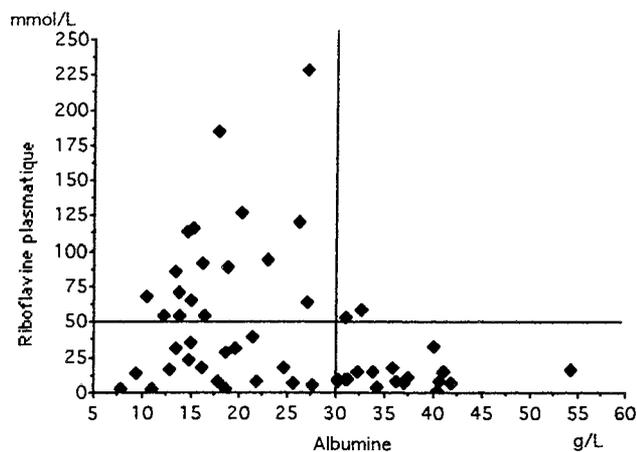
* p<0,01 (groupe Bénin comparé au Togo) ; ** p< 0,01 (Kwashiorkor comparé au marasme).

A : p < 0,05 ; b : p<0,001 ; c : p<0,0001 (groupes malnutris comparés aux témoins)

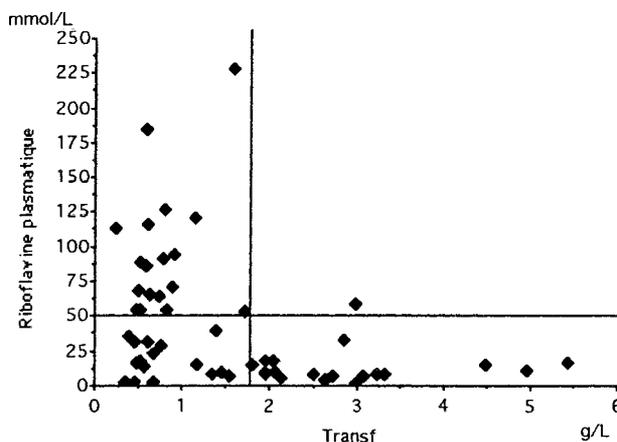
6.3.6. Relation entre la concentration en riboflavine et les protéines plasmatiques et la triiodothyronine

Tous les enfants malnutris qui ont une concentration en Rf élevée (≥ 50 nmol/l) ont de faibles concentrations plasmatiques en albumine (≤ 28 g/l) et en transferrine ($\leq 1,8$ g/l) (Figures n° 23 et 24 respectivement). A contrario, tous les enfants qui ont une albumine et une transferrine normale ont un taux de riboflavine plasmatique bas.

Figure n°22 : Concentration plasmatique en riboflavine en fonction de la concentration plasmatique en albumine et en transferrine chez les enfants malnutris



Relation entre la Rf plasmatique et l'albumine



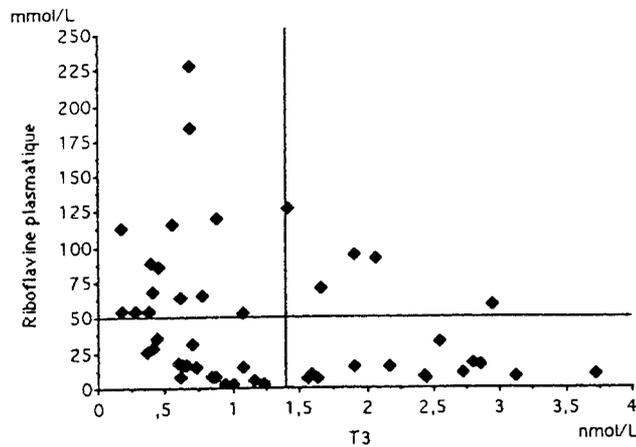
Relation entre la Rf plasmatique et la transferrine.

Les limites inférieures de la normale pour l'albumine, la transferrine et la riboflavine sont schématisée par les lignes qui séparent les graphiques en cadrans.

6.3.7. Relation entre la concentration en riboflavine et la T3 plasmatique

Nous avons observé que tous les enfants à Rf élevée avaient une T3 basse et que, inversement, tous les enfants avec une T3 élevée avaient une Rf basse (Figure n° 24).

Figure n° 23 : Concentration plasmatique en riboflavine en fonction de la concentration plasmatique en triiodothyronine (T3) chez les enfants malnutris n = 72



Tous les enfants ayant une concentration en T3 inférieure à 1,5 nmol/l ont soit, une concentration en Rf plus élevée que la concentration en FAD plasmatique (Profil CLHP de déficit de conversion de Rf en FAD), soit un profil de carence en Rf avec des taux bas de Rf, FAD et FMN (Figure n° 22 B).

En ne prenant que les enfants (appartenant aux deux groupe Bénin et Togo) qui ont un taux de T3 basse, nous observons une corrélation positive entre des rapports FMN/Rf ($r = 0,45$; $P < 0,05$, $n = 27$) et FAD/Rf ($r = 0,44$; $p < 0,05$, $n = 27$) et le taux de T3 plasmatique. Ceci montre bien l'influence de la T3 sur la conversion de Rf en FAD. Il n'y a pas de corrélation entre les cofacteurs de la Rf et les taux de T3 chez les patients ayant un taux de T3 ≥ 1 nmol/L.

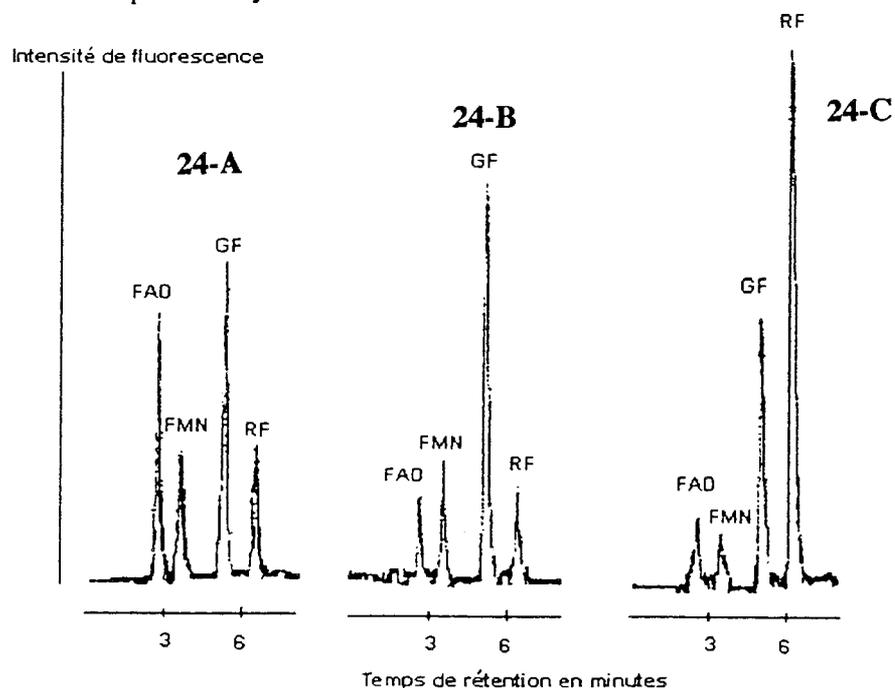


Figure n° 24 : Profils chromatographiques de la flavine adénine dinucléotide (FAD), de la flavine mononucléotide (FMN) et de la riboflavine (RF) dans le plasma d'un enfant ayant un statut normal en vitamine B2 (24 A) ; dans le plasma d'un enfant ayant un déficit en vitamine B2 (24 B) et dans le plasma d'un enfant ayant un défaut de conversion de la RF en cofacteurs où l'on observe une accumulation de Rf plasmatique (24 C).

6.3.8. Étude des acides organiques urinaires à chaîne courte et moyenne

Nous avons également étudié les acides organiques urinaires chez ces patients afin de voir si nous trouvions des stigmates indirects de carence en riboflavine, à savoir la mise en évidence d'une acidurie dicarboxylique. Cette acidurie organique est le reflet d'un déficit de la β -oxydation des acides gras dont la riboflavine est un cofacteur enzymatique.

Les résultats sont résumés dans le Tableau n° 29.

Tableau n° 29 : Excrétion urinaire en acides organiques à chaîne courte et moyenne chez les enfants malnutris et les témoins. les résultats sont exprimés en $\mu\text{Mol}/\mu\text{mol}$ de créatinine.

| | Groupe B | Groupe T | Kwashiorkor | Marasme | Témoins |
|----------------|-----------------|-----------------|--------------------|----------------|----------------|
| Lactique | 46,5 ± 12,1 | 162,5 ± 92,3 | 159,8 ± 117,8 | 67,4 ± 19,2 | 20,4 ± 3,5 |
| Pyruvique | 11,1 ± 1,3 | 39,1 ± 16,3 †a | 16,3 ± 4,4 | 23,5 ± 9,4 | 15,3 ± 3,0 |
| Ethylmalonique | 7,9 ± 1,8 | 16,0 ± 36,0† b | 15,8 ± 3,8 b | 10,5 ± 2,0 a | 6,0 ± 0,8 |
| Succinique | 36,6 ± 20,1 | 38,2 ± 6,9 | 19,3 ± 2,9 | 46,2 ± 15,3 | 14,2 ± 3,1 |
| CH3 succinique | 2,7 ± 0,4 | 5,8 ± 0,9 ‡c | 3,6 ± 0,6 | 4,6 ± 0,6 b | 2,1 ± 0,2 |
| Glutarique | 5,1 ± 1,6 b | 9,8 ± 1,3 c | 5,8 ± 1,3 | 8,3 ± 1,5 a | 3,8 ± 0,8 |
| CH3 Glutarique | 3,41 ± 0,8 | 12,9 ± 2,6 †c | 4,0 ± 0,9 | 11,2 ± 2,3 *b | 2,7 ± 0,4 |
| Adipique | 37,5 ± 13,3 | 124,5 ± 57,5*b | 38,3 ± 15,6 | 100,6 ± 43,2 a | 11,6 ± 2,2 |
| CH3 adipique | 19,7 ± 4,1 | 101,4 ± 21,1‡c | 27,2 ± 6,0 | 79,3 ± 17,7 †b | 18,1 ± 2,3 |
| Pimélique | 23,6 ± 4,0 | 20,4 ± 4,5 | 23,8 ± 4,1 | 21,2 ± 4,1 | 14,0 ± 2,0 |
| Subérique | 38,3 ± 7,1 | 67,7 ± 14,5 *c | 55,4 ± 10,7 b | 48,5 ± 10,5 b | 15,4 ± 2,6 |

Les résultats sont exprimés en moyenne ± écart-type, et l'analyse statistique a été effectuée avec le test t non apparié.

* p < 0,05 ; † p < 0,01 ; ‡ p < 0,0001 (groupe Bénin comparé au groupe Togo et kwashiorkor comparé au marasme)

a : p < 0,05, b : p < 0,001, c : p < 0,0001 (groupes malnutris comparés aux témoins)

Dans les groupes B et T, nous avons observé que l'excrétion urinaire en acides pyruvique, éthylmalonique, CH3-succinique, CH3-glutarique, adipique, CH3-adipique et subérique, est significativement plus élevée dans le groupe T comparé au groupe B et aux témoins. Il n'y a pas de différence significative entre le groupe B et les témoins. L'excrétion urinaire en acide glutarique est significativement plus élevée dans les deux groupes B et T par rapport aux témoins, cette élévation étant plus importante dans le groupe T. Les autres acides organiques étudiés ne montrent pas de différence entre les groupes B et T et le groupe témoin.

Dans les groupes kwashiorkor et marasme on observe que l'excrétion urinaire en acides éthylmalonique et subérique est significativement plus élevée dans le kwashiorkor et le marasme par rapport aux témoins. L'excrétion urinaire en acides glutarique, CH3-glutarique, adipique, CH3 adipique et subérique est significativement plus élevée dans le marasme comparé au kwashiorkor et aux témoins, il n'y a pas de différence significative entre le kwashiorkor et les témoins. Nous n'avons pas observé de corrélation significative entre les acides organiques et les concentrations de la RF et de ses cofacteurs, ni entre les acides organiques et la T3.

6.4. Résultats de l'étude lipides et malnutrition protéino-énergétique

6.4.1. L'anthropométrie

La population des enfants étudiés est la même que pour l'étude de la cobalamine. Les données anthropométriques sont donc identiques. Cette population est essentiellement marastique avec un poids à 57% de la norme pour l'âge et le sexe et une taille à 89% de cette même norme. Néanmoins, nous avons pu étudier 18 enfants témoins pour cette étude, c'est pourquoi nous rappelons les données anthropométriques dans le Tableau n° 30 car les valeurs des témoins sont différentes que dans les tableaux précédents. Ces résultats sont résumés dans le Tableau n° 30.

Tableau n° 30 : Anthropométrie des patients et des témoins

| | Poids (kg) | Poids % | Taille (cm) | Taille % | BMI | PC/PB |
|-----------------|---------------|------------|----------------|------------|--------------|-------------|
| Patients | 6,6 ± 0,9 | 57 ± 7 | 74,3 ± 4,4 | 89 ± 4,5 | 17,2 ± 1,9 | 0,25 ± 0,02 |
| Témoins | 12 ± 1,9† | 99 ± 9,7 † | 83,6 ± 7,5 † | 98 ± 4,9 † | 11,9 ± 1,1 † | 0,33± 0,02† |

Patients n = 39, Témoins n = 18.

Le poids et la taille sont exprimés en kg et en cm mais aussi en pourcentage de la norme pour l'âge et pour le sexe (%).

BMI : Body Mass Index calculé comme le rapport Poids / Taille² (kg/m²).

PC/PB : Périmètre crânien / Périmètre brachial.

† : p < 0,001 (test t non apparié).

6.4.2. Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

Les données du bilan protéique nutritionnel et inflammatoire sont résumées dans le Tableau n° 31. Les protéines nutritionnelles sont inférieures et les protéines inflammatoires sont supérieures chez les patients par rapport aux témoins. La dispersion des valeurs est faible pour les protéines nutritionnelles mais elle est très importante pour les protéines inflammatoires, en particulier la CRP.

Tableau n° 31 : Bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

| | Alb g/L | TTRmg/L | Index Nutr | CRP mg/L | Oro g/L | Index Infl |
|-----------------|------------|---------------|---------------|--------------|--------------|------------|
| Patients | 36,7 ± 8,8 | 0,09 ± 0,05 | 3,63 ± 2,3 | 42 ± 55 | 2,7 ± 1,1 | 154 ± 251 |
| Témoins | 46 ± 4,6 ‡ | 0,18 ± 0,02 ‡ | 8,3 ± 1,53 ‡ | 2,21 ± 0,7 ‡ | 0,83 ± 0,2 ‡ | 1,87±0,79† |

Patients n = 39, Témoins n = 18.

Alb : Albumine, TTR : Transthyréline, Index Nutr : Index Nutritionnel (Alb x TTR),

Index infl : Index inflammatoire (CRP x Orosomucoïde).

† : p < 0,01, ‡ : p < 0,001 (test t non apparié).

6.4.3. L'enquête alimentaire

Les apports alimentaires des enfants malnutris n'ont pu être estimés précisément. Néanmoins nous avons pu obtenir des données qualitatives sur le régime de ces enfants. La quantité d'aliments absorbés par ces enfants était impossible à établir dans les conditions de réalisation de cette étude. Les résultats de cette enquête sont résumés dans la Figure n° 12. 65% de ces enfants mangent du pain, 60% du riz et du lait, 35 % du poisson, 30% de la bouillie et 15% seulement de la viande. Il est hautement probable étant donné le très faible niveau économique de ces familles que les aliments riches en protéines soient en fait donnés en faible quantité.

En résumé, ces régimes quantitativement faibles, comportent surtout des glucides d'action lente ; les protides et les lipides, du fait de leur coût, ne rentrent que pour une faible part dans l'alimentation de ces enfants.

6.4.4. Le bilan lipidique

6.4.4.1. Le cholestérol et ses sous-fractions LDL et HDL

Dans cette étude nous avons dosé le cholestérol total et le HDL cholestérol, le LDL chol a été obtenu par calcul selon la formule de FRIEDEWALD (1972). Nous avons observé une baisse très significative du chol total et de ses deux sous-fractions chez les patients par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont résumés dans le Tableau n° 32. Nous avons également étudié l'influence de l'état nutritionnel et inflammatoire sur ces paramètres.

Tableau n° 32 : Étude du cholestérol et des paramètres se rapportant à ses sous-fractions HDL et LDL chez les patients et chez les témoins et en fonction du BMI

| | Patients n = 39 | Témoins n = 18 | BMI < 12 n = 20 | BMI > 12 n = 19 |
|--------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Chol total | 2,44 ± 0,7 | 4,71 ± 0,6 ‡ | 2,19 ± 0,6 | 2,7 ± 0,7 † |
| LDL chol | 1,25 ± 0,6 | 2,8 ± 0,5 ‡ | 1,07 ± 0,4 | 1,5 ± 0,7 † |
| HDL chol | 1,03 ± 0,4 | 3,2 ± 0,8 ‡ | 0,96 ± 0,38 | 1,1 ± 0,39 |
| Apo B | 0,68 ± 0,2 | 1,1 ± 0,3 ‡ | 0,64 ± 0,22 | 0,71 ± 0,2 |
| Apo AI | 0,68 ± 0,2 | 1,4 ± 0,2 ‡ | 0,69 ± 0,19 | 0,67 ± 0,24 |
| Apo A II | 0,18 ± 0,04 | 0,4 ± 0,1 ‡ | 0,19 ± 0,05 | 0,17 ± 0,04 |
| Lp AI | 0,36 ± 0,09 | 0,43 ± 0,23 | 0,35 ± 0,08 | 0,38 ± 0,09 |
| Lp AI :A II | 0,34 ± 0,19 | 0,99 ± 0,21 ‡ | 0,35 ± 0,2 | 0,33 ± 0,17 |

Légende : identique au tableau ci-dessous

Tableau n° 33 : Étude du cholestérol et des paramètres se rapportant à ses sous-fractions HDL et LDL en fonction des index nutritionnel et inflammatoire

| | TTR <0,08 n = 20 | TTR >0,08 n = 19 | Index Infl < 30 n = 20 | Index Infl > 30 n = 19 |
|--------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Chol total | 5,46 ± 1,61 | 7,08 ± 1,73‡ | 6,92 ± 1,79 | 5,86 ± 1,79 |
| LDL chol | 1,09 ± 0,48 | 1,41 ± 0,69 | 1,14 ± 0,64 | 1,13 ± 0,57 |
| HDL chol | 0,9 ± 0,39 | 1,15 ± 0,36 † | 1,15 ± 0,34 | 0,95 ± 0,41 |
| Apo B | 0,59 ± 0,17 | 0,76 ± 0,22 † | 0,7 ± 0,15 | 0,65 ± 0,25 |
| Apo AI | 0,59 ± 0,23 | 0,76 ± 0,18 † | 0,78 ± 0,16 | 0,61 ± 0,23 † |
| Apo A II | 0,17 ± 0,05 | 0,2 ± 0,03 † | 0,2 ± 0,04 | 0,17 ± 0,05 † |
| Lp AI | 0,36 ± 0,06 | 0,36 ± 0,11 | 0,37 ± 0,05 | 0,35 ± 0,11 |
| Lp A I:A II | 0,24 ± 0,16 | 0,43 ± 0,16 ‡ | 0,45 ± 0,16 | 0,26 ± 0,04 ‡ |

Chol : cholestérol, Apo : apoprotéine, BMI : body mass index (poids/taille²), transt : transthyréline.

† : p< 0,01, ‡ : p< 0,001 (test t non apparié).

On constate une baisse plus importante du cholestérol total et du LDL cholestérol chez les patients qui ont un statut nutritionnel plus grave (BMI et transthyréline plus bas). Tous les marqueurs du statut en cholestérol hormis le LDL cholestérol sont abaissés dans le groupe à transthyréline plus basse. Si l'on prend l'albumine comme critère nutritionnel, on retrouve de faibles différences dans le bilan lipidique entre les patients à albumine basse et à albumine élevée. Si on réalise une analyse en régression multiple, on s'aperçoit de la prééminence de la transthyréline sur l'albumine sur les variations du bilan cholestérol. Les différences sont moins flagrantes avec les marqueurs inflammatoires, on ne retrouve une différence significative que pour les apo A I et A II et la Lp A I:A II qui sont abaissées lorsque les paramètres inflammatoires sont plus élevés. On retrouve des corrélations négatives entre la CRP ou l'Oroso et les apo A I et A II et la Lp A I:A II ; (respectivement $r = -0.51$; $p < 0,001$, $r = -0.47$; $p < 0,002$ et $r = -0.49$; $p < 0,001$ pour la CRP et $r = -0.37$; $p < 0,05$, $r = -0.5$; $p < 0,03$ et $r = -0.38$; $p < 0,01$ pour l'Oroso). L'analyse en régression multiple montre la prééminence de la CRP sur l'Oroso sur la baisse des Apo A I et A II et de la Lp A I:A II en cas de syndrome inflammatoire biologique. Nous avons également réalisé une analyse de régression multiple afin de déterminer l'influence relative de l'index nutritionnel et de l'index inflammatoire sur ces paramètres du cholestérol. Le seul résultat positif concerne l'influence prépondérante des facteurs inflammatoires sur la chute de la Lp A I: A II. En résumé, les apo A I et A II sont plus basses en cas de statut nutritionnel et inflammatoire aggravé. Il faut remarquer que ce sont les paramètres à demi-vie courte (TTR et CRP) qui influencent le plus cette chute. Enfin, ces apoprotéines semblent réagir plus à l'état inflammatoire qu'à la dénutrition.

Nous avons étudié les rapports apo A I / apo A II, apo A I / Lp A I:A II et HDL chol / apo A I comme l'a proposé LOCK (1983). Ces résultats sont résumés dans le Tableau n° 34.

Tableau n° 34 : Rapports apo A I / apo A II, HDL chol / apo A I et apo A I / Lp A I:A II chez les patients et les témoins

| | Patients | Témoins |
|------------------------|-----------------|----------------|
| Apo A I/Apo A II | 3,71 ± 0,93 | 3,67 ± 1,18 |
| HDL cholestérol/apo AI | 0,61 ± 0,22 | 0,88 ± 0,19 † |
| Apo AI/Lp A I:A II | 2,46 ± 1,14 | 1,48 ± 0,34 † |

Apo : apoprotéine ; Lp : lipoprotéine.

L'analyse statistique a été réalisé en utilisant le test t non apparié.

† : $p < 0,01$

L'apoprotéine B, si elle est la principale composante protéique des LDL, fait également partie des VLDL. Elle est donc un marqueur de particules contenant de façon prédominante des triglycérides ou du cholestérol. L'interprétation des résultats n'en devra être que plus prudente. Cette bi-appartenance métabolique s'exprime dans les corrélations positives que nous avons observées avec le chol total, le LDL et le HDL cholestérol mais aussi avec les triglycérides ($r = 0.47$), l'apo C3 ($r = 0.34$), la Lp C3:B ($r = 0.43$) et la Lp E:B ($r = 0.37$). Par contre, et logiquement, nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre l'apo B et les apo E, A I et A II et la Lp A I:A II.

Par rapport aux témoins les enfants malnutris ont une apo B très nettement diminuée ce qui est cohérent avec la chute du cholestérol chez les patients. L'étude de l'apo B en fonction des marqueurs nutritionnels ou inflammatoires montre que l'apo B est significativement abaissée lorsque la TTR est plus basse ($p < 0.0003$). Par contre nous n'avons pas mis en évidence de variation de l'apo B en fonction des marqueurs inflammatoires. Nous avons observé des corrélations positives entre les différents paramètres relatifs au cholestérol. Les différents coefficients de corrélations sont résumés dans le Tableau n° 35.

Tableau n° 35 : Corrélations entre les différents paramètres relatifs au cholestérol

| | Chol total | HDL chol | LDL chol | Apo A I | Apo A II |
|------------|------------|----------|----------|---------|----------|
| Chol total | - | - | - | - | - |
| HDL chol | 0.83 ‡ | - | - | - | - |
| LDL chol | 0.72 ‡ | 0.71 ‡ | - | - | - |
| Apo A I | 0.5 ‡ | 0.58 ‡ | 0.42 † | - | - |
| Apo A II | 0.46 † | 0.56 ‡ | 0.32 † | 0.8 ‡ | - |
| Apo B | 0.73 ‡ | 0.53 ‡ | 0.59 ‡ | - | - |

† : $p < 0,01$; ‡ : $p < 0,001$

Toutes ces corrélations sont fortement positives sauf les corrélations entre l'apo B contenue dans les LDL et les apo A I et A II contenues dans les HDL.

6.4.4.2. Les triglycérides les apo C III et E et les Lp C III:B et E/B

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé de différence entre les patients et les témoins en ce qui concerne les triglycérides plasmatiques (Tableau n° 36).

Tableau n° 36 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et C III:B chez les patients et les témoins

| | Patients (n = 39) | Témoins (n = 18) |
|------------------------|-------------------|------------------|
| Triglycérides (mmol/L) | 1,71 ± 0,8 | 1,6 ± 0,34 |
| Apo C III (g/L) | 0,05 ± 0,02 | 0,02 ± 0,006 † |
| Apo E (g/L) | 0,08 ± 0,04 | 0,05 ± 0,02 † |
| Lp C III :B (g/L) | 0,15 ± 0,06 | 0,09 ± 0,04 † |
| Lp E:B (g/L) | 0,29 ± 0,13 | 0,12 ± 0,09 † |

Apo : apoprotéine ; Lp : lipoprotéine.

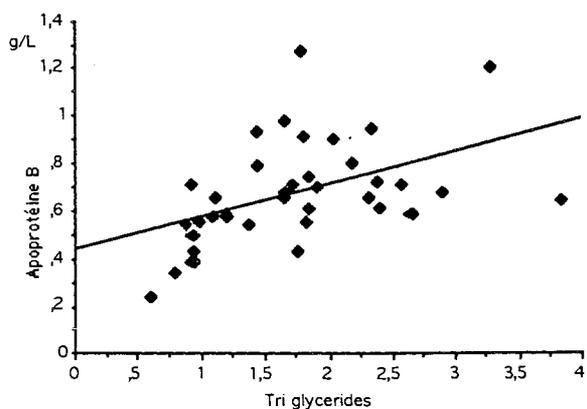
Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

† : $p < 0,01$; test t non apparié.

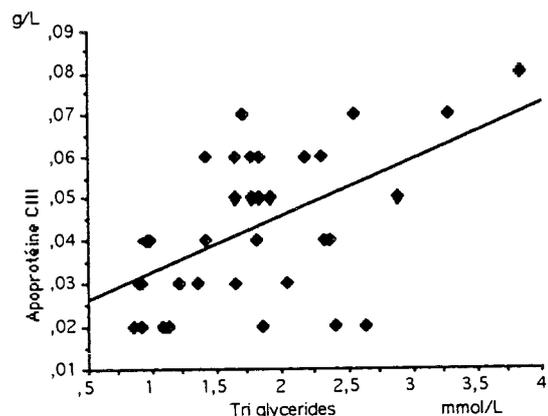
Par contre tous les autres paramètres se rapportant au métabolisme des triglycérides sont significativement augmentés chez les patients par rapport aux témoins (Tableau n° 36).

Au sein du groupe patient nous avons observé des corrélations positive entre les triglycérides et l'apo C III, l'apo B et les Lp C III:B et Lp E:B. Ces corrélations tendent à montrer que les triglycérides sont essentiellement contenus dans les VLDL, particules riches en triglycérides précurseurs des LDL.

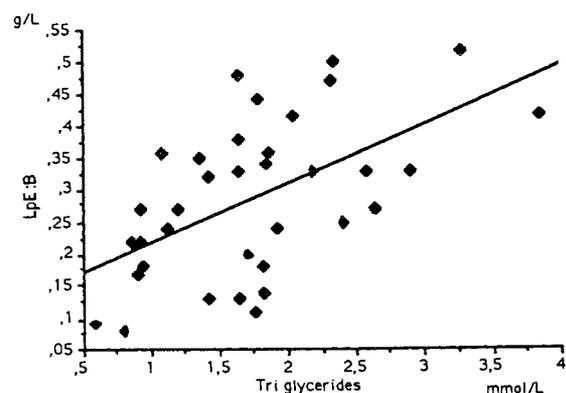
Figure n° 25 : Corrélations entre les triglycérides et les apo B et C III et les Lp E:B et C III:B.



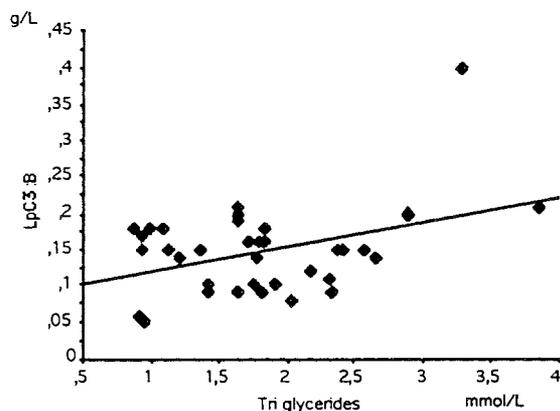
Apo B : $r = 0,47$; $p < 0,005$



Apo C III : $r = 0,53$; $p < 0,001$



Lp E:B : $r = 0,55$; $p < 0,0006$



Lp C III:B : $r = 0,38$; $p < 0,02$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

6.4.4.3. Influence des paramètres nutritionnels et inflammatoires

Nous avons étudié l'influence de l'anthropométrie ou du résultats des bilans protéiques nutritionnels et inflammatoires sur les paramètres du bilan concernant les triglycérides (Tableau n° 37 et 38).

Tableau n° 37 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et Lp C III:B chez les patients et les témoins et en fonction du BMI

| | Patients n = 39 | Témoins n = 18 | BMI < 12 n = 20 | BMI > 12 n = 19 |
|-------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| TG (mmol/L) | 1,71 ± 0,8 | 1,6 ± 0,34 | 1,65 ± 0,75 | 1,76 ± 0,78 |
| Apo C III (g/L) | 0,05 ± 0,02 | 0,02 ± 0,006 † | 0,05 ± 0,02 | 0,04 ± 0,018 |
| Apo E (g/L) | 0,08 ± 0,04 | 0,05 ± 0,02 † | 0,06 ± 0,02 | 0,09 ± 0,05 † |
| Lp C III:B (g/L) | 0,15 ± 0,06 | 0,09 ± 0,04 † | 0,15 ± 0,07 | 0,15 ± 0,046 |
| Lp E:B (g/L) | 0,29 ± 0,13 | 0,12 ± 0,09 † | 0,26 ± 0,14 | 0,31 ± 0,11 |

Tableau n° 38 : Triglycérides, apo E et C III et Lp E:B et Lp C III:B en fonction de l'index nutritionnel et de l'index inflammatoire.

| | Index nutr < 3 n = 19 | Index Nutr > 3 n = 20 | Index Infl < 30 n = 19 | Index Infl > 30 n = 20 |
|-------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| TG (mmol/L) | 1,65 ± 0,77 | 1,76 ± 0,75 | 1,69 ± 0,48 | 1,71 ± 0,90 |
| Apo C III (g/L) | 0,036 ± 0,017 | 0,05 ± 0,02 ‡ | 0,05 ± 0,014 | 0,04 ± 0,02 |
| Apo E (g/L) | 0,09 ± 0,05 | 0,06 ± 0,03 | 0,057 ± 0,02 | 0,09 ± 0,04 |
| Lp C III:B (g/L) | 0,16 ± 0,07 | 0,14 ± 0,05 | 0,12 ± 0,04 | 0,17 ± 0,07 † |
| Lp E:B (g/L) | 0,28 ± 0,13 | 0,30 ± 0,13 | 0,25 ± 0,13 | 0,31 ± 0,12 |

Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

BMI : Body mass index ou index de corpulence exprimé en kg/m².

TG : triglycérides, Apo : apoprotéine, Lp : lipoprotéine, Index Nutr : index nutritionnel (albumine x transthyréine), index infl : index inflammatoire (CRP x orosomucoïde).

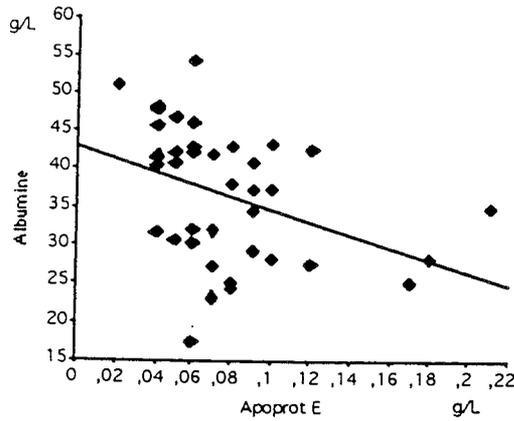
L'analyse statistique est réalisée par le test t non apparié.

La significativité est acceptée pour P < 0,05.

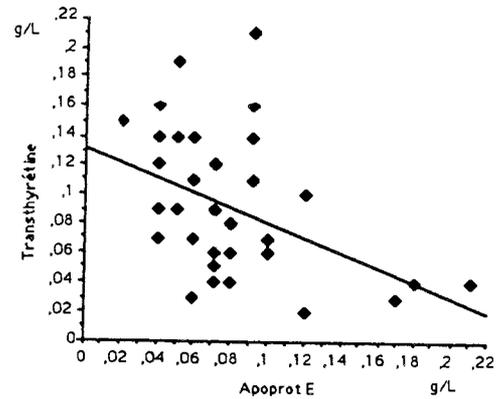
Si nous avons pu mettre en évidence une augmentation de l'apo E quand le BMI est plus élevé, et de l'apo C III quand l'index nutritionnel est plus élevé, cette méthode ne nous a pas permis de mettre en évidence de relation entre les index nutritionnel et inflammatoire et les particules riches en triglycérides (Lp E:B, Lp C III:B).

L'étude des corrélations nous a montré une relation négative entre l'apo E et les protéines nutritionnelles et une corrélation positive de l'apo E avec les protéines inflammatoires. L'analyse de régression multiple montre l'influence prépondérante de l'état inflammatoire sur l'apo E par rapport aux facteurs nutritionnels.

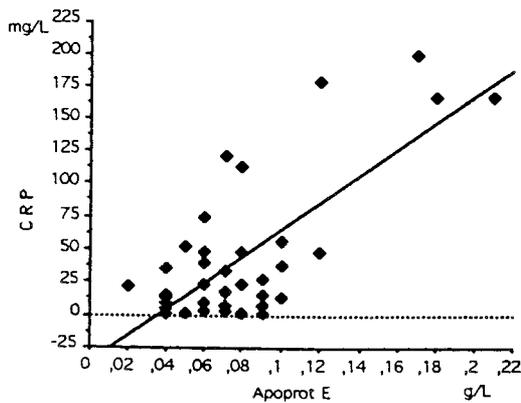
Figure n° 26 : Corrélations entre l'apo E et les paramètres nutritionnels et inflammatoires



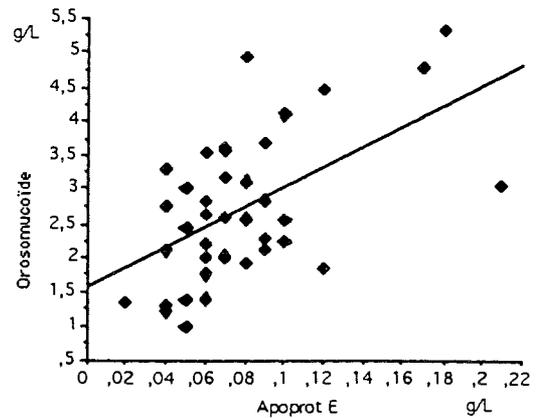
Alb : $r = - 0,37$; $p < 0,02$



Transt : $r = - 0,43$; $p < 0,007$



CRP : $r = 0,74$; $p < 0,0001$



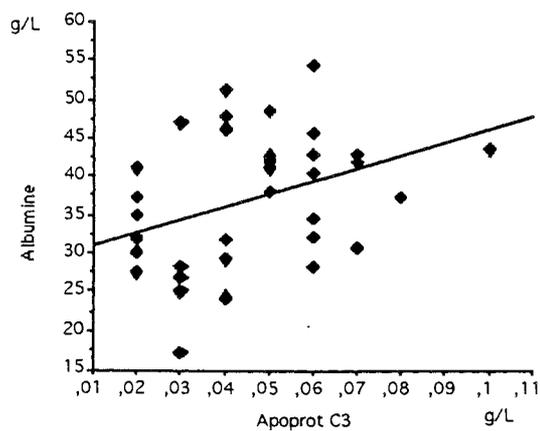
Oro : $r = 0,55$; $p < 0,003$

Alb : albumine ; Transt : Transthyrétine, CRP : C réactive protéine, Oro : Orosomucoïde

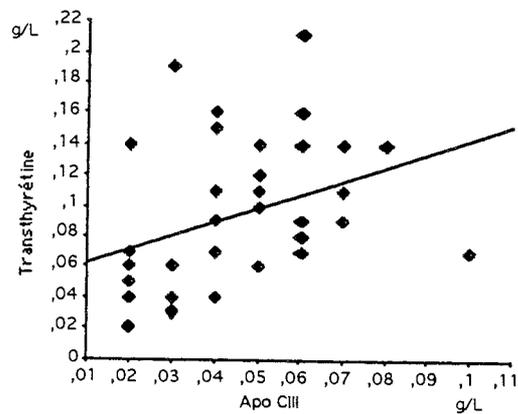
Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Nous avons observé une corrélation positive entre l'apo C III et les paramètres protéiques nutritionnels, l'apo C III n'étant pas par ailleurs corrélée aux protéines inflammatoires.

Figure n° 27 : Corrélations de l'apo C III avec l'albumine et la transthyréline



Alb : $r = 0,37$; $p < 0,02$



Transt : $r = 0,36$; $p < 0,03$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Nous n'avons trouvé aucune corrélation avec les paramètres du bilan lipidique et le sexe des enfants ou le fait que les enfants soient sevrés ou non dans le groupe patients.

6.5. Résultats de l'étude sur le bilan lipidique au cours de la renutrition dans l'anorexie mentale

6.5.1. Anthropométrie

Nous avons étudié 14 jeunes filles atteintes d'anorexie mentale au cours de leur hospitalisation pour renutrition à l'hôpital d'Enfants de Nancy. Les données de l'anthropométrie sont résumées dans le Tableau n° 39. Elles montrent une dénutrition majeure avec une perte de poids de $27,8 \pm 7,2$ % par rapport au poids de base (avant l'anorexie mentale) de ces patientes. Après la renutrition, le gain pondéral est de $12,15 \pm 3$ Kg et le BMI ou index de Quetelet augmente de $13,41 \pm 1,62$ à $18,41 \pm 1,42$ (Tableau n°39).

Tableau n° 39 : Anthropométrie à J0 et après renutrition (J30) *

| Patients (n = 14) | J 0 | J 30 | Témoins |
|--------------------------|------------------|-----------------------|------------------|
| Age (ans) | $14.8 \pm 2,12$ | 14.9 ± 2.12 | 29 ± 6 † |
| Poids (Kg) | 33.15 ± 7.3 | $45.3 \pm 8^{**}$ | 60.5 ± 8.9 † |
| Taille (cm) | 156.3 ± 11.3 | $156,5 \pm 11,4$ | 173 ± 9 † |
| BMI (Kg/m ²) | 13.41 ± 1.62 | $18.41 \pm 1.42^{**}$ | 20.2 ± 1.3 † |

* Les données sont exprimées en moyenne \pm 1 écart-type. (Wilcoxon test, BMDP Software)

** Différence significative entre J0 et J30 : $p < 0.001$.

† : Différence significative entre J0 et les témoins : $p < 0.001$.

6.5.2. Bilan protéique et endocrinologique

Les résultats du bilan protéique et endocrinologique sont résumés dans le Tableau n° 40. Il n'y a pas de changement pour l'albumine, par contre, nous observons une augmentation significative de la transthyréline ($p < 0,001$) avec la renutrition. Le bilan endocrinien à J0 montre des valeurs normales hautes pour le cortisol et l'ACTH, par contre l'oestradiol est effondré. Il n'y a pas de variation significative de ces paramètres avec la renutrition.

Tableau n° 40 : Bilan protéique et endocrinologique à J0, J10 et J30 chez les patients *

| | J 0 | J 10 | J 30 |
|-------------------------|-------------------|------------------|----------------------|
| Albumine (g/l) | 47.9 ± 9.13 | 44.6 ± 4.3 | 48 ± 5.9 |
| Transthyréline (mg/l) | 0.23 ± 0.05 | 0.26 ± 0.07 | $0.31 \pm 0.06^{**}$ |
| ACTH (ng/l) | 34.73 ± 22.8 | 39.07 ± 22.7 | 35.4 ± 16.5 |
| Cortisol (mg/l) | 242.15 ± 79.7 | 228.7 ± 70 | 232.9 ± 64.2 |
| Oestradiol (μ g/l) | 4 ± 3 | 10.8 ± 9.2 | 8.8 ± 11.4 |

Ces analyses n'ont pas été réalisées dans le groupe témoin

* Les données sont exprimées en moyennes \pm écart-types.

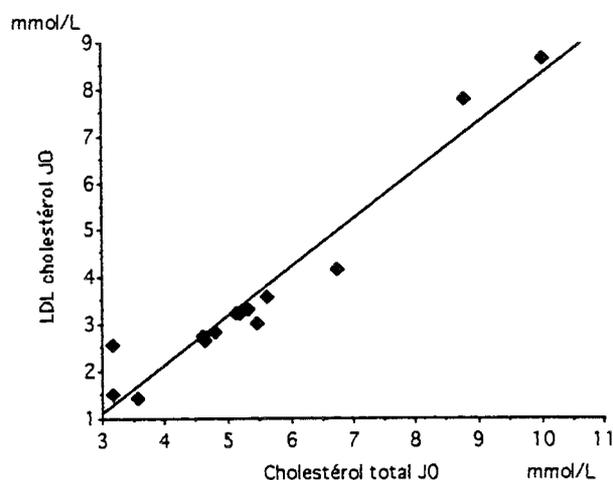
** Différence significative entre J0, J10 et J30, $p < 0.0001$ (Analyse de variance répétée, ANOVA, BMDP, Software).

6.5.3. Bilan lipidique

6.5.3.1. Le cholestérol et ses paramètres

Les résultats du cholestérol et de ses paramètres (apoprotéines B, A I et A II, lipoprotéines Lp(a):B, Lp A I et Lp A I:A II et du lathostérol) sont résumés dans le Tableau n° 41. A J 0, J10 et J30 le cholestérol total et sa fraction LDL ne sont pas différents entre les patients et les témoins. Le HDL chol devient inférieur aux témoins à partir de J10 et le reste à J 30. L'apo A I n'est pas modifiée par la renutrition alors que L'apo A II augmente significativement pendant celle-ci ($p = 0,04$). A J0, l'apo B qui est un marqueur des particules LDL n'est pas différente, ensuite elle baisse significativement à J10 et J30 par rapport à J0. A J10 et J30 elle est significativement inférieure chez les patients par rapport aux témoins. L'apo A I ne varie pas au cours de la renutrition et elle est constamment plus basse chez les patients par rapport aux témoins. Le lathostérol et le rapport lathostérol/cholestérol total (qui est un meilleur marqueur de la synthèse endogène du cholestérol et de l'activité hydroxyméthyl glutaryl coenzyme A réductase hépatique que le lathostérol seul) augmentent significativement au cours de la renutrition chez les patients. Ces taux deviennent significativement supérieurs aux taux des témoins à J30. Cette évolution est inverse par rapport au cholestérol total, au LDL cholestérol et à L'apo B. En utilisant le test de Wilcoxon, on observe une augmentation significative de la Lp (a) : B entre J 0 et J 30 ($0,14 \pm 0,13$ versus $0,19 \pm 0,19$ g/l, $p = 0,02$). A J0 le cholestérol total est fortement corrélé avec le LDL cholestérol (Fig.27) ($r = 0,967$ et $p = 0,0001$), ce qui n'est plus le cas à J 30. Par ailleurs, à J0 le cholestérol total est corrélé à l'Apo B ($r = 0,783$ et $p = 0,001$) (Fig. 28) et à l'Apo C III ($r = 0,64$ et $p = 0,01$).

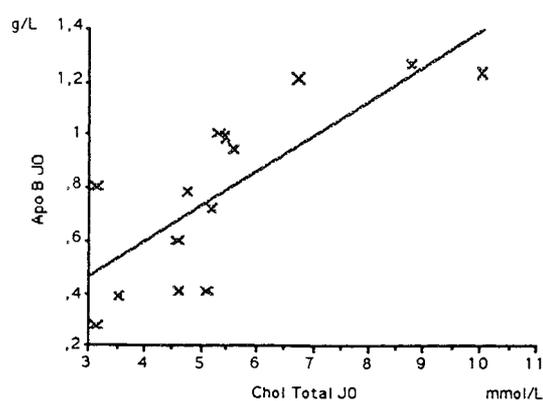
Figure n° 28 : Corrélation entre le cholestérol total et le LDL cholestérol chez les patients à J0



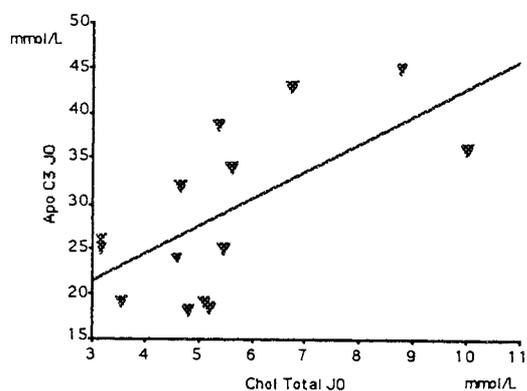
$$r = 0,967 ; p = 0,0001$$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Figure n° 29 : Corrélations entre le cholestérol total et l'apo B et l'apo C III chez les patients à J0



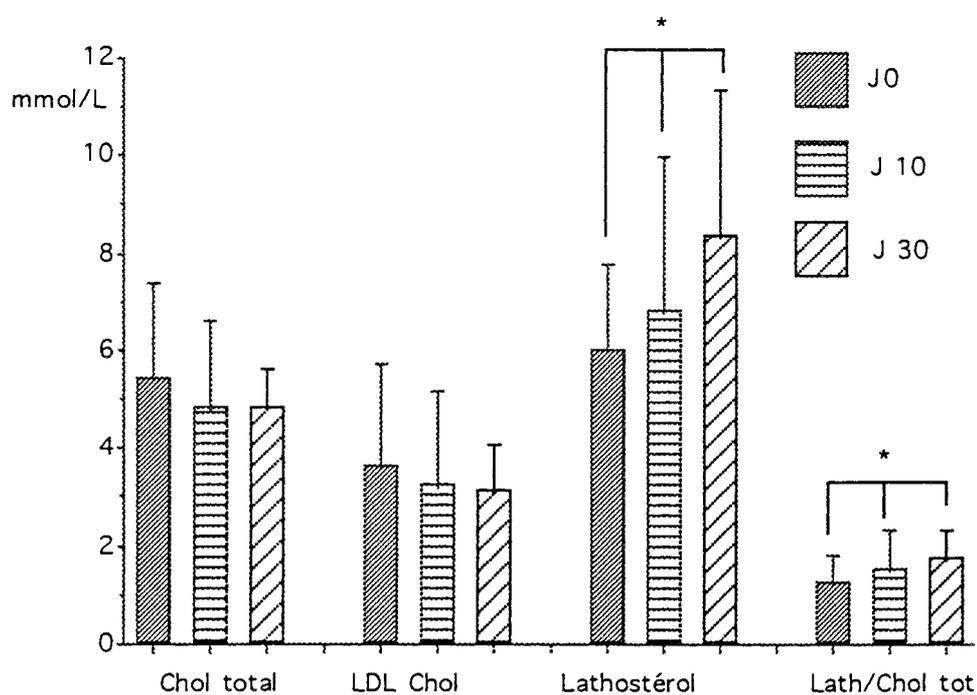
$r = 0,78, p < 0,001$



$r = 0,64, p < 0,01$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Figure n° 30 : Évolution du cholestérol total, du LDL cholestérol, du lathostérol et du rapport lathostérol/cholestérol total à J0, J10 et J30 chez les patients



* : $p < 0,05$. Analyse de variance multiple.

Les paramètres sont exprimés en moyenne \pm 1 écart type.

Chol : Cholestérol, Lath : Lathostérol ; tot : total

Tableau n° 41 : Bilan du cholestérol total et de ses sous-fractions, des apoprotéines B, AI, A II, des lipoprotéines Lp(a) :B, Lp A I et Lp A I :A II et du lathostérol à J0, J10 et J30 *

| | Chol Tot mmol/l | HDL chol mmol/l | LDL chol mmol/l | Apo B g/l * |
|----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| J 0 | 5,44± 1,96 | 1,37 ± 0,54 | 3,61± 2,09 | 0,79± 0,33 |
| J 10 | 4,88± 1,75 | 1,06± 0,52 ‡ | 3,28± 1,88 | 0,66± 0,25 † |
| J 30 | 4,82± 0,80 | 1,26± 0,59 † | 3,17± 0,9 | 0,60± 0,17 ‡ |
| Témoins | 5,04 ± 0,63 | 1,72 ± 0,32 | 3,09 ± 0,44 | 0,89 ± 0,09 |

| | Apo A I g/l | Apo A II g/l * | Lp A I g/l | Lp AI : A II g/l |
|----------------|-----------------------|--------------------------|----------------------|----------------------------|
| J 0 | 1,05± 0,28 ‡ | 0,29 ± 0,10 | 0,6 ± 0,22 | 0,44 ± 0,21 |
| J 10 | 0,99±0,18 ‡ | 0,28 ± 0,10 | 0,46 ± 0,10 | 0,18 ± 0,22 |
| J 30 | 1,06±0,18 ‡ | 0,34 ± 0,08 | 0,58 ± 0,20 | 0,49 ± 0,11 |
| Témoins | 1,63 ± 0,25 | | | |

| | Lp(a):B g/l ** | Lathostérol µmol/l * | Lath/Chol * |
|----------------|--------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| J 0 | 0,14 ± 0,13 | 5,99 ± 1,75 | 1,25 ± 0,59 |
| J 10 | 0,18 ± 0,22 | 6,82 ± 3,16 | 1,54 ± 0,75 |
| J30 | 0,19 ± 0,19 | 8,39 ± 2,96 ‡ | 1,75 ± 0,57 ‡ |
| Témoins | ND | 5,8 ± 0,4 | 1,16 ± 0,07 |

Les données sont exprimées en moyenne ± déviation standard.

Lath/Chol : Lathostérol/Cholestérol exprimé en rapport molaire x 103.

Chol : cholestérol ; Apo : apoprotéine ; Lp : lipoprotéine ; Tot : total

* Différence significative entre J0, J10 et J30, p < 0,05

(Analyse de variance répétée, ANOVA, BMDP, Software).

** Différence significative entre J 0 et J 30, p < 0,05

(Test de Wilcoxon, BMDP, Software).

† : Différence significative entre les témoins et les patients à J0, J10 ou J30 : p< 0,05

‡ : Différence significative entre les témoins et les patients à J0, J10 ou J30 : p< 0,01

6.5.3.2. Triglycérides, apo E et apo B, Lp C III:B et Lp E:B chez les patients

Ces paramètres n'ont pas pu être étudiés chez les témoins. Nous n'avons pas observé de variations des triglycérides, ni de l'Apo C III, ni de l'Apo E, ni des particules riches en triglycérides (Lp C III: B, Lp E:B) avec la renutrition.

Tableau n° 42 : Bilan des triglycérides, des apoprotéines E et C III et des lipoprotéines Lp C III:B et Lp E:B à J0, J10 et J30 *

| | Triglyc mmol/l | Apo C III mmol/l | Apo E mmol/l | Lp C III:B g/l | Lp E:B g/l |
|-------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------------------|---------------|
| J 0 | 1.01 ± 0.32 | 28.82 ± 9.33 | 78.79 ± 28.9 | 5.32 ± 2.25 | 11.29 ± 1.75 |
| J 10 | 1.18 ± 0.66 | 28.21 ± 10 | 69 ± 24.8 | 5.86 ± 3.38 | 11.38 ± 5.43 |
| J 30 | 0.88 ± 0.31 | 28.9 ± 10.04 | 81.43 ± 29.9 | 5.57 ± 3.77 | 12.86 ± 8 |

Les données sont exprimées en moyenne ± 1 déviation standard.

Ces paramètres n'ont pas été étudiés pour les témoins.

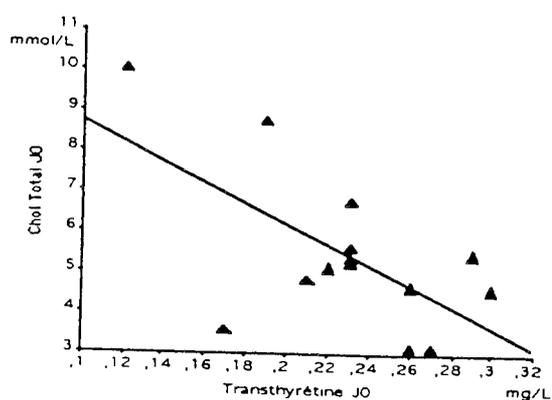
Aucune différence significative n'a été observée pour ces paramètres.

6.5.4. Corrélations entre les paramètres nutritionnels et les éléments du bilan lipidique

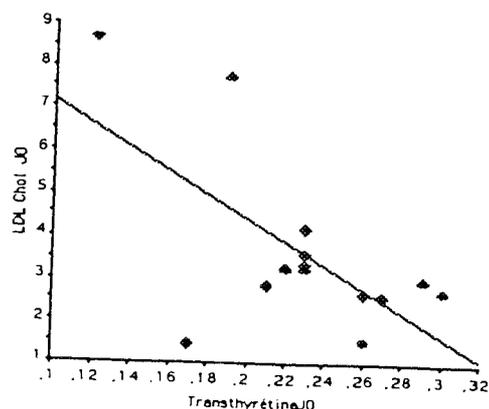
A J0 il n'y a aucune corrélation entre l'albumine et les paramètres du bilan lipidique, par contre, nous avons des corrélations négatives entre la transthyréline et le cholestérol total ($r = -0,62$, $p = 0,02$), le LDL cholestérol ($r = -0,62$, $p = 0,02$) et les triglycérides ($r = -0,69$, $p = 0,007$). Par ailleurs il y a une corrélation positive entre la transthyréline et la Lp A I:A II ($r = 0,58$, $p = 0,04$) (Figure n° 31 et 32).

Nous n'avons observé aucune variation du bilan endocrinologique avec la renutrition, et nous n'avons mis en évidence aucune relation entre les paramètres endocrinologiques et ceux du bilan lipidique.

Figure n° 31 : Corrélations entre la transthyréline et le cholestérol total puis le LDL cholestérol à J0



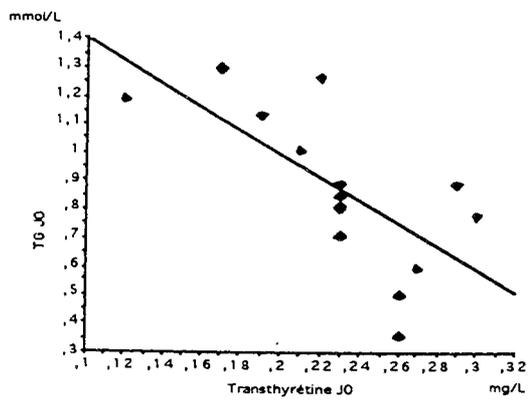
$$r = -0,62 ; p = 0,02$$



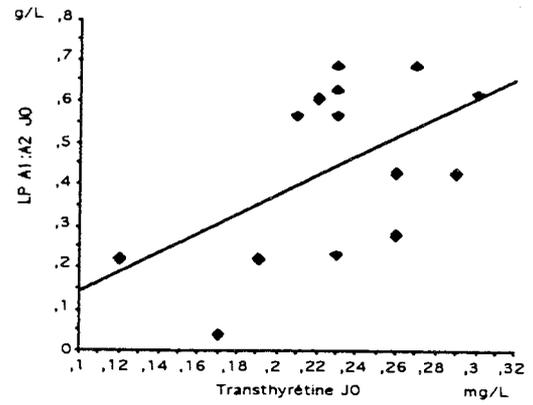
$$r = -0,62 ; p = 0,02$$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

Figure n° 32 : Corrélations entre la transthyréline et les triglycérides puis la Lp AI : A II à JO



$r = -0,69$; $p = 0,007$



$r = 0,58$; $p = 0,04$

Les corrélations entre les différents paramètres ont été analysées par le coefficient de Spearman Rank.

DISCUSSIONS

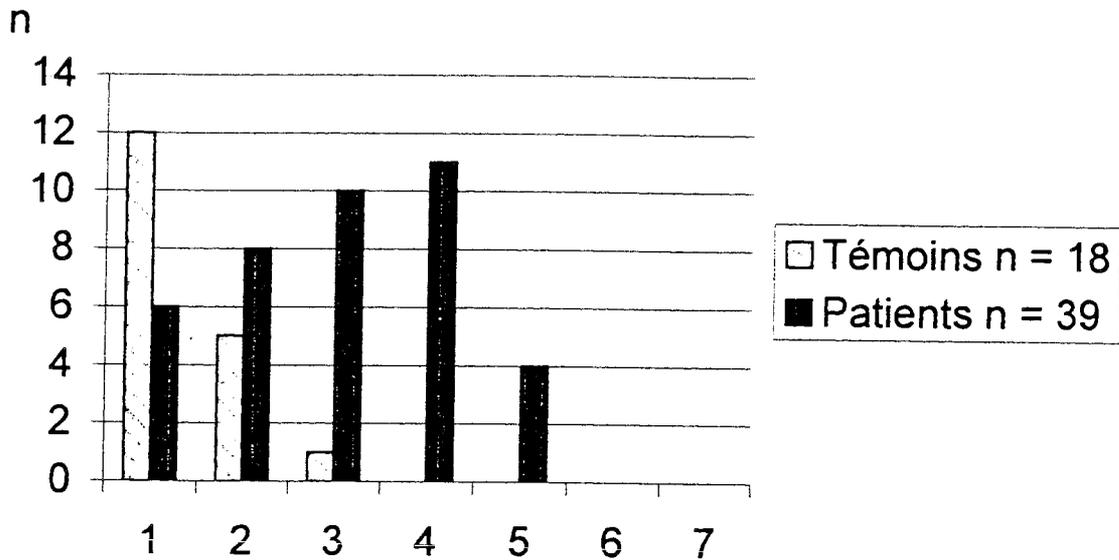
7.1. Études de la Cbl, de ses transporteurs et des analogues de la B12 dans la malnutrition marastique

La population que nous avons étudiée est composée d'enfants présentant une malnutrition de type marastique. Cette malnutrition s'est développée dans un milieu désertique indemne, ou presque de toute maladie infectieuse ou parasitaire spécifiquement tropicale. Cette caractéristique géographique explique probablement la grande rareté des kwashiorkors observés dans cette région du globe (HENDRICKSE 1985). En effet à Nouadhibou (ville du Nord Mauritanien) où s'est déroulée cette étude, il n'y a ni bilharziose, ni paludisme, ni parasitose digestive tropicale (amibiase, anguillulose). L'enquête alimentaire, aussi imparfaite soit elle, a permis de mettre en évidence la grande uniformité du régime de ces enfants. Leur régime comprend surtout des glucides d'action lente sous forme de riz, de semoule de couscous, de pommes de terre ou de pain. Les protéines animales (viande ou poisson) n'entrent dans l'alimentation que pour 10 à 15 % des enfants et toujours en très faible quantité (Figure n° 12). Les apports en Cbl sont difficiles à évaluer à partir de cette enquête ; néanmoins nous pouvons constater que les aliments riches en Cbl (foie, rognon, poisson, œuf, laitages) ne font pas ou très peu partie de leur alimentation (Tableau n° 10). Le statut maternel en Cbl conditionne le statut en Cbl du nouveau-né et du nourrisson, et ce d'autant plus que l'enfant est encore allaité. Les enfants que nous avons étudiés étaient âgés de 20,3 mois en moyenne dont la moitié était encore nourrie au sein. La quantité de Cbl dans le lait maternel, dépend du statut maternel. Quand celui-ci est déficient, comme on a pu le décrire chez des mères exclusivement végétaliennes, des carences précoces sont souvent observées chez ces jeunes enfants (HIGGINBOTTOM 1978, STOLLHOFF 1987, CASTERLINE 1997, ROSENBLATT 1999). En conclusion, nous pouvons nous attendre à observer des carences en Cbl étant donné le régime de ces enfants, leur bas âge et la faible quantité de protéines en général absorbée par les mères dans le contexte géographique et économique où a été réalisée cette étude.

Nous avons donc étudié une population présentant un déficit nutritionnel majeur. Cette malnutrition est authentifiée par l'anthropométrie, par les marqueurs protéiques nutritionnels (albumine et transthyrétine) et par le bilan des acides aminés qui montre chez les patients une variation significative des rapports d'AA décrits comme marqueurs de la sévérité de la malnutrition, en particulier le rapport AANE / AAE. La carence alimentaire explique en grande partie l'état de ces enfants. La participation de facteurs inflammatoires (en particulier infectieux) au moment de l'étude ou surtout dans les mois précédant l'étude est très probable, ces infections récurrentes étant connues comme facteur aggravant de la malnutrition (SCRIMSHAW 1968, CARNEY 1980). Néanmoins, comme nous le verrons plus loin, les facteurs inflammatoires ne semblent pas avoir une influence prépondérante sur les taux de Cbl sérique dans la population d'enfants marastiques. La Cbl plasmatique n'est pas un bon marqueur du déficit en Cbl (KANAZAWA 1985). Des marqueurs plus sensibles ont été proposés (NORMAN 1987, HERZLICH 1988, ALLEN 1988) comme le coefficient de saturation de la TC II (HERZLICH 1988). Dans notre étude, si nous observons quelque cas de Cbl basses, globalement nous n'avons mis en évidence ni déficit en Cbl, ni de taux bas de coefficient de saturation de la transcobalamine II (CS TC II).

La présence d'acide méthylmalonique (AMM) dans les urines est un marqueur fiable de déficit en Cbl (HIGGINBOTTOM 1978, HOLLELAND 1999). Nous avons étudié les acides organiques urinaires chez ces enfants dans un second temps, ce travail est présenté par ailleurs dans cette thèse. Nous n'avons pas mis en évidence d'excrétion d'AMM chez aucun de ces enfants. TERAN-GARCIA (1998) a étudié les acides organiques dans 4 populations d'enfants malnutris, à leur prise en charge et durant leur renutrition. Elle a observé un excrétion d'AMM chez certains enfants mais seulement après 8 jours de renutrition alors qu'initialement cette excrétion n'était pas anormale. Dans la littérature, les études concernant la vitamine B12 et la malnutrition sont relativement homogènes et n'ont pas objectivé de déficit en Cbl ; plusieurs auteurs (MAC DOUGALL 1960, SATOSKAR 1962, THANANGKUL 1975, OSIFO 1976) ont trouvé des taux de Cbl normaux voire élevés surtout en cas de kwashiorkor (MAC DOUGALL 1960). Il est difficile de dire que nous avons observé des déficits en Cbl ; néanmoins si nous comparons le statut en Cbl des patients et les témoins en fonction des critères définis par HERBERT (1988), nous observons que les témoins sont plutôt en excès de Cbl alors que les patients se situent plutôt dans les zones normales voire de balance négative en Cbl (Figure n° 33, p 134). Dans notre étude nous avons également observé des taux élevés de transcobalamines (TC) insaturées principalement la TC II. Nous n'avons pas observé d'augmentation significative des taux de TC II ni en fonction des index nutritionnel et inflammatoire ni avec le sevrage ni en fonction des enzymes hépatiques. La TC II est principalement synthétisée par le foie, or la synthèse protéique hépatique est globalement diminuée comme le montrent les taux bas d'albumine plasmatique observés chez les enfants marastiques. L'augmentation des TC insaturées en particulier de la TC II a été décrite dans de nombreuses pathologies, comme la maladie de Gaucher, les maladies auto-immunes, et la leucémie myéloïde chronique (RACHMILEWITZ 1971). Par ailleurs OSIFO (1983) a montré chez des enfants nigériens atteints de drépanocytose, une augmentation importante des TC insaturées par rapport aux témoins. Cette augmentation était particulièrement nette pour la TC II. Dans cette étude les TC insaturées totales (TC I + TC II + TC III) étaient fortement corrélées au nombre de globules blancs. La TC II considérée seule, n'était pas significativement corrélée à ce paramètre. A la lumière de ces données de la littérature, il est clair que l'évaluation de l'état inflammatoire dans notre étude est pour le moins partielle, et que des paramètres non étudiés comme le compte de globules blancs ou d'autres paramètres inflammatoires, auraient peut être permis de mieux comprendre cette augmentation des TC en particulier de la TC II insaturée. Normalement, la clairance de la Cbl portée par la TC II est très rapide. Le récepteur cellulaire a une préférence pour l'holo TC II par rapport à l'apo TC II (HALL 1978). La TC II plasmatique totale diminue en 30 minutes après administration de Cbl (DONALDSON 1977). Dans notre groupe patient, nous avons une augmentation importante de l'apo TC II alors que l'holo TC II est semblable à celle des témoins. Nos enfants malnutris ont des taux de Cbl normaux voire élevés et des taux de TC II élevés ; ils possèdent le complexe actif (Cbl-TC II) permettant à la vitamine B12 d'être utilisée au niveau cellulaire. De plus, nous n'avons pas observé d'excrétion AMM chez ces patients. Nous pouvons dire, qu'au moment de l'étude, il n'y a pas de déficit en Cbl chez ces enfants. Néanmoins, quand on classe les enfants malnutris en fonction du niveau de saturation de la TC II (HERBERT 1988) on voit que la plupart de ces enfants sont soit en statut normal, soit en balance de Cbl négative (Figure n° 33).

Figure n° 33 : Répartition des patients et des témoins en fonction de l'holotransCbl et du % de saturation de la transCbl II chez les patients et les témoins (HERBERT 1988)



Témoins :

1 : Holo TC > 225, TC II sat > 9% : B12 en excès
 2 : Holo TC > 180, TC II sat > 9% : Balance B12 +

Patients :

3 : Holo TC > 135, TC II sat > 9% : Statut B12 normal
 4 : Holo TC < 90, TC II sat < 9% : Balance B 12 -
 5 : Holo TC < 90, TC II sat < 3,5% : Déplétion en B12
 6 : Holo TC < 54, TC II sat < 1,8% : Déficit en B12
 7 : Holo TC < 54, TC II sat < 1,8% : Déficit en B12 + anémie

Les témoins se répartissent essentiellement dans les zones d'excès de Cbl ou de balance Cbl positive, alors que les patients se répartissent plutôt dans les zones de statut normal voire de balance négative en Cbl.

Les chutes des taux de Cbl après renutrition ont été observées par différents auteurs (SATOSKAR 1962, KHALIL 1973, THANANGKUL 1975). Ces taux ne sont pas extrêmement bas, néanmoins un déficit partiel "masqué" par les taux élevés initiaux peut se dévoiler lors de la renutrition. C'est ce que montre l'apparition secondaire d'une acidurie méthylmalonique à J8 de renutrition dans l'étude de TERAN-GARCIA (1998). Par conséquent, une supplémentation en Cbl lors de la renutrition de ces enfants est justifiée, sinon pour éviter un déficit vrai avec anémie mégaloblastique tout du moins refaire des réserves hépatiques.

L'étude des analogues de la vitamine B12 dans la malnutrition n'avait jamais été réalisée auparavant. Nous les avons trouvés très significativement augmentés chez nos enfants marastiques. La plupart de ces enfants (77%) présentait une diarrhée au moment de l'étude.

Il a été montré qu'une pullulation microbienne intestinale pouvait être à l'origine d'une synthèse de corrinoïdes (ALBERT 1980) et en particulier d'analogues de la B12 (BRANDT 1977) ce qui pourrait expliquer nos résultats. La captation hépatique des corrinoïdes se fait grâce à un récepteur asialoglycoprotéique (BURGER 1975). L'épuration des analogues de la B12 se fait essentiellement par voie hépatique. Après captation des analogues portés par les TC I et TC II, ceux-ci sont excrétés par voie biliaire. Comme leur affinité pour le facteur intrinsèque (FI) est beaucoup moins importante que la Cbl, ils ne sont que difficilement réabsorbés et sont éliminés (ALLEN 1975). Dans la malnutrition, l'atteinte hépatique est habituelle. Même si nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative du taux d'analogues en fonction du taux d'ALAT, il est possible que l'atteinte hépatique de la malnutrition ait joué un rôle dans l'augmentation du taux d'analogues que nous avons observés chez les patients par rapport aux témoins (HERBERT 1979). Les analogues ont été accusés d'une neurotoxicité (SIDDONS 1975) différente de celle induite par une carence en Cbl (RENAULT 1999, STOLLHOFF 1987, LINDENBAUM 1988). Nous n'avons retrouvé chez nos patients aucune anomalie de l'examen neurologique clinique ; par contre, ils présentaient tous un retard d'acquisition psychomotrice. La plupart de ces enfants se tenaient assis, ils ne savaient pratiquement pas s'alimenter seuls, ne se tenaient pas debout et ne parlaient pas malgré un âge de 20 ± 6 mois. Ce retard était probablement en rapport avec l'état de malnutrition et le contexte socio-culturel (pauvreté, absence de stimulation ...), mais la responsabilité des analogues de la B12, si elle n'est aucunement prouvée, pourrait peut être expliquer une partie du retard psychomoteur que présentent ces enfants.

Notre étude qui porte essentiellement sur une population marastique retrouve des taux de Cbl très dispersés allant de valeurs basses à des valeurs parfois très élevées. Nous avons étudié plusieurs facteurs pouvant influencer les taux de Cbl plasmatique. Tout d'abord nous avons observé une augmentation significative des taux de Cbl lorsque les ALAT étaient plus élevées. Ceci rejoint l'hypothèse émise par plusieurs auteurs (SATOSKAR 1962, KHALIL 1973, THANANKGHUL 1975, OSIFO 1976) quant à la responsabilité de l'hépatopathie de la malnutrition dans ces taux élevés de Cbl plasmatique. Les hypothèses les plus souvent avancées consistent à évoquer un trouble dans les capacités de stockage de la Cbl ou un relargage accru de la Cbl hépatique. Néanmoins, les valeurs de cytolyse sont peu élevées, et cliniquement, ces enfants ne présentaient pas d'hépatomégalie pour la plupart. Des taux élevés de Cbl plasmatique ont été retrouvés chez des patients porteurs d'hépatite alcoolique alors que leur taux tissulaire hépatique en Cbl était bas (HALSTED 1959, HERBERT 1979, BAKER 1987). Cette déplétion tissulaire peut être masquée par des taux plasmatiques normaux ou parfois très élevés (KANAZAWA 1985, DJALALI 1989). Ces données ont été interprétées comme un relargage de la Cbl et de ses transporteurs des stocks hépatiques dans la circulation en cas de dommage hépatique (LINDENBAUM 1980, BAKER 1987). RACHMILEWITZ (1972) a montré ce relargage de la Cbl hépatique dans le sang après avoir induit une insuffisance hépatique chez le chien. Enfin chez le patient cirrhotique, la capacité à stocker la Cbl au niveau hépatique est altérée (BAKER 1983). Toutes ces données montrent bien la répercussion de l'état hépatique sur les taux de Cbl plasmatiques. Chez nos enfants, les anomalies biologiques hépatiques sont mineures, mais indiscutablement, nous observons un taux plus élevé de Cbl plasmatique chez les enfants à ALAT plus élevées.

Nous observons dans notre étude des taux de Cbl plasmatique significativement plus élevés en cas d'index nutritionnel plus bas, d'index inflammatoire plus élevé ou de sevrage plus lointain. Plus les marqueurs de la malnutrition sont importants, plus les taux de Cbl plasmatique sont élevés. Nous nous trouvons donc dans cette situation paradoxale d'un statut vitaminique apparemment d'autant meilleur que la maladie nutritionnelle est plus marquée. Ce sont les enfants qui présentent la malnutrition la plus grave qui ont les taux les plus élevés de Cbl plasmatique alors que la plupart d'entre eux n'ont pas de protéines animales dans leur alimentation. L'explication de ces taux élevés de Cbl plasmatique ne se trouve donc pas au niveau de l'apport nutritionnel exogène. Une synthèse intraluminaire de Cbl par l'écosystème bactérien intestinal a pu être démontrée (ALBERT 1980), mais des déficits en Cbl ont été observés en cas de pullulation microbienne intestinale comme dans les "syndrome de l'anse borgne" (GIANNELLA 1972) ; 77% des enfants malnutris présentaient une diarrhée au moment de l'étude ; ces diarrhées étaient principalement d'origine bactérienne étant donné la quasi absence de parasitoses intestinales dans ce milieu désertique et l'importance des taux de C-réactive protéine qui est une protéine réagissant plus aux infections bactériennes et mycotiques qu'aux infections virales. L'hypothèse d'une synthèse intraluminaire de Cbl ne peut donc être écartée.

Dans la littérature, différents auteurs (SATOSKAR 1962, KHALIL 1973, THANANGKUL 1975) ont remarqué une chute des taux de Cbl après renutrition. Cette augmentation de la Cbl dans les formes de malnutrition les plus graves peut s'expliquer par :

- une atteinte tissulaire (hépatique ou autre) liée à la malnutrition
- une hyperproduction en particulier par l'écosystème bactérien intestinal , mais alors pourquoi les différents auteurs observent-ils une chute rapide lors de la renutrition, voire même des signes de déficit en Cbl avec l'apparition d'une AMM ?
- Une conséquence de l'augmentation des taux de TC I et III qui captent au niveau sanguin la Cbl ; cette augmentation serait liée à l'état inflammatoire ou à d'autres facteurs
- Une adaptation métabolique à la malnutrition avec une moindre utilisation de la Cbl au niveau cellulaire

La chute de la Cbl lors de la renutrition pourrait s'expliquer soit par une récupération du stockage hépatique, ou par une captation cellulaire accrue, avec la normalisation du métabolisme de l'organisme : ces deux facteurs conjoints pourraient démasquer un déficit en Cbl lors de la renutrition de ces enfants marastiques.

En conclusion nous pouvons dire que :

- Nous observons des taux élevés de Cbl dans la malnutrition, et que ces taux sont d'autant plus élevés que la malnutrition est plus grave. Ceci pourrait être la conséquence de l'hépatopathie, classique dans la MPE, l'état inflammatoire, même si cela ne ressort pas clairement des paramètres que nous avons étudiés.

- Ces taux élevés de Cbl ne veulent pas dire que ces enfants soient en excès tissulaire de Cbl ; l'étude du coefficient de saturation de la TC II nous montre bien que la plupart de ces enfants ont un statut normal ou en balance de Cbl négative. Une supplémentation en Cbl reste indispensable lors de la prise en charge nutritionnelle de ces enfants.

- Les taux élevés des analogues de la B12 pourraient être la conséquence d'une production accrue au niveau intestinal, ou d'une perturbation du métabolisme hépatique dont un des rôles est d'éliminer ces analogues par voie biliaire.

7.2 Étude des acides organiques(AO) dans la MPE de l'enfant

Cette étude a été réalisée sur la même population d'enfants malnutris que les études concernant le statut en Cbl et le bilan lipidique dans le marasme. Par conséquent nous ne reprendrons pas la discussion sur les caractéristiques anthropométriques de ces patients qui présentent une malnutrition marastique selon la classification de WELLCOME (ANONYME 1970). Nous avons également utilisé les marqueurs protéiques nutritionnels (albumine et transthyréline) et inflammatoires (CRP et orosomucoïde). L'analyse de ces protéines montre, dans notre population, des taux significativement abaissés des marqueurs protéiques nutritionnels et des taux augmentés mais très dispersés des marqueurs inflammatoires. Enfin nous avons étudié les acides aminés plasmatiques et en particulier les rapports d'acides aminés (AANE/AAE) qui sont également des marqueurs de la sévérité de la malnutrition. Ces rapports sont augmentés dans notre groupe de patients, ce qui authentifie, une fois de plus, la sévérité de la malnutrition de ces enfants par rapport au groupe témoin. Le but de cette étude était de déterminer si nous pouvions identifier un ou des profils d'AO compatibles avec un déficit en vitamines du groupe B dans une population marastique du Nord Mauritanien. Nous voulions également déterminer, si nous trouvions des profils compatibles avec un déficit, et si ce ou ces déficits étaient reliés à la sévérité de la malnutrition ; sévérité établie par des marqueurs anthropométriques, et/ou biologiques. Nous pensions pouvoir trouver des profils compatibles avec des déficits en cobalamine (CASTERLINE 1997), en thiamine (TANG 1989, NAKASAKI 1997), en biotine (VELAZQUEZ 1989) ou en riboflavine (GOODMAN 1981, GREGERSEN 1982b). Nous avons étudié les acides organiques dans une population d'enfants marastiques selon la classification de WELLCOME (Anonyme 1970) et nous avons constaté des paramètres protéiques nutritionnels très abaissés, nous allons d'abord discuter les résultats bruts des profils d'acides organiques urinaires que nous avons observés, puis nous discuterons la relation que ces profils peuvent avoir avec les marqueurs nutritionnels.

Dans notre population, chez 10 enfants sur 38 (26,3%), nous avons observé un profil d'AO comprenant une excrétion excessive d'acides éthylmalonique (EMA) et adipique (Figure n° 20)(Tableau n° 22 et 23) associés une excrétion plus modérée d'autres acides dicarboxyliques (Acides succinique, β -CH₃-succinique, glutarique, azélaïque et subérique). Ce profil est connu pour être celui que l'on trouve dans une maladie métabolique héréditaire : l'acidurie glutarique de type II (AMENDT 1986, VON DOBELN 1993) et dans les déficits en riboflavine (LARGILLIERE 1993, ELIAS 1997, CAPO-CHICHI 2000). La rareté des déficits héréditaires (déficits multiples en Acyl-CoA déshydrogénases, déficits en acyl-CoA déshydrogénases à courte chaîne, déficits en ETF ou ETF Qo) conduisant à cette acidurie éthylmalonique et adipique ou à des syndromes de Reye rend très improbable la responsabilité de tels déficits dans les profils que nous avons observés chez 10 enfants marastiques. En conséquence, il est presque certain que les profils que nous avons observés sont liés à une carence nutritionnelle.

Nous avons fait une enquête alimentaire qualitative chez les patients afin d'estimer le type d'aliments ingérés par ces enfants (Figure n° 12). Le régime de ces enfants est essentiellement composé de riz, de semoule de couscous, de pain et de lait ; parfois on trouve du poisson ou encore de la viande en quantité probablement très faible.

Une évaluation précise des quantités ingérées par ces enfants était impossible dans les conditions de réalisation de l'enquête alimentaire. Ce régime peut théoriquement conduire à une carence en riboflavine, car les principaux aliments sus-cités sont tous pauvres en riboflavine (Tableau n° 12). Récemment, nous avons montré, dans une autre population d'enfants atteints de MPE (enfants du Bénin et du Togo), que ce profil était observé chez des enfants ayant des taux de Rf plasmatique élevés mais qui, par ailleurs, ont un déficit de la conversion de la riboflavine en ses cofacteurs flavine mononucléotide (FMN) et flavine adénosine dinucléotide (FAD). Par conséquent il y a un déficit d'activité des acyl Coa déshydrogénases conduisant au profil d'AO que nous observons. Ce déficit de conversion pourrait être lié à un déficit en T3 qui est indispensable à la conversion de la Rf en ses cofacteurs (CAPO-CHICHI 2000).

Cette acidurie organique est donc probablement liée soit à un déficit en Rf, soit à un déficit en ses cofacteurs du fait de l'hypothyroïdie classique dans les formes graves de malnutrition. La conséquence de ce déficit en FMN et surtout FAD est une altération de la β -oxydation mitochondriale avec blocage dans l'oxydation des acides gras. Dans ces cas, il y a toujours une stéatose hépatique que ce soit lors des déficits héréditaires en Acyl Coa déshydrogénases (VON DOBELN 1993) ou en cofacteur FAD (LARGILLIERE 1993). La stéatose hépatique est très fréquemment trouvée dans la MPE de l'enfant. Sa pathogénie est encore sujette à discussion. Les hypothèses avancées sont une augmentation de la synthèse hépatique des graisses (MAC DONALD 1963), une redistribution des lipides des adipocytes (LEWIS 1964), une sécrétion inadéquate de lipoprotéines et d'apoprotéines (FLORES 1970), une anomalie de l'activité de la lipoprotéine lipase (AGBEDANA 1979), une origine toxique (mycotoxines) (HENDRICKSE 1984), une dysfonction peroxysomale (DOHERTY 1991) ou une anomalie de la β -oxydation mitochondriale des acides gras (LEUNG 1986). Le profil que nous avons observé chez 10 des 38 enfants atteints de marasme est probablement le reflet d'une altération de la β -oxydation mitochondriale des acides gras par déficit en cofacteur FAD. Nous ne pouvons pas affirmer que les enfants étudiés avaient une stéatose hépatique, mais, en considérant la fréquence de la stéatose hépatique dans la MPE, nos résultats sont en faveur d'une participation au moins partielle de l'altération de la β -oxydation des acides gras par le biais d'un déficit de cofacteur FAD dans la genèse de cette stéatose hépatique.

Pour évaluer la sévérité de la malnutrition, nous avons étudié les marqueurs nutritionnels classiques et aussi les rapports d'acides aminés proposés dans la littérature (WHITEHEAD 1964a, 1964b). Nous avons d'ailleurs trouvé des corrélations positives entre ces différents marqueurs de malnutrition avec en particulier une corrélation positive entre l'index protéique nutritionnel (albumine x transthyréline) et certains acides aminés essentiels et également avec la somme des acides aminés ramifiés. Nous avons également trouvé des corrélations négatives entre ce même index nutritionnel et les rapports d'acides aminés (GLY/SER, GLY/VAL + ILE + LEU et AANE / AAE). Ces corrélations valident l'intérêt des rapports d'AA dans notre population de malnutris.

Nous nous attendions à trouver les profils pathologiques d'AO dans le groupe de patients le plus malnutris. C'est au contraire dans le groupe sans excrétion d'EMA que nous avons trouvé les marqueurs de gravité nutritionnelle.

Il n'y a que peu d'études dans la littérature sur les acides organiques dans la malnutrition. On trouve des travaux sur les différents profils observés dans certains déficits vitaminiques essentiellement la riboflavine (VEITCH 1989), la biotine (MOCK 1985) et la cobalamine (NORMAN 1987, SPECKER 1988). Une étude a été publiée récemment par notre groupe sur les acides organiques dans l'anorexie mentale (CAPO-CHICHI 1999). Nous avons observé le même profil d'acidurie éthylmalonique et adipique. Nous n'avons pas trouvé de déficit en Rf chez ces jeunes filles qui avaient cette excrétion d'AO, mais nous avons trouvé un déficit de la conversion de la riboflavine en ses cofacteurs (FMN et FAD) en relation probable avec une hypothyroïdie fonctionnelle. Nous décrivons dans cette thèse un travail où nous avons réalisé la même étude dans deux groupes d'enfants malnutris du Togo et du Bénin (CAPO-CHICHI 2000). Nous avons trouvé chez ces enfants le même profil d'acidurie éthylmalonique et adipique, ce profil étant présent chez les enfants du Togo et pas chez ceux du Bénin, alors que ces derniers avaient une malnutrition plus grave et une hypothyroïdie plus importante que ceux du Togo (CAPO-CHICHI 2000).

En résumé les études que nous avons menées sont homogènes dans leurs résultats, avec en réalité l'absence de déficit en riboflavine (tout au moins les taux circulants ne sont pas abaissés) ; par contre un défaut de conversion de cette vitamine en ses cofacteurs entraînent un déficit fonctionnel qui s'exprime par l'excrétion urinaire d'EMA. Ces résultats semblent liés à l'hypothyroïdie observée chez ces enfants. TERAN-GARCIA en 1998 a récemment publié une étude sur les AO dans la MPE de l'enfant (TERAN-GARCIA 1998). Cette étude a été réalisée dans 4 groupes d'enfants avec différents types de malnutrition et les acides organiques ont été évalués à trois reprises au cours de la renutrition. Cet auteur a trouvé dans 50% des cas une excrétion anormale d'AO, compatible avec un déficit de la voie métabolique du propionate (acidurie propionique ou méthylmalonique), ou compatible avec un déficit de la β -oxydation des acides gras, comme nous l'avons observé dans notre propre étude. Le plus intéressant dans cette étude est que l'excrétion quantitativement la plus abondante est trouvée au temps intermédiaire de la renutrition (8 jours) et non immédiatement au début de la prise en charge nutritionnelle. Ensuite les profils d'acides organiques se normalisent après 30 jours de renutrition. Cette étude est compatible avec nos résultats, bien qu'ils n'aient pas corrélés l'excrétion des acides organiques au statut nutritionnel de leurs enfants. En effet, au début de la prise en charge, la malnutrition est sévère, et l'hypothyroïdie est souvent importante. A ce moment, il y a peu ou pas d'AO, dès que la renutrition est entreprise, l'organisme se remet en anabolisme et ses besoins en micronutriments augmentent, c'est à ce moment que peuvent se dévoiler les déficits vitaminiques et c'est ce que montre l'étude de TERAN-GARCIA. L'excrétion urinaire d'acides organiques est finalement le reflet d'une balance entre l'activité métabolique de l'organisme et la disponibilité de cet organisme en micronutriments vitaminiques. Dans la malnutrition sévère, l'activité métabolique est basse, avec une hypothyroïdie souvent importante, qui diminue la dépense énergétique de l'organisme et ses besoins métaboliques. A ce moment, les déficits ne s'expriment pas car la demande métabolique diminuant, elle n'est plus supérieure à l'offre que peut proposer l'organisme et ses réserves en micronutriments.

Lors de la renutrition, l'activité métabolique va croître, et par conséquent la balance entre cette demande métabolique et les disponibilités de l'organisme en micronutriments devient déficitaire et le déficit va pouvoir s'exprimer par une excrétion anormale d'acides organiques urinaires par exemple. Ces résultats paradoxaux que nous avons observés (aspect de déficit vitaminique chez les patients les moins graves et absence de marqueurs de déficit chez les patients les plus graves) sont donc probablement liés à l'adaptation métabolique au jeûne.

En conclusion, l'étude des acides organiques urinaires n'est pas un bon index de déficit vitaminique dans la malnutrition protéino-énergétique de l'enfant, car si cet examen dépiste des déficits fonctionnels des voies métaboliques vitamino-dépendantes, il ne les trouve que chez les patients les moins dénutris. Il ne faudrait bien entendu pas tenir compte de ces résultats pour ne pas supplémenter en vitamines B les patients malnutris au cours de leur rénutrition, car, au contraire, les patients qui ne présentent pas de profils d'acides organiques anormaux, sont souvent les plus graves et les déficits vont se dévoiler au cours de la renutrition. La supplémentation en vitamine du groupe B est donc indispensable dans tous les cas, surtout lorsque l'activité métabolique de l'organisme est relancée par la renutrition et qu'alors la balance entre les besoins en micronutriments et les réserves de l'organisme risque de devenir très négative.

7.3. Discussion de l'étude de la riboflavine et des flavocoenzymes dans la MPE

Nous avons étudié les paramètres anthropométriques, les marqueurs de l'état nutritionnel et inflammatoire, le statut des hormones thyroïdiennes, le statut de la riboflavine (Rf) et de ses cofacteurs en parallèle avec l'excrétion urinaire en acides organiques chez des patients souffrant de MPE. Cette étude a été réalisée chez des jeunes enfants souffrant de marasme et de kwashiorkor, provenant de 2 zones géographiques différentes : (savane béninoise (B) et côte togolaise (T)). Les résultats de notre étude montrent que la MPE provoque une perte de poids sévère et une diminution du BMI à des valeurs inférieures à 13 kg/m² dans la MPE du jeune enfant. Chez les jeunes enfants souffrant de MPE, la perte de poids est associée à une baisse sévère des concentrations plasmatiques en albumine, transthyrétine et transferrine. Ces paramètres sont plus abaissés dans le groupe B comparé au groupe T et aux témoins, et dans le groupe kwashiorkor comparé au groupe marasme et aux témoins. L'utilisation de ces paramètres nutritionnels nous permet de différencier les enfants sévèrement malnutris (groupe B) des enfants modérément malnutris (groupe T) alors que la seule considération du BMI ne nous permet pas de faire cette distinction. L'utilisation du rapport AANE/AEE dans la MPE montre que ce paramètre est plus élevé dans le kwashiorkor comparé au marasme et aux témoins. La concentration en méthionine plasmatique est plus faible dans le kwashiorkor que dans le marasme comme l'avaient rapporté des études précédentes (ARROYAVE 1962, ROEDIGER 1995). Cette baisse sévère de la concentration de la méthionine chez les enfants souffrant de kwashiorkor a été incriminée dans l'apparition de troubles neurologiques (CLIFF 1985), de la stéatose hépatique (NAKUMURA 1967) et des diarrhées (BROWN 1988) qui sont des manifestations présentes dans le kwashiorkor. L'enquête nutritionnelle que nous avons réalisée est uniquement qualitative ; elle ne met pas en évidence de différence entre les enfants du Bénin et du Togo sur le type de protéines alimentaires ingérées par ces enfants. Les enfants provenant du groupe Bénin, dont la majorité a une malnutrition de type kwashiorkor, ont une diminution importante des concentrations en protéines dites nutritionnelles (albumine, transthyrétine, transferrine). D'ailleurs la théorie selon laquelle, le développement du kwashiorkor serait spécifiquement la conséquence d'un apport alimentaire faible en protéines est actuellement remise en cause (GOPALAN 1968, BRIEND 1998). Ces enfants malnutris ont des concentrations plasmatiques en protéines indicatrices de l'état inflammatoire (CRP, Orosomucoïde) très élevées comparées à celles des témoins. Cette observation montre que l'association MPE et infections est quasi systématique dans les pays tropicaux. Cet état inflammatoire peut être à l'origine de la malnutrition : le catabolisme qu'il induit, va décompenser un état nutritionnel médiocre et entraîner l'enfant dans la malnutrition grave. L'état de dénutrition s'accompagne d'une baisse des concentrations plasmatiques en T4 et T3 dans la malnutrition, ceci s'observe d'ailleurs aussi bien dans la MPE que dans l'AM (INGENBLEEK 1975a, ONUORA 1983, KIYOARA 1989, KOMAKI 1992). Ce syndrome de basse T3 semble avant tout être un phénomène d'adaptation de l'organisme à la dénutrition, pour diminuer la dépense énergétique et la synthèse des protéines sans importance vitale (muscles striés). Dans notre étude, la baisse de la T4 et de la T3 plasmatiques est d'autant plus marquée que la malnutrition est plus sévère.

La baisse de la T3 est fortement corrélée à la diminution de la concentration plasmatique en albumine et en transferrine chez les enfants malnutris des groupes B et T.

L'altération du statut des hormones thyroïdiennes est plus sévère dans le kwashiorkor que dans le marasme. La concentration plasmatique de la TSH chez les enfants des groupes B et T et dans le sous-groupe marasme n'est pas significativement différente de celle des témoins. Cependant, les enfants souffrant de kwashiorkor ont une TSH plus élevée que les enfants souffrant de marasme et les témoins, ce qui est le reflet des taux plus bas de T3 et T4 dans le sous-groupe kwashiorkor. La présence de thiocyanates chez les enfants souffrant de kwashiorkor (KAMALU 1993) s'accompagne d'une élévation de TSH plasmatique (BOURDOUX 1978), les thiocyanates agissant comme des inhibiteurs compétitifs pour le transport d'iode (LARSEN 1998) ; ceci pourrait aggraver une hypothyroïdie d'origine périphérique et par conséquent augmenter la TSH. Néanmoins, la sécrétion de TSH observée dans le kwashiorkor est inférieure à celle habituellement observée dans le goitre endémique (AQUARON 1990) qui est dû essentiellement à un déficit en iode. Chez les enfants souffrant de MPE, la baisse importante de la T4 et de la T3 dans le plasma des enfants du groupe B comparé au groupe T montre la sévérité plus grande de la malnutrition chez les enfants provenant de la savane (groupe B) par rapport à ceux qui habitent une région côtière (groupe T) où l'air marin est plus chargé en iode. La responsabilité d'un déficit en iode dans la genèse de l'hypothyroïdie que nous avons observée est peu probable car le rapport T3/T4 des enfants souffrant de kwashiorkor ou de marasme n'est pas différent de celui des témoins, contrairement à ce qui a été observé chez les individus carencés en iode ou ayant un goitre endémique (HERSHMAN 1983 , AQUARON 1990). Cependant, la baisse significative du rapport FT3/FT4 dans le groupe B comparé au groupe T et aux témoins, suggère une diminution de la conversion périphérique de la FT4 en FT3 (forme la plus active des hormones thyroïdiennes) et une orientation de la conversion périphérique de la FT4 en rT3 (forme non active des hormones thyroïdiennes) (MAC NABB 1993 - 1995).

Les dosages de la Rf, du FMN et du FAD sont cohérents avec ce qui est publié dans la littérature. Les concentrations plasmatiques en vitamine B2 obtenues par électrophorèse capillaire chez des sujets sains adultes (HUSTAD 1999) ont des valeurs en Rf (2,7 - 42,5 nmol/l), FMN (3,5 - 13,3 nmol/l) et FAD (44,5 - 78,1 nmol/l) comprises dans les mêmes fourchettes que les concentrations que nous avons trouvées dans le plasma des enfants témoins (Tableaux n° 28). Cette comparaison entre les deux méthodes montrent que quelle que soit la méthode d'analyse utilisée, la teneur des vitamines B2 dans le plasma ne change pas chez les sujets ayant une alimentation équilibrée.

Physiologiquement, la biosynthèse des flavocoenzymes est stimulée par la triiodothyronine (T3) (RIVLIN 1966 - 1969, MAC CORMICK 1985). La baisse des concentrations en T4 et T3 dans la malnutrition pourrait avoir pour effet de diminuer la conversion de la Rf en cofacteurs actifs FMN et FAD (RIVLIN 1966 - 1969, LEE 1985, CIMINO 1987, BELL 1992) qui sont des coenzymes essentiels pour l'activité des enzymes impliquées dans les réactions d'oxydoréduction et le transfert d'électrons des coenzymes réduits vers la chaîne respiratoire mitochondriale (HOPPEL 1979). Dans les conditions physiologiques, la majorité des réserves cellulaires en Rf est sous forme de FAD et de FMN, liées aux enzymes qui les utilisent comme cofacteurs (BATES 1997).

La conversion de Rf en FMN puis en FAD nécessite la présence d'ATP et de cations divalents, préférentiellement le Zn^{2+} pour la RF kinase et le Mg^{2+} pour la FAD synthétase (YAMADA 1990). Une déplétion en énergie ou en zinc (KHANUM 1988, SIMMER 1988, MAC CLAIN 1992) pourrait aussi diminuer l'activité des enzymes responsables de la conversion de la Rf en ses cofacteurs, chez les sujets euthyroïdiens mais carencés en zinc. En effet, dans le groupe B, deux patients ayant des concentrations normales en T3 et T4 présentent un défaut de conversion de la Rf en cofacteurs, suggérant qu'il existe d'autres facteurs que la T3, qui influencent l'activité de la RF kinase dans la malnutrition.

Jusqu'à présent, les études sur le statut de la Rf dans la malnutrition ont porté sur une estimation indirecte du statut du FAD érythrocytaire par le coefficient d'activité de la glutathion réductase (AJAYI 1984, VAN BINSBERGEN 1988, ROCK 1995). Dans notre étude, la concentration de la FAD plasmatique est diminuée dans la MPE infantile, mais cette diminution est plus importante dans le groupe B comparé au groupe T et aux témoins. Dans la malnutrition sévère, la concentration en Rf plasmatique est très élevée et supérieure à celle de la FAD. Cette observation a été faite chez 68% des enfants du groupe B et 3% des enfants du groupe T. Il n'y a pas de différence dans les concentrations plasmatiques en FMN entre les enfants malnutris et des témoins. La baisse en Rf plasmatique est observée chez 23% des enfants du groupe B et 4% des enfants du groupe T. Les rapports FMN/Rf et FAD/Rf sont positivement corrélés ($r = 0,72$; $p < 0,001$) et suggèrent que la synthèse de la FAD est limitée par l'activité de la Rf kinase. Les patients ayant des concentrations très faibles en T3 ont une augmentation de la concentration plasmatique de la Rf et une baisse de la concentration de la FAD plasmatique (Tableau n° 28). La concentration en Rf plasmatique est négativement corrélée à la concentration plasmatique de la T3. De même, une corrélation positive est trouvée entre la T3 et les rapports des coenzymes flaviniques à la Rf (FMN/Rf, FAD/Rf). Ces rapports pouvant traduire le fonctionnement de la riboflavine kinase. Cette corrélation positive avec la T3 montre le rôle de cette hormone qui est un activateur de la riboflavine kinase. Comme le montrent les Figures n° 23 et n° 24, la distribution de la riboflavine en fonction du taux d'albumine ou de transferrine est paradoxal. En effet nous nous serions attendus, à priori, à trouver les taux les plus élevés de Rf lorsque l'état nutritionnel (Alb et Transf élevées) est meilleur, mais c'est l'inverse que nous avons observé. Tous les patients qui ont des taux d'albumine ou de transferrine normaux, ont des taux de Rf plasmatique normaux ou en-dessous de la normale ; à l'opposé, tous les patients qui ont des taux de Rf élevés ont des taux d'albumine ou de transferrine inférieurs à la norme. Cette analyse montre les mêmes résultats quand on compare les taux de Rf et les taux de T3. Ceci est logique compte tenu de la corrélation positive que nous avons observée entre la T3 et les protéines nutritionnelles. En résumé, ce sont les taux les plus élevés de Rf plasmatique qui sont des index de malnutrition sévère, les taux normaux ou bas n'étant pas discriminants et peuvent se voir chez les enfants avec des index protéiques de malnutrition sévère ou non.

Les vitamines B2 érythrocytaires sont représentatives des réserves cellulaires (BATES 1997). L'analyse de la Rf et de ses cofacteurs dans les érythrocytes a montré que la Rf est en concentration plus importante dans les érythrocytes de 10% des enfants malnutris du groupe Bénin, contrairement aux témoins chez qui la Rf est à l'état de trace.

Une partie importante de la Rf qui entre dans les érythrocytes ne semble pas être métabolisée en flavocoenzymes chez ces patients contrairement aux témoins. Les concentrations en FAD et FMN érythrocytaires ne sont pas affectées par la malnutrition, aussi bien dans la MPE que dans l'anorexie mentale (CAPO-CHICHI 1999).

Dans une carence expérimentale en riboflavine provoquée chez le rat, il a été démontré que le déficit en flavocoenzymes hépatiques précède le déficit en flavocoenzymes plasmatiques (BRIJLAL 1996) et donne lieu à une altération du métabolisme de l'activité des acyl-CoA déshydrogénases hépatiques et une excrétion urinaire importante d'acides dicarboxyliques et de leurs conjugués à la glycine (VEITCH 1989). La FAD est le cofacteur des acyl-CoA déshydrogénases intervient dans la β -oxydation des acides gras et dans le catabolisme des acyl-CoA à courte chaîne dérivant d'acides aminés ramifiés (valine, leucine, isoleucine). Or, notre étude montre que la FAD plasmatique est le cofacteur le plus affecté par la malnutrition sévère ; cette baisse de la concentration plasmatique pourrait être secondaire à une baisse de la concentration hépatique en FAD. La carence hépatique en FAD peut être secondaire à une baisse d'entrée de la Rf dans les cellules hépatiques ou à une baisse du taux de conversion de la Rf en ses cofacteurs. En présence de substrats, lorsque la β -oxydation mitochondriale ne fonctionne pas normalement suite à une diminution de l'activité des acyl-CoA déshydrogénases par manque de cofacteur FAD hépatique (ou par déficit enzymatique lié à une erreur innée du métabolisme), une partie des acides gras à longue chaîne va subir une ω -oxydation microsomale pour former des acides dicarboxyliques à longue chaîne (HOPPEL 1979, GREGERSEN 1982a). Ces derniers vont subir une β -oxydation peroxysomale pour être transformés en acides dicarboxyliques à chaîne moyenne (sébacique, subérique et adipique) qui sont excrétés dans les urines (Figure n° 20). Les acyl-CoA qui vont subir la β -oxydation mitochondriale vont aboutir à la formation de butyryl-CoA ; ce dernier sera transformé en acides éthylmalonique et succinique (acide gras à courte chaîne) du fait de la baisse d'activité de la butyryl-CoA déshydrogénase (HOPPEL 1979). Ces acides organiques à chaîne moyenne et courte, anormalement formés, sont excrétés dans les urines. De même, les acyl-CoA à courte chaîne provenant du catabolisme des acides aminés sont, soit excrétés directement dans les urines sous forme d'acides dicarboxyliques à courte chaîne (acide succinique, glutarique), soit conjugués à la glycine avant d'être excrétés (isovalérylglycine) (GREGERSEN 1982a).

Nous nous attendions à ce que la baisse de la concentration en FAD plasmatique dans le groupe Bénin se traduise par une acidurie organique plus importante que dans le groupe Togo dont la concentration en FAD plasmatique n'est pas très différente de celle des témoins. Mais nous constatons que ce sont les enfants du groupe T (majoritairement marasmique) qui excrètent plus d'acides organiques que ceux des groupes B (majoritairement kwashiorkor) et des témoins. Nous n'avons pas observé de corrélation entre la concentration plasmatique en FAD et la quantité d'acides organiques à chaîne moyenne et courte excrétée dans les urines. Cette observation suggère que dans le groupe T ou marasme, il y aurait une biodisponibilité des acides gras pour une β -oxydation et une ω -oxydation, contrairement au groupe B ou kwashiorkor où il y aurait une difficulté d'utilisation des acides gras (stéatose hépatique du kwashiorkor) qui pourrait limiter leur entrée dans la mitochondrie.

La faible utilisation des acides gras par la β -oxydation pourrait être due soit à une carence en carnitine (TANZER 1994) limitant ainsi l'entrée des acides gras à longue chaîne dans la mitochondrie, soit à une baisse de formation d'acyl-CoA suite à une carence d'énergie (ATP), ou à une baisse de formation d'acyl-carnitine due à une diminution d'activité de la carnitine palmytoyl-transférase I. Ces trois hypothèses seront à vérifier dans une étude ultérieure.

Nous avons trouvé des concentrations d'acides dicarboxyliques relativement identiques chez les enfants des groupes Bénin et Togo, et ceux obtenues chez les enfants malnutris de la Mauritanie (FEILLET F. soumis pour publication) et du Mexique (TERAN-GARCIA 1998). Par contre ces taux sont supérieurs à ceux observés dans l'anorexie mentale (CAPO-CHICHI 1999). Dans l'anorexie mentale, CAPO-CHICHI (1999) a montré que l'excrétion d'acides dicarboxyliques ne disparaissait pas immédiatement avec la renutrition. Cette excrétion est maximale à J15 de renutrition et diminue ensuite à J30 sans être pour autant strictement normalisée. Ces résultats sont à mettre en parallèle avec l'étude de TERAN-GARCIA (1998) qui a montré que l'acidurie organique existant en situation de malnutrition augmente lors de la renutrition.

Nous interprétons ces résultats qui sont en concordance avec notre étude réalisée chez les malnutris de Mauritanie, comme le dévoilement du déficit vitaminique avec la renutrition. A ce moment, l'activité métabolique, qui était probablement réprimée par les mécanismes d'adaptation à la malnutrition énergétique (hypothyroïdie...) augmente et la demande de cofacteur vitaminique augmente dans les mêmes proportions. Ensuite soit du fait d'un déficit latent en vitamine, soit du fait d'un retard à la normalisation du statut thyroïdien et donc de la conversion de la Rf en ses cofacteurs, la β -oxydation mitochondriale ne parvient pas à métaboliser les acides gras qui sont d'autant plus disponibles qu'il existait une stéatose hépatique auparavant. Ceci pourrait expliquer la moindre excrétion d'acides dicarboxyliques dans l'anorexie mentale où la stéatose hépatique est bien moindre que dans la MPE.

7.4. Études sur le bilan lipidique dans la MPE de l'enfant

La population que nous avons étudiée est composée d'enfants présentant une malnutrition de type marastique. Cette malnutrition s'est développée dans un milieu désertique indemne ou presque de toute maladie tropicale infectieuse ou parasitaire. Cette caractéristique géographique explique probablement la grande rareté des kwashiorkors observés dans cette région du globe (HENDRICKSE 1985). En effet à Nouadhibou (ville du Nord Mauritanien) où s'est déroulée cette étude, il n'y a ni bilharziose, ni paludisme, ni parasitose digestive tropicale. L'enquête alimentaire, aussi imparfaite soit-elle, a permis de mettre en évidence la grande monotonie du régime de ces enfants. Leur régime comprend surtout des glucides d'action lente sous forme de riz, de semoule de couscous, de pommes de terre ou de pain. Les protéines animales (viande ou poisson) n'entrent dans l'alimentation que pour 10 à 15 % des enfants et toujours en faible quantité (Figure n° 12). Nous avons donc étudié une population présentant un déficit nutritionnel majeur ; la carence d'apport est une hypothèse pour expliquer l'état de ces enfants. La participation de facteurs inflammatoires (en particulier infectieux) au moment de l'étude ou surtout dans les mois précédant l'étude est très probable ; ces infections récurrentes sont connues pour être un facteur aggravant la malnutrition (SCRIMSHAW 1968, CARNEY 1980). Néanmoins, nous verrons plus loin, que les facteurs inflammatoires n'ont pas une influence prépondérante sur les résultats du bilan lipidique dans notre population d'enfants marastiques.

Nous avons donc pu réaliser dans cette population marastique un bilan lipidique qui a comporté les éléments habituels : cholestérol et ses sous-fractions ainsi que les triglycérides mais surtout, afin de mieux appréhender le métabolisme des lipides dans ce contexte, nous avons pu doser certaines apoprotéines et particules lipoprotéiques, ce qui n'avait jamais été réalisé auparavant.

La population témoin est d'origine européenne et a été étudiée à Nancy chez des enfants hospitalisés en chirurgie pédiatrique pour intervention bénigne. Ces enfants ne présentaient aucune maladie nutritionnelle ou inflammatoire. L'étude d'un groupe témoin sur place, en Mauritanie, était impossible car les enfants normalement nourris, ne venaient évidemment pas à l'hôpital, et il n'y avait aucun moyen de constituer ce groupe témoin localement. Nous avons donc décidé de constituer une population témoin française en étant conscient des différences ethniques, culturelles et alimentaires de ces deux populations.

7.4.1. L'anthropométrie

Les résultats de l'anthropométrie appellent peu de commentaires : nous observons une population marastique typique selon les critères de WELLCOME avec un déficit pondéral de 43 % en moyenne parfaitement typique de ce cadre pathologique (Anonyme 1970). Tous les paramètres anthropométriques sont très significativement différents entre les patients et les témoins (Tableau n° 30) tant au niveau poids et taille qu'au niveau périmètre brachial qui "représente" la masse musculaire et du périmètre crânien qui est un reflet de la croissance cérébrale. Ce déficit marqué montre la gravité de la malnutrition de la population étudiée et son homogénéité : 35 marasmes et 4 kwashiorkor-marasmes selon la classification de WELLCOME (Anonyme 1970).

7.4.2 Le bilan protéique nutritionnel et inflammatoire

Afin d'évaluer le statut nutritionnel et inflammatoire de ces patients, nous avons étudié également le statut en protéines nutritionnelles et inflammatoires dans les 2 populations. Nous avons choisi d'étudier deux protéines à demi-vie longue (albumine) et courte (transthyréline) pour l'évaluation nutritionnel (INGENBLEEK 1972, HAY 1975) et la CRP et l'orosomucoïde pour l'évaluation inflammatoire comme cela a été proposé par INGENBLEEK dans son index pronostic nutritionnel et inflammatoire dans les maladies sévères (INGENBLEEK 1985a). Nous avons calculé l'index pronostic proposé par INGENBLEEK (1985a) et nous avons trouvé des valeurs extrêmement dispersées ; cela est dû à la grande variabilité de la CRP dans ce contexte de MPE. Nous n'avons pas observé de valeur pronostic particulière à cet index, tous les enfants de l'étude ont évolué de façon satisfaisante grâce aux soins reçus au CREN (Centre de Renutrition et d'Éducation Nutritionnelle) de l'hôpital de Nouadhibou. Les différences observées pour ces protéines sont toutes très significatives avec une diminution des protéines nutritionnelles et une augmentation des protéines inflammatoires chez les patients comparés aux témoins. On remarquera que les protéines de demi-vie courte présentent des différences plus significatives que celles à demi-vie longue : ce qui est normal puisque la préalbumine est un index de malnutrition beaucoup plus fiable que l'albumine (INGELBLEEK 1972), en particulier dans la MPE marastique, et que la CRP réagit beaucoup plus rapidement à l'infection que l'orosomucoïde (PHILIP 1979). Il faut également remarquer que les marqueurs inflammatoires présentent des valeurs beaucoup plus dispersées que les marqueurs nutritionnels, ceci est logique car ces enfants sont tous malnutris mais leur contexte inflammatoire est variable.

7.4.3. Le bilan lipidique

7.4.3.1. Le cholestérol et ses paramètres

La comparaison des bilans lipidiques des patients et des témoins reflète ce qui a déjà été rapporté dans la littérature (LEWIS 1964, MAC LAREN 1967, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970, HOUSSAINI 1999). Dans le bilan lipidique standard le cholestérol total est trouvé effondré en cas de marasme, cette chute porte de façon équivalente sur le HDL et sur le LDL cholestérol. Dans le groupe patient, le cholestérol est positivement corrélé avec la transthyréline et varie par conséquent dans le même sens que ce marqueur de la malnutrition. Si on observe des taux de cholestérol plus bas lorsque le statut nutritionnel est moins bon, il ne varie pas avec les marqueurs inflammatoires (Tableau n° 32). Cette chute du cholestérol peut trouver son origine dans le faible apport alimentaire en lipides de ces enfants. Il a été montré qu'un régime pauvre en cholestérol fait chuter les taux de cholestérol circulant (THUESEN 1986, ROSENTHAL 1985). Nous avons représenté sur la Figure n° 12 le régime de ces enfants tel qu'il a pu être estimé lors de l'interrogation des mères à l'hospitalisation de ces enfants. Le régime est estimé de manière qualitative ; la quantité d'aliments ingérés étant impossible à faire préciser. Néanmoins, on peut constater la quasi absence de corps gras dans l'alimentation de ces enfants.

On en trouve dans le lait (absorbé par 60 % de ces enfants et généralement en faible quantité) et dans les protéines d'origine animale (viande 15 % et poissons 35 %). Le faible apport lipidique de l'alimentation joue sûrement un rôle dans la chute du cholestérol et de ses sous-fractions chez les enfants malnutris. L'influence du cholestérol alimentaire sur le bilan lipidique a été très étudié chez l'homme en raison de l'importance du problème que pose l'athérosclérose et la maladie coronarienne en clinique humaine. Tout d'abord, on a pu établir des relations directes entre le taux de cholestérol et le contenu de l'alimentation en graisses saturées (AHRENS 1957) puis avec le contenu en cholestérol du régime alimentaire (ANDERSON 1976). L'augmentation du cholestérol alimentaire entraîne surtout une augmentation du LDL cholestérol (SCHONFELD 1982, MISTRY 1981), par contre, il n'y a pas forcément de corrélation entre la prise de cholestérol alimentaire et l'augmentation des LDL cholestérol (GOLDBERG 1985).

Dans le sens opposé qui nous intéresse davantage, un régime alimentaire carencé en cholestérol entraîne une baisse du cholestérol sanguin (THUESEN 1986, COMINACINI 1988). Les résultats de ces 2 études sont contradictoires à première vue : COMINACINI observe après 45 et 90 jours d'un régime riche en hydrates de carbone et pauvre en graisses, une baisse du cholestérol plasmatique principalement due à la baisse du cholestérol des VLDL. Par contre, il observe une augmentation significative des LDL et des HDL cholestérol à J 45 et J 90 par rapport à J 0. Il faut remarquer que, dans ces résultats, le LDL cholestérol atteint son taux le plus élevé à J 45 et le HDL cholestérol à J 90 : l'étude ne s'est pas poursuivie au-delà.

L'étude de THUESEN est beaucoup plus prolongée puisqu'elle dure un an. Il observe une chute du cholestérol total et du LDL cholestérol à 3 mois alors que le HDL cholestérol est inchangé. A 1 an, la chute des deux premiers s'accroît alors que le HDL cholestérol est significativement augmenté (+ 18 %). Ces résultats, a priori contradictoires, sont cohérents car dans la première étude, le régime comprenant 25 % des calories lipidiques alors qu'elles ne représentent que 10 % dans la seconde. Ensuite, si l'on avait prolongé la première étude, le début de la chute du LDL cholestérol observé à J 90 se serait peut être confirmé.

Dans des régimes pauvres en cholestérol et riches en graisses polyinsaturées, on a également étudié la composition des LDL et on s'est aperçu qu'il y avait une augmentation des AG insaturés, des triglycérides (POWNALL 1980), du contenu en phospholipides (SHEPHERD 1978) et une chute du cholestérol (SHEPHERD 1978). Dans le cadre de ces régimes, STEIN (1982) a montré chez l'enfant une baisse du LDL cholestérol associée à une augmentation du HDL cholestérol.

Pour conclure l'ensemble de ces études, on peut dire que l'exclusion du cholestérol de l'alimentation fait chuter les taux plasmatiques de cholestérol total et de LDL cholestérol, par contre, le HDL cholestérol aurait tendance à monter sous l'influence d'un tel régime. En cas de malnutrition marastique, le cholestérol est fréquemment retrouvé abaissé (PRETORIUS 1966, TRUSWELL 1975), par contre, il existe très peu de données en ce qui concerne les sous-fractions du cholestérol dans ce cadre. Nous avons personnellement retrouvé un effondrement du cholestérol total et des deux sous-fractions HDL et LDL.

Dans notre étude nous avons également dosé les apoprotéines A1 et A2 ainsi que la particule Lp A I:A II qui sont des marqueurs du HDL cholestérol (DROUIN 1987, FRUCHART 1987). Nous les avons trouvés effondrés ce qui est logique étant donné les taux bas d'HDL cholestérol observés plus haut. Cette chute de tous les marqueurs des HDL confirme l'importance de la carence globale en cholestérol. Cette diminution de l'apo A I, de l'apo A II et de la LP A I :A II est plus importante quand la transthyrétine est plus basse (Tableau n° 33 et 34) et quand les marqueurs inflammatoires sont plus élevés. Ces résultats confirment ce que nous avons observé chez les malades par rapport aux témoins : plus la malnutrition est grave plus le cholestérol, ses sous-fractions et ses marqueurs sont abaissés. Nous n'avons pas retrouvé de variations du LDL cholestérol en fonction des marqueurs nutritionnels ou inflammatoires. Si ces marqueurs sont depuis longtemps étudiés dans l'athérosclérose (A VOGARO 1979, MACIEJKO 1983, BRUNZELL 1984) ils n'ont pas été étudiés dans le cadre de la malnutrition. Par contre, ils ont été étudiés dans le cadre de régimes "anti-athéromateux" (SHEPHERD 1978) et chez les végétariens (LOCK 1983). Dans cette dernière étude, LOCK utilise les rapports apo A1/ apo A2 et HDL chol./ apo A1. Le premier est un indicateur des sous-populations de HDL et indique la prépondérance de HDL2 ou HDL3 au sein de la population étudiée (CHEUNG 1979) et le second augmenterait avec le risque d'athérosclérose. Dans son étude, LOCK observe trois groupes de végétariens prenant des régimes pauvres en graisses et en cholestérol et comprenant un rapport AG polyinsaturés/ AG saturés élevé. La restriction lipidique est plus ou moins importante en fonction des trois groupes. Il a été montré que le cholestérol stocké dans des cellules en culture ne pouvait sortir de la cellule que grâce à des Lp A I et non à des Lp A I-A II (FIELDING 1981, BARBARAS 1987), c'est pourquoi l'apo A I est un marqueur des HDL capable d'épurer les tissus périphériques alors que l'apo A II n'est un marqueur que des HDL3. LOCK(1983) observe tout d'abord une chute importante du cholestérol et des triglycérides totaux, cette chute est d'autant plus importante que le régime est restrictif en lipides. Il observe également une chute des apo A I, A II et du HDL cholestérol. L'étude des rapports cités plus haut montre une diminution du rapport A I/A II et une augmentation du rapport HDL chol./apo A I dans le cas du régime le plus restrictif. Ce qui pose le problème d'une chute du cholestérol et d'une aggravation des marqueurs de l'athérosclérose.

Nous avons réalisé ces rapports dans notre étude et nous avons observé par rapport aux témoins une augmentation du rapport A I/A II et une diminution du rapport HDL chol./apo A I par rapport aux résultats de LOCK. Ces résultats sont en faveur d'une augmentation des HDL2 plus riches en apo A I et en apo E et dont une des fonctions est d'apporter du cholestérol aux tissus porteurs du récepteur à apo E (surrénales par exemple). On pourrait émettre l'hypothèse que chez les végétariens de LOCK (1983), si le régime est pauvre en graisses il n'est pas déficient en calories et la synthèse endogène de cholestérol grâce à la HMG CoA réductase peut fonctionner normalement, ce qui fait que la baisse du HDL cholestérol touche d'autant plus le HDL2 que les apports sont bas et que l'apport calorique est suffisant. Dans notre groupe patient, nous observons une baisse franche du HDL cholestérol ; cette baisse se retrouve au niveau des apoprotéines A I et A II et de la Lp A I:A II. Par contre elle n'est pas significative pour la Lp A I par rapport au groupe témoin. La Lp A I a pour but de transporter au foie le cholestérol produit dans les cellules périphériques,

c'est le " bon cholestérol " anti-athéromateux (BARBARAS 1987). Ceci peut correspondre au fait que le cholestérol circulant est d'origine endogène, la chute importante du LDL cholestérol montre, elle, que la captation cellulaire de cholestérol reste fonctionnelle, ce qui n'est pas le profil que nous avons rencontré dans l'anorexie mentale. Par contre, chez nos enfants malnutris, si l'on assiste à une chute conjointe des apo A I, A II et à une augmentation du rapport Apo A I/Lp A I:A II, ceci montre la prépondérance de la Lp A I sur la Lp A I:A II. Le rapport Apo A I/Apo A II qui augmente avec la capacité périphérique de captation du cholestérol est identique entre les groupes patients et témoins. Ceci pourrait être le reflet d'une activité métabolique cellulaire préservée. D'un point de vue finaliste, ceci est logique car les apports exogènes en cholestérol et en calories étant très faibles la seule ressource de l'enfant consiste à utiliser le cholestérol synthétisé au niveau cellulaire. Ceci expliquerait la relative augmentation des HDL2 par rapport aux HDL3 objectivée par l'ascension du rapport A I /A II. Ce cholestérol est d'ailleurs d'autant plus disponible ensuite que les HDL2 possèdent l'apo E et peuvent se lier avec les récepteurs périphériques à apo E.

En résumé, dans notre groupe témoin, les résultats montrent la carence du cholestérol alimentaire (diminution du LDL cholestérol) associé à une synthèse de cholestérol endogène destiné aux tissus contenant le récepteur à l'apo E (baisse du DL cholestérol avec préservation de la Lp A I). Enfin il est probable que chez ces enfants, l'activité métabolique est relativement conservée, ce qui pourrait expliquer les résultats qui sont contradictoires avec ceux observés dans l'anorexie mentale.

7.4.3.2. Les triglycérides et leurs paramètres

Si les résultats de la littérature sont homogènes quant au cholestérol dans la malnutrition (ARROYAVE 1961, MAC DONALD 1963, TRUSWELL 1969b - 1975, FLORES 1970, COWARD 1972), ils le sont moins en ce qui concerne les triglycérides. Ils sont trouvés bas (MAC DONALD 1963, LEWIS 1964, FLORES 1970, COWARD 1972, TRUSWELL 1975) ou élevés (DEVI 1976, HOUSSAINI 1999) en cas de kwashiorkor. Par contre, ils sont toujours trouvés normaux ou élevés (ARROYAVE 1961, LEWIS 1964, MAC LAREN 1967, FLORES 1970, TRUSWELL 1975) en cas de marasme. Ces taux élevés de triglycérides sont un vrai paradoxe dans le cadre d'une maladie carencielle par excellence. Il n'y a pas eu d'explications apportées par les différents auteurs à ce fait car les études portaient principalement sur le kwashiorkor, les marasmes ne servant que comme "témoins" et les résultats apparemment normaux n'ont pas amené beaucoup de commentaires.

Nous avons trouvé des triglycérides identiques dans les deux groupes de notre étude. Par contre nous avons observé une augmentation significative chez les patients des marqueurs des particules riches en triglycérides comme les apo C III et E et les Lp C III:B et E:B. Il faut noter que les particules Lp E:B et Lp C III:B sont hétérogènes. Ces lipoprotéines contiennent les apo C III, E ou B et possiblement d'autres apoprotéines. En particulier les Lp C III:B peuvent contenir l'apo E et les Lp E:B peuvent contenir de l'apo C III. La présence de l'apo E augmente l'affinité des particules pour le récepteur LDL (AGNANI 1991). A l'opposé, la présence de l'apo C III, diminue l'affinité des particules pour ce récepteur. D'ailleurs, la Lp C III:B est incapable de se lier au récepteur LDL.

De plus l'équipe de FRUCHART (données non publiées) a montré que le nombre de particules Lp E:B (sans apo C III) était négligeable par rapport au nombre de particules Lp C III:B (sans apo E) et Lp B:C III:E. Ces deux dernières lipoprotéines sont riches en triglycérides (BARD 1993).

L'augmentation de ces particules riches en triglycérides associée à des taux bas de LDL et d'apo B objective un blocage dans la dégradation classique VLDL -> IDL -> LDL. L'augmentation de l'apo E (en faveur d'une augmentation du catabolisme des LDL par augmentation de l'affinité au récepteur LDL) associée à un déficit du catabolisme des VLDL explique les taux très bas de LDL que nous avons trouvés chez les patients. Comme toutes les apo B100 viennent de la filière VLDL -> LDL (STEINER 1983), le pourcentage d'apo B contenu dans les VLDL et les IDL ne doit pas être négligeable comme cela peut se produire dans une situation pathologique opposée : l'hypertriglycéridémie (SOUTAR 1977) ou fort différente : l'insuffisance rénale chronique avec hémodialyse où PARSY (1988) observe des triglycérides normaux ou élevés et une apo B basse. Il interprète tout cela comme un déficit dans la conversion des VLDL en LDL.

Cette étude est d'autant plus intéressante que l'auteur retrouve chez ses malades une augmentation significative des particules Lp C III-B. Or, l'apoprotéine C III est capable d'inhiber l'activité de la lipoprotéine lipase (BROWN 1972) et donc, pourrait intervenir dans le blocage de dégradation des VLDL en LDL. De plus, elle diminue la captation hépatique des lipoprotéines riches en TG, ainsi que de leurs particules résiduelles (SHELBURNE 1980, WINDLER 1980).

Dans notre étude, nous retrouvons exactement le même profil, c'est-à-dire triglycérides normaux, une baisse du cholestérol et du LDL cholestérol en particulier, une apo B effondrée malgré une augmentation de particules riches en TG : les Lp E-B et Lp C III-B.

Tout ce tableau peut s'expliquer par un blocage de l'hydrolyse des triglycérides. L'instrument principal de cette hydrolyse est la LPL. Cette enzyme produite principalement par les tissus adipeux et musculaires (BRAGDON 1958, CRYER 1979) vient se fixer à la face luminale des cellules endothéliales des capillaires sanguins (BOURDEAUX-JAUBERT 1987). Dans notre groupe patient un déficit en lipoprotéine lipase est hautement probable. Le déficit quantitatif majeur en tissus adipeux et musculaires dans le marasme représente un premier obstacle à la production de LPL et donc à son activité. La régulation de la synthèse de la LPL est principalement hormonale et est étroitement intriquée avec le métabolisme énergétique de l'organisme. C'est grâce à son activité que les triglycérides pourront fournir les AGL qui seront pris en charge par l'albumine en grande partie et seront soit distribués aux cellules périphériques pour leurs besoins en énergie, soit ré-estérifiés au niveau des adipocytes où ils formeront les vacuoles lipidiques de ces cellules (HAVEL 1987). Donc le métabolisme énergétique lipidique peut s'orienter vers deux voies :

- En excès de calories, le métabolisme s'oriente vers la lipogénèse grâce à l'hyper-insulinisme créé par l'importance des apports caloriques (glucidiques en particulier).
- En situation de déficit calorique, le métabolisme s'oriente vers la lipolyse sous l'effet du glucagon, de la GH, du cortisol et de l'épinéphrine (HAVEL 1987, BHATHENA 1989).

Dans le cas de la malnutrition marastique, il y a un hypo-insulinisme chronique (CAHILL 1970) et une stimulation maximale de la lipolyse avec augmentation de la GH, du cortisol et du glucagon. Dans ce cadre, il y a bien sûr une absence de stimulation de la LPL associée à une utilisation des réserves adipeuses périphériques. Néanmoins le foie produit des lipoprotéines riches en triglycérides VLDL ou Lp E-B, Lp C III-B, mais l'organisme est dans l'incapacité d'hydrolyser les triglycérides contenus dans ces particules car l'activité LPL est basse. Cette baisse d'activité de la LPL a d'ailleurs été montrée dans différents types de malnutrition (GURSON 1969, RICOUR 1976). En résumé la chute de l'activité LPL et l'augmentation des particules riches en triglycérides pourraient s'expliquer par trois mécanismes :

- a) déficit de la synthèse de la LPL lié à la fonte majeure des tissus adipeux et musculaires
- b) déficit de stimulation de la synthèse par l'hypo-insulinisme chronique qui caractérise ces états marastiques
- c) inhibition de l'activité liée à l'augmentation des taux d'apoprotéine C III

De plus, la captation hépatique des particules riches en TG serait inhibée par les taux élevés d'apo C III (SHELBURNE 1980, WINDLER 1980). La corrélation positive que nous avons observée entre l'apo C III et les protéines nutritionnelles montre que l'inhibition de la LPL par l'apo C III n'est sûrement pas le facteur prépondérant de la diminution de l'activité LPL dans la malnutrition.

L'apoprotéine E est également augmentée chez les patients. Nous envisageons le cas de cette apoprotéine en fin de discussion car son métabolisme propre est loin d'être univoque. C'est une molécule qui a de multiples lieux de synthèse et on l'a trouvée élevée dans de nombreux cadres pathologiques. La synthèse peut avoir lieu au niveau des macrophages et augmente en cas d'infection (BASU 1981) ; elle peut aussi avoir lieu au niveau cérébral et augmente en cas de traumatisme crânien (SKENE 1983, MULLER 1985, SNIPES 1986).

Dans notre étude, l'apo E est très élevée. Nous retrouvons une corrélation beaucoup plus importante entre l'apo E et la CRP (0,72 ; $p < 0,0001$) qu'avec la transthyrétine ($r = 0,37$; $p < 0,02$). En analyse de variance multiple, on s'aperçoit que les facteurs inflammatoires ont une influence prépondérante sur l'apo E par rapport aux facteurs nutritionnels. L'apo E a pour principale fonction, d'être reconnue par les différents récepteurs de lipoprotéines : récepteurs à apo E, à apo B-E et de pouvoir ainsi rendre disponible pour les cellules hépatiques ou périphériques, les lipides circulants dans les lipoprotéines. Un des meilleurs exemples est la Lp HDL1 qui est une HDL enrichie en apo E, ce qui permettrait une disponibilité beaucoup plus importante des lipides contenus dans cette particule (PITTMAN 1985). On sait par ailleurs que l'apo E s'élève au cours du développement nerveux ou au cours de maladies nerveuses (MULLER 1983, SNIPES 1986, SKENE 1983) quand le cerveau est en demande importante de lipides. Elle s'élève également au cours de l'inflammation où la lipolyse et la demande énergétique de l'organisme s'accroissent, on sait qu'en cas d'infection chez un enfant malnutri il peut y avoir une perte de protéines musculaires allant jusqu'à 2 % par jour (POWANDA 1977).

Devant ces demandes, soit en lipides pour le cerveau, soit en énergie en cas d'inflammation, il serait normal de penser que l'organisme répond en rendant plus disponibles les lipides circulants, en synthétisant par les cellules compétentes de l'apoprotéine E qui pourra rendre les lipides disponibles aux récepteurs périphériques.

Ce côté "réactionnel" de l'apo E est probablement très important car, dans les conditions normales, cette protéine est échangée entre les HDL et les particules riches en triglycérides, or nous savons que les HDL sont quantitativement faibles, donc la présence d'apo E vient probablement d'une synthèse *de novo* et non pas d'un échange entre lipoprotéines. Ceci permettrait d'expliquer l'abondance de la Lp E-B qui est une particule où les lipides sont très disponibles, étant donné la présence d'apo B et d'apo E qui sont les principales protéines de reconnaissance pour la captation cellulaire des lipides. Les triglycérides de cette particule peuvent ainsi être captés par les hépatocytes et servir à la cétoxydation grâce à l'hydrolyse par la lipase hépatique. Les acides gras ainsi libérés pourront servir de substrats à la β -oxydation mitochondriale afin de fournir l'énergie nécessaire à la néoglucogénèse d'une part et des corps cétoniques d'autre part, qui pourront servir de substrats énergétiques à certains organes capables de les utiliser : muscles, cœur, cerveau.

7.5. *Étude sur le bilan lipidique dans l'anorexie mentale (AM)*

Nous avons étudié le bilan lipidique dans une population de 14 jeunes filles présentant une anorexie mentale selon les critères du DMS IV (1994). La malnutrition de ces jeunes filles est démontrée par l'anthropométrie, avec un BMI à $13,41 \pm 4,62$ kg/m². Les marqueurs protéiques confirment la malnutrition avec une transthyréline à $0,23 \pm 0,05$ mg/L à J0, qui remonte à $0,31 \pm 0,06$ mg/L après 30 jours de renutrition. Le bilan lipidique de ces jeunes filles a été fait au début de la prise en charge puis à J10 et J30 de la renutrition en milieu hospitalier. Notre hypothèse de départ était de mettre en évidence une relation entre le statut corticotrope et le bilan lipidique, en particulier les paramètres du cholestérol. En effet, des taux élevés de "Corticotropin releasing hormone" (CRH) ont été notés dans l'AM (HOTTA 1986, KOLATA 1986, KAYE 1987). Or, l'ACTH stimule l'HMG CoA réductase qui est l'enzyme régulatrice essentielle de la synthèse du cholestérol (BJORKHEM 1987, LEHOUX 1989). Pour tester cette hypothèse, nous avons donc étudié le bilan lipidique, en particulier le cholestérol et ses sous-fractions mais aussi les paramètres endocriniens se rapportant à l'axe corticotrope, le cortisol et l'ACTH. Comme cela est rapporté dans de nombreuses études de la littérature (KLINEFELTER 1965, CRIPS 1968, MORDASINI 1978, ARDEN 1990, SANCHEZ-MUNIZ 1991, STONE 1994, CASE 1999), nous avons trouvé des taux de cholestérol normaux ou élevés dans notre population d'AM.

A J0, le cholestérol dans notre étude est négativement corrélé avec la transthyréline, ce qui montre que le cholestérol est plus élevé lorsque la malnutrition est plus sévère. Ceci a déjà été noté par CASE (1999) qui note que le cholestérol n'est élevé que chez les patients anorexiques et non chez les boulimiques. Cette augmentation du cholestérol est essentiellement due à une augmentation du LDL chol (MEHLER 1998) comme le montrent les corrélations entre ces 2 paramètres aux différents temps de l'étude. La chute du cholestérol avec la renutrition, qui a également été notée par différents auteurs (MORDASINI 1978, SANCHEZ-MUNIZ 1991) concerne essentiellement le LDL chol comme le montre la chute significative de l'apo B avec la renutrition. Le HDL chol, lui, reste stable pendant la période de renutrition. Ces résultats sont contradictoires avec ceux trouvés dans la MPE du jeune enfant, qu'elle soit de type marasme (TRUSWELL 1975, FEILLET 1993) ou de type kwashiorkor (SAEED 1993). Dans une étude précédente, nous avons même observé une corrélation positive entre le cholestérol total et la transthyréline (FEILLET 1993). VUORISTO (1994) a montré dans un groupe de végétariens, qu'une renutrition comprenant du cholestérol entraînait une augmentation du cholestérol sanguin et que les taux de cholestérol retournaient à leur niveaux initiaux quand le régime était stoppé. Lors de notre protocole de renutrition, les patientes mangent ce qu'elles veulent d'une alimentation équilibrée qui leur est proposée et doivent atteindre un poids déterminé auparavant. Si elle ne peuvent arriver à respecter ce contrat, la nutrition est administrée par sonde nasogastrique en nutrition nocturne continue. Le contenu en cholestérol de cette nutrition est de 300 à 400 mg/jr. Cet apport, contrairement aux observations de VUORISTO, n'augmente pas les taux de cholestérol sanguins, mais au contraire nous assistons à une chute du LDL cholestérol avec cette renutrition.

Comme les apports nutritionnels initiaux (avant l'hospitalisation) sont très pauvres en cholestérol, nous avons émis l'hypothèse que les taux augmentés étaient liés à une augmentation de la synthèse endogène de cholestérol sous l'influence d'une augmentation de l'activité corticotrope. Dans notre étude, nous avons trouvé des taux normaux de cortisol, d'ACTH et d'oestradiol.

Nous n'avons trouvé aucun lien entre les paramètres du bilan lipidique, en particulier du cholestérol et ces paramètres endocriniens. Pour confirmer notre hypothèse nous avons dosé le lathostérol qui est un marqueur de la synthèse endogène de cholestérol (Figure n° 29) et nous avons calculé le rapport lathostérol/cholestérol qui serait un index plus fiable que le lathostérol seul pour estimer la synthèse endogène de cholestérol (KEMPEN 1988). Contrairement à notre attente, nous avons observé que le lathostérol, témoin de la synthèse endogène de cholestérol, était normal à J0 et augmentait avec la renutrition pendant que le LDL cholestérol baissait. Cette évolution paradoxale venait contredire l'hypothèse de départ qui voulait que les taux élevés de cholestérol observés dans l'AM soient dûs à une augmentation de la synthèse endogène de cholestérol. Chez les patients diabétiques, la production de lathostérol est dépendante de la sécrétion insulémique résiduelle (FEILLET 1994). Dans la malnutrition, il y a un hypoinsulinisme chronique. Chez les patients diabétiques nouvellement traités et chez les jeunes filles anorexiques, un point commun est une remontée de l'insuline (exogène pour les diabétiques et endogène pour les anorexiques). Cette remontée de l'insuline, stimulée par la renutrition, est peut-être en partie à l'origine de l'augmentation du lathostérol que nous avons observé avec la renutrition. Comme l'hypercholestérolémie observée dans l'anorexie mentale n'est liée ni à une augmentation de la prise alimentaire de cholestérol ni à une augmentation de sa synthèse endogène, elle doit être la conséquence d'une anomalie du métabolisme du cholestérol. Dans l'anorexie mentale, NESTEL (1974) a montré qu'il y avait une diminution de l'excrétion biliaire du cholestérol. Cette diminution du turn-over biliaire est, pour NESTEL, une conséquence de la réduction de la prise alimentaire et de la ration calorique journalière. JAGUENAUD (1996) a montré une augmentation des triglycérides et des particules VLDL dans l'AM. Le catabolisme des VLDL est sous la dépendance de la lipoprotéine lipase qui est elle-même stimulée par l'insuline. La lipoprotéine lipase a une activité fréquemment diminuée en cas de MPE ou d'AM (GURSON 1969, RICOUR 1976). Ce résultat serait donc expliqué par l'hypoinsulinisme chronique de l'AM. JAGUENAUD (1996) pense que l'augmentation des particules VLDL qui sont les précurseurs des LDL sont à l'origine de l'hypercholestérolémie qu'il observe également dans l'AM. Dans notre étude, les triglycérides étaient à la limite inférieure de la normale, à l'opposé de ce que nous avons observé dans le marasme (FEILLET 1993) où les triglycérides étaient élevés. De plus les particules riches en triglycérides sont très basses (ce qui est cohérent avec les taux bas de triglycérides) dans notre population d'AM si nous comparons ces résultats à ce que nous avons trouvé dans le marasme : Lp C III:B : 0.05 ± 0.02 (AM) vs 0.15 ± 0.06 g/l (marasme) et Lp E:B : 0.08 ± 0.03 (AM) vs 0.29 ± 0.13 g/l (marasme). Il est donc très peu probable que l'augmentation du cholestérol que nous observons soit due à une augmentation des particules VLDL.

De façon plus importante, JAGUENAUD a trouvé une corrélation négative entre le cholestérol total et la triiodothyronine (T3). ASAMI (1995) a trouvé un profil de cholestérol (augmentation du cholestérol total composé essentiellement de LDL cholestérol) chez les enfants atteints d'hypothyroïdie congénitale. Ce profil revient à la normale après la mise sous traitement par la L-thyroxine.

Dans la malnutrition chez les patients adultes (CHOPRA 1975), dans la MPE infantile (INGENBLEEK 1985b, ROBINSON 1985) et dans l'AM (MIYAI 1975, OBARZANEK 1994, CAPO-CHICHI 1999), de nombreux auteurs ont décrit un profil thyroïdien semblable avec des taux bas de T3 et des concentrations normales de T4. Ce profil qui se normalise toujours avec la renutrition suggère un déficit de conversion périphérique de T3 en T4. En 1981, THOMPSON a montré un déficit du récepteur LDL chez des patients hypothyroïdiens in vivo. Ce déficit entraîne un défaut de captation périphérique du LDL cholestérol et par conséquent explique le profil de l'hypercholestérolémie (à prédominance LDL) observé dans l'hypothyroïdie. C'est le même profil que nous observons dans notre étude. MOORE en 1979 a montré qu'il y avait une période transitoire d'hyperthyroïdie lors de la renutrition avec prise pondérale dans l'AM. Cela peut expliquer l'évolution que nous observons avec une baisse du LDL cholestérol objectivée par la baisse de l'apo B lors de la renutrition. Donc la renutrition influencerait le métabolisme du cholestérol par deux mécanismes : elle permettrait une meilleure captation cellulaire des particules LDL et par ailleurs elle stimulerait la synthèse endogène de cholestérol. Ces résultats sont contradictoires car, normalement, la captation du LDL cholestérol fait baisser la synthèse endogène de cholestérol. Nos résultats pourraient signifier, que les besoins métaboliques en cholestérol sont très augmentés lors de la renutrition et que lors de la phase de dénutrition, l'organisme a diminué ses besoins métaboliques en réprimant la synthèse de cholestérol et en diminuant les possibilités de captation cellulaire de cholestérol. C'est un modèle tout à fait démonstratif des capacités d'adaptation de l'organisme à la carence énergétique prolongée. La dépense énergétique de repos n'a pas été trouvée abaissée lors de l'AM, par contre elle augmente deux fois plus que chez les sujets normaux qui sont mis à la diète pendant une durée brève puis bénéficie du même régime de renutrition que les AM (LUKE 1992, ORBAZANEK 1994) ; ceci est cohérent avec l'hyperthyroïdie transitoire observée lors de la renutrition dans l'AM (MOORE 1979).

Un déficit en acides gras essentiels dans l'AM a été montré par HOLMAN en 1995. La présence d'acides gras de la série n-6 dans l'alimentation fait baisser le cholestérol plasmatique ; il est possible qu'un déficit en acides gras essentiels soit responsable en partie de l'hypercholestérolémie dans l'AM (STEIN 1982). HOLMAN a montré dans la même étude qu'il y avait une baisse de la fluidité des lipides plasmatiques ; cela pourrait entraîner une difficulté à la captation cellulaire des particules lipidiques et expliquer une part des résultats observés. Il faut noter que ces anomalies sont réversibles et que la fluidité des membranes érythrocytaires qui est altérée en phase de dénutrition dans l'AM revient à la normale après renutrition (LEJOYEUX 1996). Nous n'avons pas noté de différence dans le HDL cholestérol avec la renutrition, seule l'Apo A II augmente significativement avec la renutrition. Cette apoprotéine est un stimulant de la triglycéride lipase hépatique (JAHN 1983) et son augmentation pourrait être le reflet de l'augmentation de la prise alimentaire.

Pour la Lp(a)B, nous n'avons pas de valeur témoins ; néanmoins, les valeurs observées en phase de dénutrition ne sont pas différentes des valeurs usuelles (KUUSI 1995). Nous avons observé une augmentation significative de ce paramètre avec la renutrition. La Lp(a):B est une particule dont l'importance est génétiquement déterminée et qui est indépendante du LDL cholestérol. Dans notre étude nous observons d'ailleurs une évolution inverse de ces deux paramètres.

LARON (1997) a montré récemment que la GH augmentait la Lp (a):B et que l'IGF1 en diminuait la concentration. Dans l'anorexie mentale, il y a un syndrome de résistance à la GH avec arrêt de la croissance si la dénutrition est sévère avec des taux élevés de GH et des taux bas d'IGF1 (GOLDEN 1994). Lors de la renutrition, il y a une augmentation de l'IGF1 ; ces données sont contradictoires avec nos résultats, les conclusions de LARON n'ont d'ailleurs pas été validées en phase de dénutrition et après renutrition. Chez les patients diabétiques, l'insuline peut modifier les valeurs de Lp(a):B (KUUSI 1995). L'augmentation de l'insulinémie lors de la renutrition pourrait expliquer l'augmentation de la Lp(a):B que nous avons observée dans notre étude.

En conclusion, l'augmentation du cholestérol dans l'anorexie mentale, est associée avec le statut nutritionnel le plus sévère et avec un niveau de synthèse endogène bas. Lors de la renutrition, il y a une augmentation de la synthèse du cholestérol et une baisse des particules contenant l'apo B. L'adaptation métabolique à un déficit énergétique chronique pourrait être responsable du profil que nous avons observé, principalement par le biais de l'hypothyroïdie réactionnelle à la malnutrition. Enfin, l'évolution de la Lp(a):B est particulière et pourrait être due à l'hyperinsulinisme relatif qui survient lors de la renutrition chez ces jeunes filles.

7.6. Discussion générale

Au terme de ce travail, nous voulons essayer de rassembler les études que nous avons réalisées sur la malnutrition et voir si elles peuvent être un reflet sur la capacité de l'organisme à s'adapter à une situation de carence énergétique prolongée.

Nos études ont pour la plupart des résultats apparemment paradoxaux. En situation de malnutrition, nous nous attendions à trouver des déficits des paramètres étudiés surtout pour le statut en cobalamine et en riboflavine qui sont des micronutriments dont l'apport est par définition exogène. Or, nous avons observé des taux élevés de cobalamine plasmatique (ce qui était décrit dans la littérature) et des taux élevés de riboflavine avec déficit des flavocoenzymes ce qui était moins étudié. Une des particularité de nos travaux est d'avoir démontré que les patients les plus malnutris ont des résultats paradoxaux : ainsi nous observons les taux de cobalamine les plus élevés dans le groupe qui a l'index nutritionnel le plus bas ; les taux de riboflavine les plus élevés chez les patients dont les taux d'albumine et de transferrine sont bas ; le cholestérol chez les jeunes filles anorexiques est d'autant plus élevé que la transthyréline est basse. Seul le bilan lipidique dans le marasme ne donne pas ce type de résultats. De façon encore plus intéressante, si le déficit n'existe pas ou ne s'exprime pas en phase aiguë, il s'exprime lors de la renutrition, ou quand la malnutrition est moins sévère : les acides organiques ne montrent un profil d'acidurie éthylmalonique et adipique que chez les enfants les moins dénutris que ce soit dans l'étude réalisée en Mauritanie ou dans l'étude réalisée au Togo et au Bénin. Ces données sont confirmées par la littérature avec l'apparition d'une acidurie organique après 8 jours de renutrition dans l'étude de TERAN-GARCIA (1998).

Lors de la renutrition, l'organisme augmente son activité métabolique : la balance devient négative entre la demande cellulaire en substrats et les réserves de l'organisme qui s'avèrent vite insuffisantes. Le déficit peut alors s'exprimer soit de façon clinique, soit plus rapidement au niveau biologique. De multiples facteurs interviennent dans l'adaptation de l'organisme à jeun (SCHWARTZ 1997). Tout d'abord, les acides gras et les corps cétoniques remplacent le glucose comme substrat énergétique principal ; cette adaptation dépendant des réserves en sucre sous forme de glycogène. Après l'utilisation des réserves en glycogène, le maintien de la glycémie est sous la dépendance de la néoglucogénèse qui dépend pour une part importante du catabolisme musculaire. Cette adaptation s'effectue grâce à l'inhibition de l'insulinosécrétion et la stimulation d'hormones telles que le glucagon, le cortisol et les catécholamines qui vont diminuer l'utilisation de glucose et stimuler la lipolyse et la cétogénèse.

Ces mécanismes ne suffisent pas à expliquer les anomalies que l'on observe dans les jeûnes long, comme l'inhibition du système sympathique et de l'axe gonadotrope objectivé par l'aménorrhée secondaire que l'on observe dans l'anorexie mentale. Les bases physiologiques de ce deuxième niveau d'adaptation au jeûne ont émergé de la découverte en 1994 du gène responsable d'une obésité chez la souris qui code pour une hormone polypeptidique appelée leptine (ZHANG 1994). La découverte de la leptine a fait faire des progrès considérables dans la compréhension du métabolisme énergétique et de sa régulation chez l'homme. On sait aujourd'hui, que ce peptide est produit par le tissu graisseux et que son taux plasmatique est fonction de la masse grasse de l'organisme.

La perte de poids induite par le jeûne entraîne une chute des taux de leptine de façon parallèle à la chute de la masse grasse de l'individu (CONSIDINE 1996). Cette leptine comme l'insuline a un effet inhibiteur du signal médié au niveau hypothalamique par le neuropeptide Y qui stimule la prise alimentaire. En carence énergétique prolongée, il va donc y avoir une chute de la masse grasse par utilisation des réserves pour maintenir la dépense énergétique de l'organisme entraînant une chute de la leptine. Au niveau hypothalamique, la diminution du feed-back négatif médié par l'insuline et la leptine stimule l'axe corticotrope et les concentrations de glucocorticoïdes augmentent. Parallèlement, il va y avoir une augmentation du neuropeptide Y qui va inhiber le système sympathique et l'axe gonadotrope. Par ailleurs il est maintenant connu que la leptine augmente la dépense énergétique en stimulant la thermogénèse au niveau de la graisse brune par l'intermédiaire du tonus sympathique (SCARPACE 1997). Plusieurs études ont d'ailleurs montré une diminution de la dépense énergétique de repos chez les patients en situation de jeûne chronique (WATERLOW 1986). Cette diminution rapportée à la masse cellulaire active n'a pas été retrouvée par tous les auteurs (FERRO-LUZZI 1997) mais les patients sévèrement malnutris étudiés dans ce travail avaient un BMI inférieur à 17 ce qui n'est pas très bas. Enfin ces patients avaient un poids stable et n'étaient pas en situation de jeûne, ce qui est différent de l'adaptation métabolique au jeûne prolongé (SHETTY 1999) qui est l'objet de cette discussion.

Les relations entre l'axe thyroïdienne et la leptine ont également été étudiées. Il y a une relation évidente entre ces deux systèmes hormonaux qui jouent tous les deux et parfois de façon conjointe sur le métabolisme énergétique (GONG 1997). On a montré que la T3 inhibait in vitro la production de leptine par le tissu graisseux avec une inhibition de la production de mRNA de 47% par rapport aux cellules témoins incubées sans T3 (KRISTENSEN 1999). Cette inhibition n'est pas retrouvée in vivo dans cette étude, néanmoins, elle montre que l'inhibition de la leptine est une des voies par lesquelles la T3 augmente la dépense énergétique de repos de l'individu. A l'inverse la leptine est retrouvée très augmentée dans les états d'hypothyroïdie (FAIN 1997). La leptine a également un effet sur l'axe thyroïdienne, LEGRADI (1997) a étudié l'effet de l'administration de leptine chez des rats à jeun. Il observe une diminution de la transthyréine qui entraîne dans cette étude une augmentation de la T4 libre et un syndrome de basse T3. Mais surtout, il y a une diminution du taux de mRNA du Pro TRH avec le jeûne et l'administration de leptine restaure ce taux de mRNA du Pro TRH au niveau du noyau hypothalamique para-ventriculaire. La leptine a donc une action centrale sur l'axe thyroïdienne hypothalamo-hypophysaire, en régulant l'expression du gène de la proTRH. La leptine activant l'axe thyroïdienne, il est logique de penser, bien que cela reste à prouver, que la malnutrition sévère avec réduction majeure de la masse grasse comme on le voit dans le marasme ou dans l'anorexie mentale entraîne une diminution de la leptine, et par là même une hypothyroïdie qui est classique dans la malnutrition. Ainsi donc l'adaptation métabolique au jeûne entraîne une réduction de la dépense énergétique grâce à une hypothyroïdie qui est responsable de plusieurs des anomalies biologiques que nous avons notées dans nos travaux (hypercholestérolémie dans l'anorexie mentale et diminution de la conversion de Riboflavine en FMN et en FAD). Il est probable que l'absence de déficit vitaminique (étudié par les marqueurs plasmatiques) chez les patients les plus gravement malnutris correspond en réalité à une baisse majeure de la demande métabolique qui empêche un déficit réel de s'exprimer.

Le dévoilement de ces déficits lors de la renutrition est un argument de plus en faveur de cette hypothèse. L'hypothyroïdie est sûrement le ou un des facteurs qui permet à l'organisme de diminuer son activité métabolique et par la même de ne pas être déficitaire alors qu'il le serait si son activité métabolique était normale.

En conséquence, nous pouvons décrire trois phases à la malnutrition :

- Une phase initiale où l'individu puise dans ses réserves et où il est parfaitement capable d'assumer des besoins énergétiques normaux ; il n'y a à ce stade aucun déficit, l'organisme trouvant dans ses réserves les micro et macronutriments nécessaires à son activité métabolique.
- Une seconde phase où l'activité métabolique n'est pas encore réprimée et où les réserves de l'organisme ont diminué de telle façon que le ou les déficits peuvent s'exprimer (apparition d'une acidurie organique par exemple).
- Enfin, la troisième phase est celle où les mécanismes d'adaptation entraînés par la chute de la leptine (liée à la diminution sévère de la masse grasse) participent à la genèse de l'hypothyroïdie de la malnutrition. L'activité métabolique de l'organisme est réprimée et la demande devenant inférieure à l'offre, les déficits ou tout au moins leur expression biologique peuvent disparaître et donner ainsi des bilans vitaminiques faussement rassurant par exemple.

La conclusion de cette analyse est que ces études sur la malnutrition s'avèrent mal adaptées pour objectiver certaines carences nutritionnelles (déficit vitaminique par exemple), ce qui était le but de plusieurs de nos travaux. L'absence totale de corrélation entre les taux plasmatiques de ces vitamines et les marqueurs de gravité voire les corrélations négatives que nous avons pu observer sont là pour le montrer. Finalement, en état de malnutrition sévère, un individu ne peut exprimer un déficit que si celui-ci est réel au niveau cellulaire, ce qui est bien entendu fonction de l'activité métabolique de la cellule et des substrats que cette cellule a à sa disposition. La prise en compte des trois phases décrites plus haut doit nous inciter à la prudence lors de l'interprétation de bilans réalisés dans ce contexte de la malnutrition. Des conclusions hâtives sur l'absence de déficit de tel ou tel substrat serait une lourde erreur si celles-ci venaient à modifier la prise en charge de ces patients où une supplémentation systématique en vitamine et oligo-éléments est indispensable lors de toute renutrition.

CONCLUSION

Les travaux exposés dans cette thèse se sont échelonnés sur plusieurs années. Pendant cette période, les connaissances sur la malnutrition et les mécanismes d'adaptation à la carence énergétique prolongée ont augmentées considérablement. Nous avons pu étudier deux métabolismes vitaminiques et le métabolisme lipidique dans différents états de malnutrition. Le bilan de la cobalamine est particulier, car si nous observons des taux de vitamine B12 plus élevés quand la malnutrition est plus grave, cela semble plus en rapport avec l'hépatopathie ou le statut inflammatoire qu'avec le niveau métabolique de l'organisme. Néanmoins les déterminants qui diminuent ce métabolisme ne sont probablement pas tous connus et peut être pourrions-nous relier ce statut cobalamine avec l'état métabolique du sujet dans le futur. Pour les autres études, le lien entre les résultats et l'adaptation métabolique à la malnutrition est plus clair. La riboflavine nécessite la T3 pour se convertir en FMN puis FAD, l'hypothyroïdie pourrait jouer là un rôle direct dans les résultats que nous observons. Le déficit de cette vitamine entraîne une acidurie éthylmalonique et adipique et nous avons observé ce profil chez les patients les moins malnutris.

Ce résultat est confirmé par d'autres données de la littérature et abonde dans le sens d'une adaptation métabolique par diminution de l'activité métabolique qui masque un déficit qui serait patent si la dépense énergétique de l'individu était normale. Le bilan lipidique nous a donné des résultats différents selon le type de malnutrition étudiée. Dans la population des anorexiques mentales nous avons retrouvé une hypercholestérolémie chez les patientes les plus malnutries. Ce profil d'hypercholestérolémie est superposable à celui observé dans l'hypothyroïdie, et l'évolution avec la renutrition est celle que l'on observe lors du traitement d'une hypothyroïdie. L'augmentation du LDL cholestérol associé à des taux bas de lathostérol faisant évoquer une synthèse endogène de cholestérol basse lors de la dénutrition, puis la chute du LDL cholestérol associée à une augmentation de la synthèse endogène de cholestérol sont très en faveur d'une augmentation de l'activité métabolique cellulaire lors de la renutrition. Dans la population marastique, nous n'avons pas observé d'hypercholestérolémie, au contraire le cholestérol est trouvé bas, comme cela est classiquement décrit dans la littérature. Il se trouve que le marasme est une forme moins grave de malnutrition, pourtant l'anthropométrie de ces patients est très altérée et le pannicule adipeux sûrement très réduit. Il est clair que dans ces cas, l'hypothèse d'une baisse de la leptine diminuant l'activité métabolique de l'organisme en induisant une hypothyroïdie ne peut être appliquée ; d'ailleurs il y a peu d'hypothyroïdie dans le marasme comme le montre l'étude sur la riboflavine. Dans le cas des marasmes, on se trouve peut être dans la deuxième phase de la malnutrition ou nous avons mis en évidence des marqueurs de déficit vitaminique, stigmates d'une activité métabolique relativement conservée.

Toutes ces études démontrent la difficulté d'interpréter des données touchant des individus malnutris, la sévérité de la malnutrition et la mise en place par l'organisme d'une adaptation métabolique au jeûne prolongé pouvant modifier complètement un paramètre biologique. La simple augmentation de l'activité métabolique par la renutrition peut transformer ce qui paraissait être un statut normal voire excédentaire en vitamine en déficit biologique voire clinique si aucune supplémentation n'est donnée au vue des données initiales.

BIBLIOGRAPHIE

ABRAHAM S.F., MIRA M., BEAUMONT P.J., SOWERBUTTS T.D., LLEWELLYN-JONES D.
Eating behavior among young women.
Med.J.Aust. 1983 ; 2 : 225-228

ADIBI S.A.
Metabolism of branched-chain amino acids in altered nutrition.
Metabolism 1976 ; 25 : 1287-1302

ADIBI S.A.
Roles of branched-chain amino acids in metabolic regulation.
J.Lab.Clin.Med. 1980 ; 95 : 475-484

AGBEDANA E.O., JOHNSON A.O., TAYLOR G.O.
Studies on hepatic and extrahepatic lipoprotein lipases in protein-calorie malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1979 ; 32 : 292-298

AGBERE A.D., EKLU-AVLASU E., TENE TCHELE L.T., PARENT-BASSUKA A., GNAMEY K.
Malnutrition légère et modérée et morbido-mortalité hospitalière chez les enfants de 6 à 36 mois à Kara (Nord-Togo).
Arch.Fr.Pédiatr. 1998 ; 5 : 341

AGNANI G., BARD J.M., CANDELIER L., DELATTRE S., FRUCHART J.C., CLAVEY V.
Interaction of Lp B, Lp B:E, Lp B:C III and Lp B:C III:E lipoproteins with the low density lipoprotein receptor of Hela cells.
Arterioscler.Thromb. 1991 ; 11 : 1021-1029

AHRENS E.H., HIRSCH J., INSULL W.J., ISALTUS T.T., BLOMSTRAND R.
The influence of dietary fats on serum lipid levels in man.
Lancet 1957 ; 1 : 943-953

AIYAR A.S., FATTERPAKER P., SREENIVASAN A.
Lipid metabolism in liver injury caused by carbon tetrachloride in the rat.
Biochem.J. 1964 ; 90 : 558-563

AJAYI O.A.
Biochemical ariboflavinosis among Nigerian rural school children.
Hum.Nutr.Clin.Nutr. 1984a ; 38 : 383-9

AJAYI O.A., JAMES O.A.,
Effect of riboflavin supplementation on riboflavin nutriture of a secondary school population in Nigeria.
Am.J.Clin.Nutr. 1984b ; 39 : 787-91

ALAUPOVIC P.
Recent advances in metabolism of plasma lipoproteins chemical aspects.
Prog.Biochem.Pharmacol. 1968 ; 4 : 91-97

ALAUPOVIC P., LEE D.M., Mc CONATHY W.J.
Studies of the composition and structure of plasma lipoproteins. Distribution of lipoprotein families in major density classes of normal human plasma lipoproteins.
Biochim.Biophys.Acta. 1972 ; 260 : 689-707

ALAUPOVIC P.
Structure and function of plasma lipoproteins with particular regard to hyperlipoproteinemias and atherosclerosis.
Ann.Biol.Clin. 1980a ; 38 : 83-93

ALAUPOVIC P.

The concept classification systems and nomenclatures of human plasma lipoproteins.

In : Lewis L.A., Oppit J.J. (eds) CRC Handbook of Electrophoresis Lipoproteins basic principles and concepts.

CRC Press. 1980b ; 27

ALAUPOVIC P.

The role of apolipoproteins in lipid transport processes.

Ric.Clin.Lab. 1982 ; 12 : 3-21

ALBERS J.J., HAZZARD W.R.

Immunochemical quantification of human plasma Lp (a) lipoprotein.

Lipids. 1974 ; 9 : 15-26

ALBERT MJ, MATHAN VI, BAKER SJ.

Vitamin B12 synthesis by human small intestinal bacteria.

Nature 1980 ; 283 : 781-782

ALISTAIR G, PHILIPS S.

The protective effect of acute phase reactants in neonatal sepsis.

Acta Paediatr.Scand. 1979 ; 68 : 481-483

ALLEN R.H., MAJERUS P.W.

Isolation of vitamin B12-binding protein using affinity chromatography. II.

Purification and properties of human granulocyte vitamin B12-binding protein.

J.Biol.Chem. 1972 ; 247 : 7702-7708

ALLEN R.H.

Human vitamin B12 transport proteins.

Prog.Hematol. 1975 ; 9 : 57-84

ALLEN R.H., STABLER S.P., SAVAGE D., LINDENBAUM J.

New assays for functional cobalamin (vitamin B 12) deficiency.

Cobalamin 88, First International Symposium on biomedicine and physiology of vitamin B 12:

London 26-29 Sept 1988

ALLISON S.P.

Nutrition in medicine, a physician view.

Danone Chair Monograph. Institut Danone. 1996 ; 153p

AMENDT B.A., RHEAD W.J.

The multiple acyl-coenzyme A dehydrogenation disorders, glutaric aciduria type II and ethylmalonic-adipic aciduria. Mitochondrial fatty acid oxidation, acyl-coenzyme A dehydrogenase, and electron transfer flavoprotein activities in fibroblasts.

J.Clin.Invest. 1986 ; 78 : 205-213

ANASUYA A., NARASINGA B.S.

Plasma amino acid pattern in kwashiorkor and marasmus.

Am.J.Clin.Nutr 1968 ; 21 : 723-732

ANDERSON J.T., GRANDE F., KEYS A.

Independence of the effects of cholesterol and degree of saturation of the fat in the diet on serum cholesterol in man.

Am.J.Clin.Nutr. 1976 ; 29 : 1184-1189

Anonyme

Riboflavin deficiency inhibits multiplication of malarial parasites.

Nutr.Rev. 1984 ; 42 : 195-6

Anonyme
Classification of infantile malnutrition.
Lancet 1970 ; 2 : 302-303

Anonyme
Antimalarial effects of riboflavin deficiency.
Lancet 1986 ; 1 : 329-30

Anonyme
Food for all, slogan or worthy goal ?
Lancet 1996 ; 348 : 1109

ANTENER I., VERWILGHEN A.M., VAN GEERT C., MAURON J.
Biochemical study of malnutrition-situation before treatment.
Acta Trop. 1977 ; 34 : 331-354

ANTENER I., THONNEY G., VERWILGHEN A.M., MAURON J.
Biochemical study of malnutrition. Part IV : Determination of amino acids in the serum, erythrocytes, urine and stool ultrafiltrates.
Int.J.Vitam.Nutr.Res. 1981 ; 51 : 64-78

APEAGYEI F., LAMPLUGH S.M., HENDRICKSE R.G., AFFRAM K., LUCAS S.
Aflatoxins in the livers of children with kwashiorkor in Ghana.
Trop.Geogr.Med. 1986 ; 38 : 273-276

AQUARON R., AQUARON C., DAOUDA H., MADI N., ROUX F., BISSET J.P.
Etude de deux foyers d'endémie goitreuse au Niger : Belley-Koira et Tiguey-Tallawal.
Ann.Endocrinol.(Paris) 1990 ; 51 : 231-240

ARDEN M.R., WEISELBERG E.C., NUSSBAUM M.P., SHENKER I.R., JACOBSON M.S.
Effect of weight restoration on the dyslipoproteinemia of anorexia nervosa.
J.Adolesc.Health Care 1990 ; 11, 199-202

ARROYAVE G., WILSON D., MENDEZ J., BEHAR M., SCRIMSHAW N.
Serum and liver vitamin A and lipids in children with severe protein malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1961 ; 9 : 180-185.

ARROYAVE G., WILSON D., DEFUNES C., BEHAR M.
The free amino acids in blood plasma of children with kwashiorkor and marasmus.
Am.J.Clin.Nutr. 1962 ; 11 : 517-524

ASAMI T., TOURU K., UCHIYAMA M.
Effects of L-thyroxine on serum lipid profiles in infants with congenital hypothyroidism.
J.Pediatr. 1995 ; 127 : 812-814

ASSMAN G.
Biochemistry of Lipoproteins in Lipid Metabolism and Atherosclerosis.
Schattauer, Verlag (ed).
Stuttgart. 1982 ; 14-53

ASSMAN G., SCHRIEWER H., SCHMITZ G., HAGELE E.O.
Quantification of high density-lipoprotein-cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/Mg Cl₂.
Clin.Chem., 1983, 29, 2026-2030

ASSURAN G.
Biochemistry of lipoproteins.
In : Lipid Metabolism and Atherosclerosis.
Schattauer.Verlag ed., Stuttgart, 1982 ; 14-53

- ATMEH R.F., SHEPHERD J., PACKARD C.J.
Subpopulations of apolipoprotein A-1 in human high density lipoproteins. Their metabolic properties and response to drug therapy.
Biochim.Biophys.Acta 1983 ; 751 : 175-188
- AUFFRET C., TANGUY F.
Note sur la teneur en lipides du foie chez quelques enfants atteints de kwashiorkor.
Bull. Méd.Afr.Occid.Franc. 1950 ; 7 : 43-45
- AULINSKAS T.H., VAN DER WESTHUYZEN D.R., BIERMAN E.L., GEVERS W., GOETZEE G.A.
Retroendocytosis of low density lipoproteins by cultured bovine aortic smooth muscle cells.
Biochim.Biophys.Acta. 1981 ; 664 : 255-265.
- AVOGARO P., BON B.G., GAZZOLATO G., QUINCI G.B.
Are apolipoproteins better discriminators than lipids for atherosclerosis ?
Lancet 1979 ; 1 : 901-903
- AVRAMEAS S.
Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies.
Immunochemistry 1969 ; 6 : 43-52
- AYRAULT-JARRIER M., ALIX J.F., POLONOVSKI J.
Une nouvelle protéine des lipoprotéines du sérum humain : isolement et caractérisation partielle d'une apoprotéine G.
Biochimie 1978 ; 60 : 65-70
- BAKER H.
A vitamin profile of alcoholism.
Int.J.Vitam.Nutr.Res. 1983 ; Suppl 24 : 179-184
- BAKER H., FRANK O., DEANGELIS B.
Plasma vitamin B12 titres as indicators of disease severity and mortality of patients with alcoholic hepatitis.
Alcohol. 1987 ; 22 : 1-5
- BAMJI M.S., BHASKARAM P., JACOB C.M.
Urinary riboflavin excretion and erythrocyte glutathione reductase activity in preschool children suffering from upper respiratory infections and measles.
Ann.Nutr.Métab. 1987 ; 31 : 191-196
- BARBARAS R., PUCHOIS P., FRUCHART J.C., AILHAUD G.
Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by Lp A I particles but not by Lp A I-A II particles.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 1987 ; 142 : 63-69
- BARD J.M., AGNANI G., LESTAVEL-DELATTRE S., CANDELIER L., COPIN C., FRUCHART J.C.
Isolation and characterization of different apo B-containing particles, according to the presence or the absence of apo C III or apo E.
In : PAOLETTI R., GOTTO A.M. eds. *Drugs Affecting Lipid Metabolism.*
Kluwer Academic Press Publisher. 1993 ; 121-132
- BARNES L.A.
Nutritional disturbances.
In *Textbook of Pediatrics.* Nelson W.E. (ed).
W.B. Saunders Philadelphia. 1964 ; 408-421

- BARTER P.J., HOPKINS G.J., RAJORAM O.V., RYE K.A.
Factors that induce changes in the particle size of high density lipoproteins.
In *Atherosclerosis VII*, N.H.Fidge., P.J.Nestel., (eds).
Excerpta Medica, Elsevier Sci.Publi. Amsterdam. 1986 ; 187-190
- BASU S.K., BROWN M.S., HO Y.K., HAVEL R.J., GOLDSTEIN J.L.
Mouse macrophages synthesize and secrete a protein resembling apolipoprotein E.
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 1981 ; 78 : 7545-7549
- BATES C.J., PRENTICE A.M., PAUL A.A., SUTCLIFFE B.A., WATKINSON M.,
WHITEHEAD R.G.
Riboflavin status in Gambian pregnant and lactating women and its implications for Recommended
Dietary Allowances.
Am.J.Clin.Nutr. 1981 May ; 34 : 928-935
- BATES C.J., PRENTICE A.M., PAUL A.A., PRENTICE A., SUTCLIFFE B.A.,
WHITEHEAD R.G.
Riboflavin status in infants born in rural Gambia, and the effect of a weaning food supplement.
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 1982 ; 76 : 253-258
- BATES C.J., EVANS P.H., ALLISON G., SONKO B.J., HOARE S., GOODRICH S.,
ASPRAY T.
Biochemical indices and neuromuscular function tests in rural Gambian schoolchildren given a
riboflavin, or multivitamin plus iron, supplement.
Br.J.Nutr. 1994 ; 72 : 601-610
- BATES C.J.
Bioavailability of riboflavin.
Eur.J.Clin.Nutr. 1997 ; 51 : S38-S42
- BEAU J.P., SY A.
Vitamin E supplementation in Senegalese children with kwashiorkor.
Santé. 1996 ; 6 : 209-212
- BECKER K., BOTTICHER D., LEICHSENDRING M.
Antioxidant vitamins in malnourished Nigerian children.
Int.J.Vitam.Nutr.Res. 1994 ; 64 : 306-310
- BELL I.R., MORROW F.D., READ M., BERKES S., PERRONE G.
Low thyroxine levels in female psychiatric inpatients with riboflavin deficiency : implications for
folate-dependent methylation.
Acta Psychiatr.Scand. 1992 ; 85 : 360-363
- BERG K.
A new serum type system on man. The Lp system.
Acta Pathol.Microbiol.Scand. 1963 ; 59 : 369-382
- BETARD C., VU-DAC N., MEZDOUR H., NESTRUCK A.C., LEROY A., FRUCHART J.C.
Standardization of an enzymometric assay for apolipoprotein A I by using mixtures of monoclonal
antibodies.
J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 1987 ; 25 : 893-899
- BEYLOT M.
Métabolisme des lipides.
In : *Traité de Nutrition Pédiatrique*. RICOUR C., GHISOLFI J., PUTET G., GOULET A. eds.
Paris : MALOINE 1993 ; 48-74.
- BHANJI S., MATTINGLY D.
Anorexia Nervosa : some observations on dieters and vomiters, cholesterol and carotene.
Br.J.Psychiatry. 1981 ; 139 : 238-241

- BHATENA S.J., BERLIN E., JUDD J., NAIR P.P., KENNEDY B.W., JONES J., SMITH P.M., JONES Y., TAYLOR P.R., CAMPBELL W.S.
Hormones regulating lipid and carbohydrate metabolism in premenopausal women : modulation by dietary lipids.
Am.J.Clin.Nutr. 1989 ; 49 : 752-757
- BISTRIAN B.R., BLACKBURN G.L., VITALE J., COCHRAN D., NAYLOR J.
Prevalence of malnutrition in general medical patients.
JAMA 1976 ; 235 : 1567-1570
- BJORKHEM I., MIETTINEN T., REIHNER E., EWERTH S., ANGELIN B., EINARSSON K.
Correlation between serum levels of some cholesterol precursors and activity of HMG CoA reductase in human liver.
J.Lipid.Res. 1987 ; 28 : 1137-1143
- BLANCO D., SANCHEZ L.A., GUTTIERREZ M.D.
Determination of water soluble vitamins by liquid chromatography with ordinary and narrow-bore columns.
J. Liq. Chromatogr. 1994 ; 17 : 1525-1539
- BLENDIS L.M., CRISP A.H.
Serum cholesterol levels in anorexia nervosa.
Postgrad.Med.J. 1968 ; 44 : 327-330
- BLIX G., TISELIUS A., SVENSSON H.
Lipids and polysaccharides in electrophoretically separated blood serum proteins.
J.Biol.Chem. 1941 ; 137 : 485-494
- BMDP.Statistical Software.
University of California.
Los Angeles: University of California Press, 1981
- BORENSZTAJN J., SAMOLS D.R., RUBENSTEIN A.H.
Effect of insulin on lipoprotein lipase activity in the rat heart and adipose tissue.
Am.J.Physiol. 1972 ; 223 : 1271-1275
- BOURDEAUX-JAUBERT A.M., ALCINDOR L.G., GINDICELLI Y.
Aspects récents de la régulation hormonale de la lipoprotéine lipase adipocytaire.
Nutr.Clin.Métabol. 1987 ; 3 : 133-141
- BOURDOUX P., DELANGE F., GERARD M., MAFUTA M., HANSON A., ERMANS A.M.
Evidence that cassava ingestion increases thiocyanate formation : a possible etiologic factor in endemic goiter.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1978 ; 46 : 613-621
- BRADFORD H.F.
Chemical neurobiology. Introduction to neurochemistry.
New York : WH FREEMAN and Co, 1986
- BRAGDON J.H., GORDON R.S.
Tissue distribution of ¹⁴C after the intravenous injection of labelled chylomicrons and unesterified fatty acids in the rat.
J.Clin.Invest. 1958 ; 37 : 574-578
- BRANDT L.J., BERNSTEIN L.M., WAGLE A.
Production of vitamin B12 analogues in patients with small-bowel bacterial overgrowth.
Ann.Intern.Med. 1977 ; 87 : 546-551

BRESLOW J.L.

Molecular genetics of lipoprotein disorders.

In Atherosclerosis VII N.H.Fidge

P.J.Nestel (ed). Excerpta Medica Elsevia Science Publishers

Amsterdam. 1986 ; 149-152

BRIEND A.

La malnutrition de l'enfant : des bases physiopathologiques à la prise en charge sur le terrain.

Monographie Chaire Danone

Belgique : Institut Danone 1998; 163

BRIJLAL S., LAKSHMI A.A., BAMJI M.S., BAMJAND S.

Flavin metabolism during respiratory infection in mice.

Br.J.Nutr. 1996 ; 76 : 453-462

BROCK J.F., AUTRET M.

Kwashiorkor in Africa.

WHO, Monogr.Ser. 1952a ; 8 : 8

BROCK J.F., AUTRET N.

Kwashiorkor in Africa. WHO monograph Series n° 8.

Geneva. WHO ; 1952b : 1-73

BROCK J.F., HANSEN J.D.L., HOWE E.E., PRETORIUS P.J., GAND J.G.A.,

HENDRICKSE R.G.

Kwashiorkor and protein malnutrition.

Lancet 1955 ; 2 : 355-360

BROWN M.D., DUDEJA P.K., BRASITUS T.A.

S-adenosyl-L-methionine modulates Na⁺/K⁺ ATPase activity in rat colonic basolateral membranes.

Biochem. J. 1988 ; 251 : 215-222

BROWN M.S., KOVANEN P.T., GOLDSTEIN J.L.

Receptor mediated uptake of lipoprotein cholesterol and its utilization for steroid synthesis in the adrenal cortex.

Recent. Progr.Horm. Res. 1979 ; 35 : 215-257

BROWN W.V., BAGINSKY M.L.

Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein.

Biochem.Biophys.Res.Commun. 1972 ; 46 : 375-382

BRUNZELL J.D., SNIDERMAN A.D., ALBERS J.J., KWITEROVICH P.O.

Apolipoproteins B and A I and coronary artery disease in human.

Arteriosclerosis 1984 ; 4 : 79-83

BRUSSET B.

L'anorexie mentale des adolescentes.

In : Nouveau traité de psychiatrie de l'enfant et de l'adolescent. LEBOVICI S., DIATKINE R.,

SOULE M. (eds)

Paris : PUF 1995 ; 1693-1711

BURGER R.L., SCHNEIDER R.J., MEHLMAN C.S., ALLEN R.H.

Human plasma R-type vitamin B12 binding proteins. II The role of TC I, TC II and the normal granulocyte vitamin B12-binding protein in the plasma transport of vitamin.

J.Biol.Chem. 1975 ; 250 : 7707-7713

BURLINA A., ZACHELLO F., DIONISI-VICI C., BERTINI E., SABETTA G., BENNET M.J.,

HALE D.E., SCHMIDT-SOMMERFELD E., RINALDO P.

New clinical phenotype of branched-chain acyl-CoA oxidation defect.

Lancet 1991 ; 338 : 1522-1523.

BUSBY W.F., WOGAN G.N.

Aflatoxins.

In : Shank RC, (ed). Mycotoxins and N-nitroso compounds : environmental risks, Vol.2
Boca Raton : CRC Press. 1981 ; 3-29

BUTLER A.R.

The Jaffe reaction . Identification of the coloured species.

Clin. Chim. Acta. 1975 ; 59 : 227-232

CAHILL G.F.

Starvation in man.

N.Engl.J.Med. 1970 ; 282 : 668-675

CANOSA C.A.

Primary malnutrition.

New perspective in infant nutrition. 2nd International Symposium (Spain).

GRAHF R., FALKNER F., KLEINMAN R., KOLETZKO B., MORAN J. (eds)

Madrid : ERGON 1994 ; 349-353

CAPO-CHICHI C.D., GUEANT J.L., LEFEBVRE E., BENNANI N., LORENTZ E.,
VIDAILHET C., VIDAILHET M.

Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia nervosa.

Am.J.Clin.Nutr. 1999 ; 69 : 672-678

CAPO-CHICHI C.D., FEILLET F., GUEANT J.L., AMOUZOU K.S., ZONON N., SANNI A.,
LEFEBVRE E., ASSIMADI A., VIDAILHET M.

Concentrations of riboflavin and related organic acids in children with protein-energy malnutrition.

Am.J.Clin.Nutr. 2000 ; 71 : 978-986

CAPO-CHICHI C.D., GUEANT J.L., FEILLET F., NAMOUR F., VIDAILHET M.

Analysis of riboflavin and riboflavin cofactor levels in plasma by high-performance liquid
chromatography.

J. Chromatogr.B.Biomed.Sci.Appl. 2000 ; 739 : 219-224

CARLIER C., MOULIA-PELAT J.P., CECCON J.F., MOUREY M.S., FALL M., N'DIAYE M.,
AMEDEE-MANESME O.

Prevalence of malnutrition and vitamin A deficiency in the Diourbel, Fatick and Kaolack regions of
Senegal : feasibility of the method of impression cytology with transfer.

Am.J.Clin.Nutr. 1991 ; 53 : 66-69

CARMEL R., HERBERT V.

Deficiency of vitamin B 12-binding alpha globulin in two brothers.

Blood 1969 ; 33 : 1-12

CARMEL R.

Cobalamin-binding proteins of man.

In Silber, RM; Gordon, AS; Lobue, J; Muggia, FM ; editors.

Contemporary Hematology-Oncology, Vol.2 New-York,

London : Plenum Publishing Corporation 1981 : 79-129

CARNEY J.M., WARNER M.S., BORUT T., BYRNE W., AMENT M., CHERRY J.D.,
STIEHM E.R.

Cell mediated immune defects and infection. A study of malnourished hospitalized children.

Am.J.Dis.Child. 1980 ; 134 : 824-827

CARVALHO J.

Contribucao ao tratamento da distrofia caremical hidropigenica.

Hospital, Rio de J. 1947 ; 32 : 307-312

- CASE T., LEMIEUX S., KENNEDY S.H., LEWIS G.F.
Elevated plasma lipids in patients with binge eating disorders are found only in those who are anorexic.
Int.J.Eat.Disorder 1999 ; 25 : 187-193
- CASPER R.C., DAVIES J.M.
On the course of anorexia nervosa.
Am.J.Psychiat. 1977 ; 134 : 974-978
- CASTERLINE J.E., ALLEN L.H., RUEL M.T.
Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum.
J. Nutr. 1997 ; 127 : 1966-1972
- CASTLE W.B., TOWNSEND, W.C.
Observation on the etiologic relationship of achylia gastrica to pernicious anaemia. II. The effect of the administration to patients with pernicious anaemia of beef muscle after incubation with normal human gastric juice.
Am.J.Med.Sci. 1928 ; 178 : 764-777
- CASTRO G.R., FIELDING C.J.
Evidence for the distribution of apolipoprotein E between lipoprotein classes in human normocholesterolemic plasma and for the origin of unassociated apolipoprotein E (Lp E).
J.Lipid.Res. 1984 ; 25 : 58-67
- CHALMERS R.A., HEALY M.J., LAWSON A.M., HART J.T., WATTS R.W.
Urinary organic acids in man. III Quantitative ranges and pattern of excretion in normal population.
Clin.Chem. 1976 ; 22 : 1292-1298
- CHALMERS R.A., VALMAN H.B., LIBERMAN M.M.
Measurement of 4-hydroxyphenylacetic aciduria as a screening test for small-bowel disease.
Clin.Chem. 1979 ; 25 : 1791-1794
- CHALMERS R.A., LAWSON A.M.
Organic acid in man.
London : Chapman and Hall, 1982 ; 523
- CHANARIN I.
The megaloblastic anemia.
Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh, 1969
- CHANARIN I., MALKOWSKA V., O'HEA A.M., RINSLER M.G., PRICE A.B.
Megaloblastic anaemia in a vegetarian Hindu community.
Lancet 1985 ; 2 : 1168-1172
- CHAPMAN M.J.
Les lipoprotéines et le foie.
Gastroenterol.Clin.Biol. 1982 ; 6 : 482-499
- CHATTERJEE K.K., MUKHERJEE K.L.
Phospholipids of the liver in children suffering from protein caloric under nutrition.
Br.J.Nutr. 1968 ; 22 : 145-151
- CHEUNG M.C., ALBERS J.J.
Distribution of cholesterol and apolipoprotein A I et A II in human high density lipoprotein subfractions separated by CsCl equilibrium gradient centrifugation : Evidence for HDL subpopulations with differing A I / A II molar ratios.
J.Lipid.Res. 1979 ; 20 : 200-207

- CHOPRA J.J., SMITH S.R.
Circulating thyroid hormones and thyrotropin in adult patients with protein-calorie malnutrition.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1975 ; 40 : 221-227
- CHRISTMAN J.K., CHEN M.L., SHEIKNEJAD G., DIZIK M., ABILEAH S., WAINFAN E.
Methyl deficiency. DNA methylation and cancer : studies on the reversibility of the effects of a lipotrope-deficient diet.
J.Nutr.Biochem. 1993 ; 4 : 672-680
- CIMINO J.A., JHANGIANI S., SCHWARTZ E., COOPERMAN J.M.
Riboflavin metabolism in the hypothyroid human adult.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1987 ; 184 : 151-153
- CLIFF J., LUNDQVIST P., MARTENSSON J., ROSLING H., SORBO B.
Association of high cyanide and low sulphur intake in cassava-induces spastic paresis.
Lancet 1985 ; 2 : 1211-1213
- COATES M.E., DAVIES M.K., HARRISSON G.F.
Anti-vitamin B12 activity for the growing chick and developing chick embryo of some analogs of cyanocobalamin.
Arch. Biochem. Biophys. 1960 ; 87 : 93-99
- COLE H.S., LOPEZ R., COOPERMAN J.M.
Riboflavin deficiency in children with diabetes mellitus.
Acta Diabetol.Lat. 1976 ; 13 : 25-29
- COMINACINI L., ZOCCA I., GARBIN U., DAVOLI A., COMPRI R., BRUNETTI L., BOSELLO O.
Long-term effect of a low fat, high carbohydrate diet on plasma lipids of patients affected by familial endogenous hypertriglyceridemia.
Am.J.Clin.Nutr. 1988 ; 48 : 57-65
- COMMITTEE ON DIETARY ALLOWANCES FOOD AND NUTRITION BOARD.
In: Recommended Dietary Allowances.
National Academy of Science Washington, D.C. 1980 ; 113-118
- CONRAD A., SCHURMANN J., KREUTZ F.H., SIEBER A.
Elaboration of a method for the quantitative determination of protein by laser nephelometry in the clinical routine laboratory.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1978 ; 16 : 299-305
- CONSIDINE R.V., SINHA M.K., HEIMAN M.L., KRIAUCIUNAS A., STEPHENS T.W., NYCE M.R., OHANNESIAN P., MARCO C.C., MAC KEE L.J., BAUER T.L. et al.
Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans.
N.Engl.J.Med. 1996 ; 334 : 292-295
- CONSTANS T., GUILMOT J.L., CHONTET P., LOUBRIEU G., GARRIGUE P.A., COUET C., LANISSE F.
Evaluation anthropométrique biologique de 44 patients présentant une malnutrition protéino-énergétique.
Rev.Méd.Int. 1985 ; 6 : 19-26
- CONSTANS T., BACQ Y., COUET C., LASFARGUES F., LANISSE F.
L'évaluation de la malnutrition protéino-énergétique.
Sem.Hop.Paris. 1987 ; 63 : 515-524
- CONSTANS T., DARDAINE V.
La malnutrition des personnes âgées : objectifs et moyens.
Revue hospitalière de France. 1997 ; 1 : 177-181

COOK G.C., HUTT M.S.R.
The liver after kwashiorkor.
Brit.Med.J. 1967 ; 3 : 454-457

COOPER J.R., BLOOM F.E., ROTH R.H.
The biochemical basis of neuropharmacology (5th ed).
New York : Oxford University Press, 1986

COWARD W.A., WHITEHEAD R.G.
Changes in serum-lipoprotein concentration during the development of kwashiorkor and in recovery.
Br.J.Nutr. 1972 ; 27 : 383-394.

COWARD W.A.
Serum colloidal osmotic pressure in the development of kwashiorkor and recovery : its relationship to albumin and globulin concentrations and oedema.
Br.J.Nutr. 1975 ; 34 : 459-467

COWARD W.A., LUNN P.G.
The biochemistry and physiology of kwashiorkor and marasmus.
Br. Med. Bull. 1981 ; 37 : 19-24

CRASTES DE PAULET A.
Triterpènes tétracycliques. In Biochimie générale. Métabolisme des Composés Isopréniques.
Masson (ed). Paris. 1968 ; III-2 : 650-659

CRIPS A.H., BLENDIS L.M., PAWAN G.L.S.
Aspects of fat metabolism in anorexia nervosa.
Metabolism 1968 ; 17, 1109-1118

CRYER A., JONES H.M.
The distribution of lipoprotein lipase (clearing factor lipase) activity in the adiposal muscular and lung tissues of ten animal species.
Comp.Biochem.Physiol.B. 1979 ; 63 : 501-505

CRYER A.
Tissue lipoprotein lipase activity and its action in lipoprotein metabolism.
Int.J.Biochem. 1981 ; 13 : 525-541

DAHLEN G.H., GUYTON J.R., ATTAR M., FARMER J.A., KAUTZ J.A., GOTTO A.M.
Association of levels of lipoprotein Lp (a), plasma lipids, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography.
Circulation. 1986 ; 74 : 758-765

DARNELL J., LODISH H., BALTIMORE D.
Molecular Cell Biology, 2nd ed.
New-York : FREEMAN and Co.1990 ; 42 : 277-283

DEAN R.F.A., SCHWARTZ R.
The serum chemistry of uncomplicated kwashiorkor.
Br.J.Nutr. 1953 ; 7 : 131-147

DE MAEYER E.M., VAN DER BORGHT H.
Evolution de la courbe pondérale et de certains constituants biochimiques et hématologiques du sang chez le kwashiorkor.
Ann.Soc.Belge Méd.Trop. 1954 ; 34 : 417-425

DE MAEYER E.M., VAN DER BORGHT H.
La digestion et l'absorption de matières grasses au cours du kwashiorkor.
Ann. Soc. Belg.Méd. Trop. 1958 ; 38 : 135-148

- DEVI C.S., INDIRA K., CHITRA D.R., DEVI M.S., SAGAR P.
Plasma lipids and lipoproteins in protein-calorie malnutrition.
Acta Paediatr.Scand. 1976 ; 65 : 161-166
- DE VILLE DE GOYET C., SEAMAN J., GEIJA U.
The management of nutritional emergencies in large population.
Geneva, WHO, 1978
- DE VRIES H.R., LAMPLUGH S.M., HENDRICKSE R.G.
Aflatoxins and kwashiorkor in Kenya : a hospital based study in a rural area of Kenya.
Ann.Trop.Paediatr. 1987 ; 7 : 249-251
- DIETSCHY J.M., TURLEY S.D., SPADY D.K.
Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans.
J. Lipid. Res. 1993 ; 34 : 1637-1659
- DJALALI M.
Contribution à l'étude du métabolisme digestif des corrinoïdes chez l'homme dans les conditions physiologiques et pathologiques.
Thèse de Sciences, Nancy, 1988
- DJALALI M., CHAMPIGNEULLE B., GUEANT J.L., EL KHOLTY S., GERARD P., NICOLAS J.P.
Increased serum corrinoïdes correlates with disease severity and IgA levels in alcoholic cirrhosis.
Digestion 1988 ; 41 : 215-222
- DMSIV
American psychiatric association.
Diagnostic and statistical manual on mental disorders.
Washington ; 1994
- DOH A., BARON C.
Indicateurs protéiques dans le développement du kwashiorkor.
Méd. et Nutr. 1980 ; 16 : 243-249
- DOHERTY J.F., GOLDEN M.H., BROOKS S.E.
Peroxisomes and the fatty liver of malnutrition : an hypothesis.
Am.J.Clin.Nutr. 1991 ; 54 : 674-677
- DOLPHIN P.J.
Lipoprotein metabolism and the role of apolipoprotein as metabolic programmers.
Can.J.Biochem.Cell.Biol. 1985 ; 63 : 850-869
- DONALDSON R.M., BRAND M., SERFILIPPI D.
Changes in circulating transcobalamin II after injection of cyanocobalamin.
N.Eng.J.Med. 1977 ; 296 : 1427-1430
- DONNEN P., BRASSEUR D., DRAMAIX M., VERTONGEN F., ZIHINDULA M., MUHAMIRIZA M., HENNART P.
Vitamin A supplementation but not deworming improves growth of malnourished preschool children in eastern Zaïre.
J.Nutr. 1998 ; 128 : 1320-1327
- DRAYNA D., JARNAGIN A.S., McLEAN J., HENZEL W., KOH W., FIELDING C., LAWN R.
Cloning and sequencing of human cholesteryl ester transfer protein cDNA.
Nature 1987 ; 327 : 632-634

DROUIN P., ANTOINE J.M., POINTEL J.P., LOUIS J., DEBRY G.

Métabolisme des lipoprotéines.

Ann.Endocrinol. (Paris) 1983 ; 44 : 51-58

DROUIN P., ZIEGLER O., GARIOT P., GROSS P., POINTEL J.P., DEBRY G.

Métabolisme des lipoprotéines chez l'homme sain.

Journées de Diabétologie, Flammarion Médecine-Sciences 1987 ; 23-45

DUHAMEL J.F., RICOUR C., DUFIER J.L., SAURAT J.N., DRILLON P., NAVARRO J.,

ROYER P.

Déficit en vitamine B2 et nutrition parentérale exclusive.

Arch.Fr.Pédiatr. 1979 ; 36 : 342-346

DUPIN H., HERCBERG S.

Epidémiologie des malnutritions protéino-énergétiques du jeune enfant et politique de prévention.

In Nutrition et Santé Publique, HERCBERG S., DUPIN H., PAPOZ L. (eds).

Galan Pilus, Technique et Documentation Lavoisier 1987 ; 217-242

DURRINGTON P.N., ISHOLA M., HUNT L., ARROL S., BHATNAGAR D.

Apolipoproteins (a), A 1 and B and parental history in men with early onset ischaemic heart disease.

Lancet 1988 ; 14 : 1070-1073

DUTRA DE OLIVERA J.E., ROLANDO E.

Fat absorption studies in malnourished children.

Am.J.Clin.Nutr. 1964 ; 15 : 287-292

EDOZIEN J.C., OBASI M.E.

Protein and amino acid metabolism in kwashiorkor.

Clin. Sci. 1965 ; 29 : 1-24

EHNHOLEN C., GAROFF H., RENCONEN O., SIMON K.

Protein and carbohydrate composition of Lp (a) lipoprotein from human plasma.

Biochemistry 1972 ; 11 : 3229-3232

EISENBERG J.

Mechanisms of formation of low density lipoproteins metabolic pathway and their regulation.

In Low Density Lipoprotein, DAY C.E., LEVY R.S. (eds).

New-York, Plenum Press. 1976 ; 73-92

EISENBERG S.

High density lipoprotein metabolism.

J.Lipid.Res. 1984 ; 25 : 1017-1058

ELIAS E., GRAY R.G., POULTON K., GREEN A.

Ethylmalonic adipic aciduria, a treatable hepatomuscular disorder in two adult brothers.

J.Hepatol. 1997 ; 26 : 433-436

EL KHOLTY S., GUEANT J.L., BRESSLER L., DJALALI M., BOISSEL P., GERARD P.,

NICOLAS J.P.

Portal and biliary phases of enterohepatic circulation of corrinoids in humans.

Gastroenterology. 1991 ; 101 : 1399-1408

FAIN J.N., CORONEL E.C., BEAUCHAMP M.J., BAHOUTH S.W.

Expression of leptin and β_3 -adrenergic receptors in rat adipose tissue in altered thyroid states.

Biochem.J. 1997 ; 322 : 145-150

FAO-WHO Expert Group

Requirements of ascorbic acid, vitamin D, vitamin B12, folates and iron.

WHO Tech.Rep.Ser., 1976, 452

- FEIGHNER J.P., ROBINS E., GUZE S.B., WOODRUFF R.A., WINOKUR R., MUNOZ R.
Diagnostic criteria for use in psychiatric research.
Arch.Gen.Psychiat. 1972 ; 26 : 57-63
- FEILLET C., MONNIER L.H., BARJON J.N., PERRIN M., DESCOMPS B., CRASTES DE PAULET A.
Evidence for a short term stimulatory effect of insulin on cholesterol synthesis in newly insulin-treated diabetic patients.
Metabolism 1994 ; 43 : 1233-1240
- FEILLET F., PARRA HJ., KAMIAN K., BARD JM., FRUCHART JC., VIDAILHET M.
Lipoprotein metabolism in marasmic children of Northern Mauritania.
Am.J.Clin.Nutr. 1993 ; 58 : 484-488
- FELTS J.M., MAYES P.A.
Lack of uptake and oxidation of chylomicron triglyceride to carbon dioxide and ketones bodies by perfused rat liver.
Nature 1965 ; 206 : 195-196
- FEREZOU J et al.
Origin of cholesterol and bile acids in the diverted bile of two patients with small bowel resection. In Hypercholesterolemia, Hypocholesterolemia, Hypertriglyceridemia. MALMENDIER (ed).
Plenum Press 1990 ; 183-187
- FERRO-LUZZI A., PETRACCHI C., KURIYAN R., KURPAD A.V.
Basal metabolism of weight-stable chronically undernourished men and women : lack of metabolic adaptation and ethnic differences.
Am.J.Clin.Nutr. 1997 ; 66 : 1086-1093
- FIELDING C.J., FIELDING P.E.
Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalysing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin : cholesterol acyltransferase.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1981 ; 78 : 3911-3914
- FIELDING C.J., FIELDING P.E.
Cholesterol transport between cells and body fluids. Role of plasma lipoproteins and the plasma cholesterol esterification system.
Med.Clin.North.Am. 1982 ; 66 : 363-373
- FIELDING P.E., SHORE V.G., FIELDING C.J.
Lipoprotein lipase : properties of the enzyme isolated from post heparin plasma.
Biochemistry 1974 ; 13 : 4318-4323
- FIELDING P.E., FIELDING C.J.
A cholesteryl ester transfer complex in human plasma.
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 1980 ; 77 : 3327-3330
- FLETCHER K.
Observation on the origin of liver fat in infantile malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1966 ; 19 : 170-174.
- FLETCHER J.P., LITTLE J.M., GUEST P.K.
A comparison of serum transferrin and serum prealbumin as nutritional parameters.
J.Parenter.Enteral.Nutr. 1987 ; 11 : 144-147
- FLOREN C.H., ALBERS J.J., BIERMAN E.L.
Uptake of Lp (a) lipoprotein by cultured fibroblasts.
Biochem.Biophys.Res.Commun. 1981 ; 102 : 636-639

FLORES H., PAK N., MACCIONI A., MONCKEBERG F.

Lipid transport in kwashiorkor.

Br.J.Nutr. 1970 ; 24 : 1005-1011

FLORES H., SEAKINS A., BROOKE O.G., WATERLOW J.C.

Serum and liver triglycerides in malnourished Jamaican children with fatty liver.

Am.J.Clin.Nutr. 1974 ; 27 : 610-614

FONDU P., HARIGA-MULLER C., MOZES N., NEVE J., VAN STEIRTEGHEM A.,

MANDELBAUM I.M.

Protein energy malnutrition in Kivu.

Am.J.Clin.Nutr. 1978 ; 31: 46-56

FOOD COMPOSITION AND NUTRITION TABLES 1986/1987.

SOUCI, FACHMAN, KRAUT 3rd revised version and complete edition.

Stuttgart : Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, 1986

FORTE T., NICHOLS A.V.

Application of electron microscopy to the study of plasma lipoprotein structure.

Adv.Lipid.Res. 1972 ; 10 : 1-41

FRANK S.L., KLISAK J., SPARKES R.S., MOHANDAS T., TOURLINSON J.E., Mc LEAN

J.W., LAWN R.M., LUSIS A.J.

Apolipoprotein (a) gene resides on human chromosome 6q 26-27, in close proximity to the homologous gene for plasminogen.

Hum.Genet. 1988 ; 79 : 352-356

FRENK S.

Metabolic adaptation in protein-energy malnutrition.

J. Am. Coll. Nutr. 1986 ; 5 : 371-381

FRIEDEWALD W.T., LEVY R.I., FREDERICKSON D.S.

Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge.

Clin.Chem. 1972 ; 18 : 499-502

FRUCHART J.C., KORA I., CACHERA C., CLAVEY V., DUTHILLEUL P., MOSCHETTO Y.

Simultaneous measurement of plasma apolipoprotein A-1 and B by electroimmunoassay.

Clin.Chem. 1982 ; 28 : 59-62

FRUCHART J.C.

Lipids, lipoproteins, apolipoproteins and coronary artery assessed by coronary arteriography.

In 7th Meeting "European Lipoprotein Club", Tutzing, 10-13 Sept.1984 a

FRUCHART J.C., FIEVET C., OUVRY D., KOFFIGAN M., BEUCLER I., AYRAULT-

JARRIER M., DU BARRY M., MARCOVINA S.

Enzyme-linked immunoassay on microtitre plates for human apolipoprotein B.

Ric. Clin. Lab. 1984 b ; 14 : 569-574

FRUCHART J.C.

Valeur sémiologique des apolipoprotéines.

Rev.Méd.Int. 1985 ; 6 : 41-48

FRUCHART J.C.

Lipides ou lipoprotéines : quels paramètres choisir pour évaluer le risque cardio-vasculaire ?

Feuillets de Biologie 1987 ; 28 : 39-43

- FRUCHART J.C., MARCOVINA S., PUCHOIS P.
Laboratory measurement of plasma lipids and lipoproteins.
In Human plasma lipoproteins. Fruchart J.C., Sheperd J. (eds).
Walter de Gruyter publishers, Berlin, New-York, 1989 : 79-112
- GALLINA D.L., AUSMAN L.M., KRIAUCIUNAS K., HEGSTED D.M.
Dissociated response of plasma albumin and transferrin to protein-calorie restriction in squirrel monkeys (*Saimiri Sciurens*).
Am.J.Clin.Nutr. 1987 ; 46 : 941-948
- GARFINKEL A.G., NILSSON-EHLE P., SCHOTZ M.C.
Regulation of lipoprotein lipase. Induction by insulin.
Biochim.Biophys.Acta. 1976 ; 424 : 264-273
- GARROW J.S., FLETCHER K., HALLIDAY D.
Body composition in severe infantile malnutrition.
J.Clin.Invest. 1965 ; 44 : 417-425
- GARROW J.S., WEBSTER J.
Quetelet's index (W/H²) as a measure of fatness
Int.J.Obes. 1985 ; 9 : 147-153
- GARRY P.J., OWEN G.M.
An automated flavin adenine dinucleotide-dependent glutathione reductase assay for assessing riboflavin nutriture.
Am J Clin Nutr. 1976 ; 29 : 663-674
- GHISELLI G., KRISHNAN S., BEIGEL Y., GOTTO A.M.Jr.
Plasma metabolism of apoprotein A IV in humans.
J.Lipid.Res. 1986 ; 27 : 813-827
- GHISOLFI J., CHARLET P., SERN N., SALVAYNE R., THOUVENOT J.P., DUOLE C.
Plasma free amino acid in normal children and in patients with protein-caloric malnutrition, fasting and infection.
Pediatr Res. 1978 ; 12 : 912-917
- GHISOLFI J., STEBENET M., OLIVES J.P., PERIQUE I., GAREIA J., THOUVENOT J.P.
Variation du taux plasmatique des protéines de transport au cours des états infectieux et de malnutrition.
3ème symposium, Société Française de nutrition entérale et parentérale.
Bordeaux 1982
- GIANNELLA RA, BROITMAN SA, ZAMCHECK N.
Competition between bacteria and intrinsic factor for vitamin B12 : Implication for vitamin B12 malabsorption in intestinal bacterial overgrowth.
Gastroenterology 1972 ; 62 : 255-260
- GIBSON J.C., RUBINSTEIN A., BUKBERG P.R., BROWN W.V.
Discrete apo E rich lipoproteins can be isolated by immunoaffinity chromatography.
Arteriosclerosis. 1982 ; 2 : 432 a
- GOBEZIE A. ; WOLDE GEBRIEL Z. ; PEEL S.
A guide to emergency feeding.
Addis Abeba : Ethiopian Nutrition Institute and Ministry of Health
(undated)
- GOLDBERG A.C., SCHONFELD G.
Effect of diet on lipoprotein metabolism.
Annu.Rev.Nutr. 1985 ; 5 : 195-212

GOLDEN M.H., RAMDATH D.

Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor.

Proc. Nutr. Soc. 1987 ; 46 : 53-68

GOLDEN N.H., KREITZER P., JACOBSON M.S., CHASALOW F.I., SCHEBENDACH J., FREEDMAN S.M., STRENKER I.R.

Disturbances in growth hormone secretion and action in adolescents with anorexia nervosa.

J.Pediatr. 1994 ; 125 : 655-660

GOLDSTEIN J.L., BROWN M.S.

Atherosclerosis, the low-density lipoprotein receptor hypothesis.

Metabolism. 1977a ; 26 : 1257-1275

GOLDSTEIN J.L., BROWN M.S.

The low-density pathway and its relation to atherosclerosis.

Annu.Rev.Biochem. 1977b ; 46 : 897-930

GOMEZ F., GALVAN R.R., FRENK S., MUNOZ J.C., CHAVEZ R., VASQUEZ J.

Mortality in second and third degree malnutrition.

J.Trop.Pediatr. 1956a ; 2 : 77-83

GOMEZ F., RANOS GALVAN R., CRAVIOTO J., FRANK S., VASQUEZ SANTOLLA J., DE LA PENA C.

Fat absorption in chronic severe malnutrition in children.

Lancet 1956b ; 2 : 121-122

GONG D.W., HE Y., KARAS M., REITMAN M.

Uncoupling protein-3 is a mediator of thermogenesis regulated by thyroid hormones, beta-3-adrenergic agonists, and leptin.

J.Biol.Chem. 1997 ; 272 : 24129-24132

GOODMAN S.I.

Organic aciduria in the riboflavin-deficient rat.

Am.J.Clin.Nutr. 1981 ; 34 : 2434-2437

GOPALAN C.

Kwashiorkor and marasmus : evolution and distinguishing features.

In : McCance RA., Widdowson R., (eds).

Calorie Deficiencies and Protein Deficiencies.

Edinburgh ; Churchill. Livingstone. 1968 ; 49-58

GOTO H., ISHIKAWA N., SHIOIRI T., HATTORI Y., NOMURA H.

Diagnostic significance of serum orosomucoid level in bacterial infections during neonatal period.

Acta Paediatr.Scand. 1973 ; 62 : 629-632

GOTTLIEB C., LAN K.S., WASSERMAN L.A., HUBERT V.

Rapid charcoal assay for intrinsic factor (IF), gastric juice unsaturated B 12 binding capacity .

Blood 1965 ; 25 : 875-884

GRAITCER P.L., GENTRY E.M.

Measuring children : one reference for all.

Lancet 1981 ; 2 : 297-299

GRASBECK R., SIMONS K., SINKKONEN I.

Isolation of intrinsic factor and its probable degradation product, as their vitamin B12 complex, from human gastric juice.

Biochim.Biophys.Acta 1966 ; 127 : 47-58

- GRASBECK R., VISURI K., STENMAN U.H.
The vitamin B12 binding protein in human saliva. Isolation, characterization and comparison with the unpurified protein.
Biochim.Biophys.Acta 1972 ; 263 : 721-733
- GREEN P.H., TALL A.R., GLICKMAN R.M.
Rat intestine secretes discoidal high density lipoprotein.
J.Clin.Invest. 1978 ; 61 : 528-534
- GREEN P.H., GLICKMAN R.M.
Intestinal lipoprotein metabolism.
J.Lipid Res. 1981a ; 22 : 1153-1173
- GREEN R., JACOBSEN D.W., VAN TONDERS S.V., KEW M.C., METZ J.
Enterohepatic circulation of cobalamin in the non human primate.
Gastroenterology 1981b ; 81 : 773-776
- GREEN A., MARSHAL T.G., BENNETT M.J., GRAY R.G., POLLITT R. J.
Riboflavin-responsive ethylmalonic-adipic aciduria.
J.Inherit.Metab.Dis. 1985 ; 8 : 67-70
- GREGERSEN N.
The occurrence of C6-C10 dicarboxylic acids, ethylmalonic acid, 5-hydroxycaproic acid, butyrylglycine, isovaleryl glycine, 2-methylbutyrylglycine and glutaric acid in the urine of riboflavin deficient rats.
J.Inherit.Metab.Dis. 1982 a ; 5 : 17-18
- GREGERSEN N., WINTZENSEN H., CHRISTENSEN S.K., CHRISTENSEN M.F., BRANDT N.J., RASMUSSEN K.
C6-C10-dicarboxylic aciduria : investigations of a patient with riboflavin responsive multiple acyl-CoA dehydrogenation defects.
Pediatr.Res. 1982 b ; 16 : 861-868
- GREGERSEN N., RHEAD W., CHRISTENSEN E.
Riboflavin responsive glutaric aciduria type II.
Prog.Clin.Biol.Res. 1990 ; 321 : 477-494
- GROMISCH D.D., LOPEZ R., COLE H.S., COOPERMAN J.M.
Light (phototherapy) induced riboflavin deficiency in the neonate.
J.Pediatr. 1977 ; 90 : 118-122
- GUEANT J.L., MONIN B., BOISSEL P. GAUCHER P. NICOLAS J.P.
Biliary excretion of cobalamin and cobalamin analogs in man.
Digestion. 1984 ; 30 : 151-157
- GUEANT J.L., DJALALI M., AOUADJ R., GAUCHER P., MONIN B., NICOLAS J.P.
In vitro and in vivo evidences that the malabsorption of cobalamin is related to its binding on haptocorrin (R binder) in chronic pancreatitis.
Am.J.Clin.Nutr. 1986 ; 44 : 265-277
- GUEANT J.L., GRASBECK R.
Assimilation of cobalamins.
In : *Cobalamin and Related Binding Proteins in Clinical Nutrition.*
GUEANT J.L., NICOLAS J.P. eds.
Paris. Elsevier 1990 ; 33-53
- GUEANT J.L., NAMOUR F., AIMONE-GASTIN I., NICOLAS J.P.
Vitamines B12 (Cobalamines).
Données non publiées ; 1999.

- GURSON TICI, SANER G.
Lipoprotein lipase activity in marasmic type of protein caloric malnutrition.
Arch.Dis.Child 1969 ; 44, 765-768
- HAILEMARIAM B., LANDMAN J.P., JACKSON A.A.
Thiamin status in normal and malnourished children in Jamaica.
Br.J.Nutr. 1985 ; 53 : 477-483
- HALL C.A., FINKLER A.E.
The dynamic of transcobalamin II. A vitamin B12 substance in plasma.
J. Lab. Clin. Med. 1965 ; 65 : 459-468
- HALL C.A., GREEN P.D.
Competition between apo and holo transcobalamin II (TC II) for the TC II-mediated uptake process.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1978 ; 158 : 206-209
- HALL C.A., HITZIG W.H., GREEN P.D., BEGLEY J.A.
Transport of therapeutic cyanocobalamin in the congenital deficiency of transcobalamin II (TC II).
Blood 1979 ; 53 : 251-263
- HALMI K.A.
Anorexia Nervosa. In : Comprehensive Textbook of Psychiatry III ; KAPLAN H.J., FREEDMAN A.M., SADOCK B.J. (eds).
Baltimore : MD, WILLIAMS and WILKINS 1980 ; 1882-1891
- HALMI K.A., STRUSS A.L., OMEN W.P., STEGINK L.D.
Plasma and erythrocyte amino acid concentrations in anorexia nervosa.
J.P.E.N. 1987 ; 11 : 458-464
- HALMI K.A.
The psychobiology of eating behavior in anorexia nervosa.
Psychiat. Res. 1996 ; 16 : 23-29
- HAMAJIMA S., ONO S., HIRANO H., OBARA K.
Induction of the FAD synthetase system in rat liver by phenobarbital administration.
Int.J.Vitam.Nutr.Res. 1979 ; 49 : 59-63
- HAMILTON R.L., WILLIAMS M.C., FIELDING C.J., HAVEL R.J.
Discoidal bilayer structure of nascent high density lipoprotein from perfused rat liver.
J.Clin.Invest. 1976 ; 58 : 667-680
- HAMILTON R.L.
Hepatic secretion and metabolism of high density lipoproteins.
In Disturbances in Lipid and Lipoprotein Metabolism.
Dietschy J., Ontko J.A., Gotto A.M. (eds).
Am.Physiol.Soc.Bethesda 1978 ; 155-171
- HANSEN S., PERRY T.L., LESK D., GIBSON L.
Urinary bacteria : potential source of some organic acidurias.
Clin.Chim.Acta. 1978 ; 39 : 71-74
- HAVEL R.J., ENER H.A., BRAGDON J.H.
Distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum.
J.Clin.Invest. 1955 ; 34 : 1345-1353
- HAVEL R.J.
Lipid transport function of lipoproteins in blood plasma.
Am.J.Physiol. 1987 ; 253 : E 1 - E 5

HAVEL R.J., Kane J.P.

Structure and metabolism of plasma lipoproteins.

In : SCRIVER C., BEAUDET A., SLY W., VALLE D. eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.

New York, NY : McGraw-Hill ; 1995 : 1841-1851.

HAY R.W., WHITEHEAD R.G., SPICER C.

Serum albumin as a prognostic indicator in oedematous malnutrition.

Lancet 1975 ; 2 : 427-429

HEBEBRAND J., HIMMELMAN G.W., HERZOG W., HERPERTZ-DAHLMANN B.M., STEINHAUSEN H.C., AMSTEIN M., SEIDEL R., DETER H.C., REMSCHMIDT H., SCHAFFER H.

Prediction of low body weight at long term follow-up in acute anorexia nervosa by low body weight at referral.

Am.J.Psychiat. 1997 ; 154 : 566-569

HEGSTED D.M., MAC GANDY R.B., MYERS M.L., STARE F.

Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man.

Am. J. Clin. Nutr. 1965 ; 17 : 281-295

HEMMILA I., DAKUBU S., MUKKALA V.M., SIITARI H., LOVGREN T.

Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays.

Anal. Biochem. 1984 ; 137 : 335-343

HENDRICKSE R.G., COULTER J.B.S., LAMPLUGH S.M., MAC FARLANE S.B., WILLIAMS T.E., SULIMAN G.I.

Aflatoxins and kwashiorkor : a study in Sudanese children.

Br.Med.J. 1982 ; 285 : 843-846

HENDRICKSE R.G.

The influence of aflatoxins on child health in the tropics with particular reference to kwashiorkor.

Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg. 1984 ; 78 : 427-435

HENDRICKSE R.G.

Kwashiorkor : 50 years of myth and mystery. Do aflatoxins provide a clue ?

Acta Leiden. 1985 ; 53 : 11-30

HENDRICKSE R.G.

Kwashiorkor and Aflatoxins.

J.Pediatr.Gastr.Nutr. 1988 ; 7 : 633-636

HERBERT V., COLMAN N.

Elevated levels of vitamin B12 analogues in alcoholism.

Blood 1979 ; 54 : 40 A

HERBERT V.

Vitamin B-12: plant sources, requirements, and assay.

Am. J. Clin. Nutr. 1988 ; 48 : 852-858

HERSHMAN J.M., DUE D.T., SHARP B., MY L., KENT J.R., BINH L.N., REED A.W., PHUC L.D., VAN HERLE A.J., THAI N.A., TROUNG T.X., VAN N.V., SUGAWARA M., PEKARY A.E.

Endemic goiter in Vietnam.

J.Clin.Endocrinol.Metab. 1983 ; 57 : 243-249

HERZLICH B., HERBERT V.

Depletion of serum holotranscobalamin II. An early sign of negative vitamin B12 balance.

Lab.Invest. 1988 ; 58 : 332-337

- HERZOG D.B., KELLER M.B, LAVORI P.W.
Outcome in anorexia nervosa and bulimia nervosa. A review of the literature.
J.Nerv.Ment.Dis. 1988 ; 176 : 131-143
- HEYMSFIELD S.B., ARTEAGA C., MAC MANUS C., SMITH J., MOFFITTS S.
Measurement of muscle mass in humans : validity of the 24-hour urinary creatinine method.
Am.J.Clin.Nutr. 1983 ; 37 : 478-494
- HIGGINBOTTOM MC., SWEETMAN L., NYHAN WL.
A syndrome of methylmalonic aciduria, homocystinuria, megaloblastic anemia and neurologic abnormalities in a vitamin B12 deficient breast fed infant of a strict vegetarian.
N Eng J Med 1978 ; 299 : 317-323
- HITZIG W.H., DOHMANN V., PLUSS H.J., VISCHER D.
Hereditary transcobalamin II deficiency : clinical findings in a new family.
J.Pediatr 1974 ; 85 : 622-628
- HOELDTKE R.D., WURTMAN R.J.
Excretion of catecholamines and catecholamine metabolites in kwashiorkor.
Am.J.Clin.Nutr., 1973, 26 : 205-210
- HOEK H.W.
The incidence and prevalence of anorexia nervosa and bulimia nervosa in primary care.
Psychol.Med. 1991 ; 21 : 455-460
- HOLEMANS K., LAMBRECHT A.
Nitrogen metabolism and fat absorption in malnutrition and in kwashiorkor.
J.Nutr. 1955 ; 56 : 477-494
- HOLLELAND G., SCHNEEDE J., UELAND P.M., LUND P.K., REFSUM H., SANDBERG S.
Cobalamin deficiency in general practice. Assessment of the diagnostic utility and cost-benefit analysis of methylmalonic acid determination in relation to current diagnostic strategies.
Clin.Chem. 1999 ; 45 : 189-198
- HOLMAN R.T., JOHNSON S.B., MERCURI O., ITARTE H.J., RODRIGO M.A.,
DE TOMAS M.E.
Essential fatty acid deficiency in malnourished children.
Am.J.Clin.Nutr. 1981 ; 34 : 1534-1539
- HOLMAN R.T., ADAMS C.E., NELSON R.A., GRATER S.J., JASKIEWICZ J.A.,
JOHNSON S.B., ERDMAN J.W.Jr.
Patients with anorexia nervosa demonstrate deficiencies of selected essential fatty acids, compensatory changes in nonessential fatty acids and decreased fluidity of plasma lipids.
J.Nutr. 1995 ; 125 : 901-907
- HOLT L.E., SNYDERMAN S.E., NORTON P.M., ROITMAN E., FINCH J.
The plasma aminogram in kwashiorkor.
Lancet 1963 ; 2 : 1343-1348
- HOPPEL C.L., DI MARCO J.P., TANDLER B.
Riboflavin and rat hepatic structure and function. Mitochondrial oxidative metabolism in deficiency states.
J.Biol.Chem. 1979 ; 254 : 4164-4170
- HOTTA M., SHIBASAKI T., MASUDA A., IMAKI T., DEMURA H., LING N., SHIZUME K.
The response of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1986 ; 62 : 319-324

HOUSSAINI F.Z., FOULON T., IRAQI M.R., PAYEN N., GROSLAMBERT P.
Lipids, lipoproteins, and fatty acids during infantile marasmus in the Fes area of Morocco.
Biomed.Pharmacother. 1999 ; 53 : 278-283

HUSTAD S., UELAND P.M., SCHNEEDE J.
Quantification of riboflavin, flavin mononucleotide, and flavin adenine dinucleotide in human plasma
by capillary electrophoresis and laser-induced fluorescence detection.
Clin.Chem., 1999 ; 45 : 862-868

INGENBLEEK Y.
Thyroid function in Nutritional Disorders.
Pediat.Adolesc.Endocr. 1985b ; 14 : 345-368

INGENBLEEK Y., DE VISSCHER M., DE NAYER P.
Measurement of prealbumin as index of protein-calorie malnutrition.
Lancet 1972 ; 2 : 106-109

INGENBLEEK Y., VAN DEN SCHRIECK H.G., DE NAYER P., DE VISSCHER M.
Albumin, transferrin and the thyroxin-binding prealbumin/retinol binding protein (TBPA/RBP)
complex in assessment of malnutrition.
Clin.Chim.Acta. 1975a ; 63 : 61-67

INGENBLEEK Y., VAN DER SCHRIECK H.G., DE NAYER P., DE VISSCHER M.
The role of retinol-binding protein in protein-calorie malnutrition.
Metabolism, 1975b ; 24 : 633-641

INGENBLEEK Y., CARPENTIER Y.A.
A pronostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients.
Int.J.Vitam.Nutr.Res. 1985 ; 55 : 91-101

INNERARITY T.L., MAHLEY R.W.
Enhanced binding by cultured human fibroblasts of apo-E-containing lipoprotein as compared with
LDL.
Biochem. 1978 ; 17 : 1440-1447

JACKSON A.A., GOLDEN M.H.
(15N) Glycine metabolism in normal man : the metabolic alpha-amino-nitrogen pool.
Clin.Sci. 1980 ; 58 : 517-522

JACOB E., WONG K.J., HERBERT V.
A simple method for the separate measurement of transcobalamins I, II and III : normal ranges in
serum and plasma in men and in women.
J.Lab.Clin.Med. 1977 ; 89 : 1145-1152

JAGUENAUD P., MALON D., COSNES J., REVEILLARD V., APFELBAUM M., RIGAUD D.
Lipoprotéines plasmatiques et anorexie mentale. Effet de la réalimentation.
Cah.Nutr.Diét. 1996 ; 31 : 45-50

JAHN C.E., OSBORNE J.C., SCHAEFER E.J., BREWER H.B. Jr.
Activation of the enzyme activity of hepatic lipase by apolipoprotein A II. Characterization of a major
component of high density lipoprotein as the activating plasma component in vitro.
Eur.J.Biochem. 1983 ; 131 : 25-29

JAYA RAO K.S., KRISHNA PRASAD P.S.
Serum triglycerides and non esterified fatty acid in kwashiorkor.
Am.J.Clin.Nutr. 1966 ; 19 : 205-209

- JEAMMET P.F., BRECHON G., PAYAN C., GEORGE A., FERMANIAN J.
Le devenir de l'anorexie mentale : une étude prospective de 129 patients évalués au moins 4 ans après leur première admission.
Psychiatr.Enfant. 1991 ; 34 : 381-442
- JEAMMET P.
Anorexie mentale et boulimie de l'adolescence. Diagnostic, traitement.
Rev.Prat. 1993 ; 43 : 2289-2293
- JELLIFFE D.B.
Infant nutrition in subtropics and tropics.
WHO, Monogr.Ser. 1955 ; 29-99
- JELLIFFE D.B.
Assessment of the nutritional status of the community.
Geneva : WHO, WHO monogr series n°53, 1966
- JELLIFFE D.B.
L'alimentation du nourrisson dans les régions tropicales et subtropicales.
O.M.S. Ed.
Genève. 1970 ; 196-279
- JOHNSON C.L., SANSONE R.A., CHEWNING M.
Good reasons why young women would develop anorexia nervosa : the adaptative context.
Pediatr. Ann. 1992 ; 21 : 731-733
- JOHNSON P., HARRIS C.I., PERRY S.V.
3 methyl histidine in actin and others muscle proteins.
Biochem.J. 1967 ; 105 : 361-370
- JONAS A., SWEENEY S.A., HERBERT P.N.
Discoidal complexes of A and C apolipoproteins with lipids and their reaction with lecithin cholesterol acyltransferase.
J.Biol.Chem. 1984 ; 259 : 6369-6375
- JOUQUAN J., GARRE M., PENNEC Y., MORIN J.F., YOURINON P., BOLES J.M., MOTTIER D., LE GOFF P., LE MENN G.
Prévalence des anomalies des protéines de la malnutrition à l'admission en médecine interne.
Etude à propos de 260 adultes hospitalisés.
Presse Méd. 1983 ; 12 : 877-881
- JUSKO W.J., LEVY G.
Absorption, protein binding and elimination of riboflavin.
In : RIVLIN R.S. (ed). New York : Riboflavin Plenum Press 1975 : 99-102
- KAMALU B.P.
Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in the aetiology of kwaskiorkor.
Nutr.Res. 1993 ; 6 : 121-135
- KANAI M., RAZ A., GOODMAN D.S.
Retinol binding protein : the transport protein for vit A in human plasma.
J.Clin.Invest. 1968 ; 47 : 2025-2044
- KANAWATI A.A., MCLAREN D.S.
Assessment of marginal nutrition.
Nature 1970 ; 228 : 573-575
- KANAZAWA S. HERBERT V., HERZLICH B., DRIVAS G., MANUSSELIS C.
Removal of cobalamin analogue in bile enterohepatic circulation of vitamin B12.
Lancet 1983 ; 2 : 707-708

KANAZAWA S. HERBERT V.

Total corrinoid cobalamin (vitamine B12) and cobalamin analogue levels may be normal in serum despite cobalamin in liver depletion in patients with alcoholism.

Lab.Invest. 1985 ; 53 : 108-110

KANE J.P., HARDMAN D.A., PAULUS H.E.

Heterogeneity of apolipoprotein B. Isolation of a new species from human chylomicron.

Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1980 ; 77 : 2465-2469

KANIS J.A., BROWN P., FITZPATRICK, HIBBERT D.J., HORN D.B., NAIRN I.M., SHIRLING D., STRONG J.A., WALTON H.J.

Anorexia nervosa : a clinical, psychiatric and laboratory study. I. Clinical and laboratory investigation.

Q.J.Med. 1974 ; 43 : 321-338

KAYE W.H., GWIRTSMAN H.E., GEORGE D.T., EBERT M.H., JIMERSON D.C.,

TOMAI T.D., CHROUSOS G.P., GOLD P.W.

Elevated cerebrospinal fluid levels of immunoreactive corticotropin-releasing hormone in anorexia nervosa : relation to state of nutrition, adrenal function and intensity of depression.

J.Clin.Endocrinol.Metab. 1987 ; 64 : 203-208

KEET M.P., HANSEN J.D., TRUSWELL A.S.

Are skinfold measurements of value in the assessment of suboptimal nutrition in young children ?

Pediatrics 1970 ; 45 : 965-972

KEMPEN H.J., GLATZ J.F., GEVERS LEUVEN J.A., VAN DER VOORT H.A., KATAN M.B.

Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans.

J.Lipid.Res. 1988 ; 29 : 1149-1155

KERN P.A., ONG J.M., GOERS J.W., PEDERSEN M.E.

Regulation of lipoprotein lipase immunoreactive mass in isolated human adipocytes.

J.Clin.Invest. 1988 ; 81 : 398-406

KHALIL M, TANIOS A, MOGHAZY M, AREFMK, MAHMOUD S, EL LOZY M.

Serum and red cell folates, and serum vitamin B12 in protein calorie malnutrition.

Arch.Dis.Child 1973 ; 48 : 366-369

KHANUM S., ALAN A.N., ANWAR I., AKBAR AU.M., MUJIBUR RAHAMAN M.

Effect of zinc supplementation on the dietary intake and weight gain of Bangladeshi children recovering from protein-energy malnutrition.

Eur.J.Clin.Nutr., 1988 ; 42 : 709-714

KIYOHARA K., TAMAI H., TAKAICHI Y., NAKAGAWA T., KUMAGAI L.F.

Decreased thyroidal triiodothyronine secretion in patients with anorexia nervosa : influence of weight recovery.

Am.J.Clin.Nutr. 1989 ; 50 : 767-772

KLINEFELTER H.F.

Hypercholesterolemia in anorexia nervosa.

J.Clin.Endoc. 1965 ; 25 : 1520-1521

KOFFIGAN M., KORA I., CLAVEY V., BARD J.M., CHAPMAN J., FRUCHART J.C.

Quantification of human apolipoprotein E in plasma and lipoprotein subfractions by a non-competitive enzyme Immunoassay.

Clin. Chim. Acta. 1987 ; 163 : 245-256

KOLATA G.

Depression, anorexia, Cushing's link revealed.

Science 1986 ; 232 : 1197-1198

- KOLETZKO B., ABIODUN P.O., LARYEA M.D., BREMER H.J.
Fatty acid composition of plasma lipids in Nigerian children with protein-energy malnutrition.
Eur.J.Pediatr. 1986 ; 145 : 109-115
- KOLHOUSE J.E., ALLEN R.H.
Absorption, plasma transport, and cellular retention of cobalamin analogues in the rabbit. Evidence for existence of multiple mechanisms that prevent the absorption and tissue dissemination of naturally occurring cobalamin analogues.
J. Clin. Invest. 1977 ; 60 : 1381-1392
- KOLHOUSE J.E., KONDO H., ALLEN N.C., PODELL E., ALLEN R.H.
Cobalamin analogues are present in human plasma and can mask cobalamin deficiency because current radioisotope dilution assays are not specific for true cobalamin.
N. Engl. J. Med. 1978 ; 299 : 785-792
- KOMAKI G., TAMAI H., MUKUTA T., KOBAYASHI N., MORI K., NAKAGAWA T.
Alteration in endothelium-associated proteins and serum thyroid hormone concentrations in anorexia nervosa.
Br.J.Nutr. 1992 ; 68 : 67-75
- KON S.K.
Other factors related to the vitamin B12.
In : *Biochemistry of vitamin B12.* WILLIAMS RT ed.
Cambridge University Press. 1955 ; 17-35
- KOREN E., Mc CONATHY W.J., ALAUPOVIC P.
Isolation and characterization of simple and complex lipoproteins containing from human plasma.
Biochemistry 1982 ; 21 : 5347-5351
- KOREN E., PUCHOIS P., ALAUPORIC P., FESUVIE S., KANDOUSSI A., FRUCHART J.C.
Quantification of two different types of apolipoprotein A-I containing lipoprotein particles in plasma by enzyme-linked differential-antibody immunosorbent assay.
Clin. Chem. 1987 ; 33 : 38-43
- KOSTNER G., ALAUPOVIC P.
Studies of the composition and structure of plasma lipoproteins. Separation and quantification of the lipoprotein families occurring in the high density lipoproteins of human plasma.
Biochemistry. 1972 ; 11 : 3419-3428
- KREMPLER F., KOSTNER G.M., BOLZANO K., SANDHOFER F.
Lipoprotein (a) is not a metabolic product of other lipoproteins containing apolipoprotein B.
Biochim.Biophys.Acta. 1979 ; 575 : 63-70
- KREMPLER F., KOSTNER G.M., BOLZANO K., SANDHOFER R.
Turnover of lipoprotein (a) in man.
J.Clin.Invest. 1980 ; 65 : 1483-1490
- KRISTENSEN K., PEDERSEN S.B., LANGDAHL B.L., RICHELSEN B.
Regulation of leptin by thyroid hormone in humans : studies in vivo and in vitro.
Metabolism 1999 ; 48 : 1603-1607
- KUNITAKE S.T., Mc VICAR J.P., HAMILTON R.L., KANE J.P.
Isolation of human high density lipoproteins by immunoaffinity chromatography.
Atherosclerosis. 1982 ; 45 : 442 a
- KUUSI T., YKI-JARVINEN H., KAUPPINEN-MAKELIN R., JAUHAINEN M., EHNHOLM C., KAUPPILA M., SEPPALA P., VIIKARI J., KUJANSUU E., RAJALA S. et al.
Effect of insulin treatment on serum lipoprotein(a) in non insulin dependant diabetes.
Eur.J.Clin.Invest. 1995 ; 25 : 194-200

- LAKSHMI R., LAKSHMI A.V., BAMJI M.S.
Mechanism of impaired skin collagen maturity in riboflavin or pyridoxine deficiency.
J.Biosci. 1990 ; 15 : 289-295
- LAKSHMI R., LAKSHMI A.V., BAMJI M.S.
Phagocytosis in riboflavin or pyridoxine deficient rats.
J.Nutr.Biochem. 1994 ; 5 : 189-192
- LAMPLUGH S.M., HENDRICKSE R.G.
Aflatoxins in the livers of children with kwashiorkor.
Ann.Trop.Paediatr. 1982 ; 2 : 101-104
- LANGAN S.M., FARELL P.M.
Vitamin E, vitamin A and essential fatty acid status of patients hospitalized for anorexia nervosa.
Am.J.Clin.Nutr. 1985 ; 41 : 1054-1060
- LARGILLIERE C., FONTAINE M., MARRAKCHI S., VOISIN-TABOUREAU O.
Pseudo-glutaric aciduria type II in a patient with celiac disease.
J.Pediatr. 1993 ; 122 : 504
- LARON Z., WANG X.L., KLINBER B., SILBERGELD A., WILEKEN D.E.
Growth hormone increases and insulin-like growth factor decreases circulating lipoprotein(a).
Eur.J.Endocrinol. 1997 ; 136 : 377-381
- LARSEN R.P., DAVIS T.F., HAY I.D.
The thyroid gland.
In : WILSON J.D., FOSTER D.W., KRONENBERG M.M., LARSEN P.R. (eds)
Williams Textbook of Endocrinology (9th ed), Philadelphia : SAUNDERS 1998 ; 389-515
- LASEGUE C.
De l'anorexie hystérique.
Arch.Gen.Méd. 1873 ; 1 : 383-403
- LAXENAIRE M., WESTPHAL C.
Les déviations du comportement alimentaire.
Encycl. Med. Chir., Glandes-Nutrition, 10308 D10, 1989 ; 6p
- LE BARZIC M., POUILLON M.
Anorexie et boulimie.
La lettre de l'institut Danone 1996 ; 29 : 3-4
- LEE S.S., MAC CORMICK D.B.
Effect of riboflavin status on hepatic activities of flavin-metabolizing enzymes in rats.
J.Nutr. 1983 ; 113 : 2274-2279
- LEE S.S., MAC CORMICK D.B.
Thyroid hormone regulation of flavocoenzyme biosynthesis.
Arch.Biochem.Biophys. 1985 ; 237 : 197-201
- LEFEBVRE E., VIDAILHET M., ROUSSELOT J.M., MORALI A.
Méthodologie d'étude des acides organiques chez l'enfant.
CR.Séances. Soc. Biol.Fil. 1982 ; 176 : 30-38
- LEGRADI G., EMERSON C.H., AHIMA R.S., FLIER J.S., LECHAN R.M.
Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus.
Endocrinology 1997 ; 138 : 2569-7256

- LEHOUX J.G., LEFEBVRE A., DE MEDICIS E., BELISLE S., BELLABARBA D.
The enhancing effect of adrenocorticotropin on adrenal 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase messenger ribonucleic acid levels is inhibited by aminoglutethimide but not by cycloheximide.
Endocrinology 1989 ; 125 : 158-164
- LEJEUNE-LENAIN C., FONDU P.
Serial measurements of vitamin B12 and vitamin-B12-binding capacity in marasmic kwashiorkor.
Clin.Chim.Acta 1975 ; 59 : 81-86
- LEJOYEUX M., BOUVARD M.P., VIRET J., DA VELOOSE D., ADES J., DUGAS M.
Modifications of erythrocyte membrane fluidity from patients with anorexia nervosa before and after refeeding.
Psychiat.Res. 1996 ; 59 : 255-258
- LE MOEL G.
Vitamine B2 ou riboflavine.
In "Le statut vitaminique".
LE MOEL G., SAVEROT-DAUVERGNE A., GOUSSON T., GUEANT J.L. (eds).
Paris : Editions Médicales Internationales 1997 ; 197-221
- LENHARTZ H., NDASI R., ANNINOS A., BOTTICHER D., MAYATEPEK E., TETANYE E., LEICHSEBRING M.
The clinical manifestation of the kwashiorkor syndrome is related to increased lipid peroxidation.
J. Pediatr. 1998 ; 132 : 879-881
- LEUNG N.W., PETERS T.J.
Palmitic acid oxidation and incorporation into triglyceride by needle liver biopsy specimens from control subjects and patients with alcoholic fatty liver disease.
Clin.Sci. 1986 ; 71 : 253-260
- LEWIS B., HANSEN J.D.L., WITTMAN W., KRUT L.H., STEWART B.
Plasma free fatty acids in kwashiorkor and the pathogenesis of the fatty liver.
Am.J.Clin.Nutr. 1964 ; 15 : 161-168
- LINDENBAUM J.
Folate and vitamin B12 deficiencies in alcoholism.
Semin.Hematol. 1980 ; 17 : 119-129
- LINDENBAUM J, HEALTON EB, SAVAGE DG., BRUST J.C., GARRETT T.J., PODELL E.R., MARCELL P.D., STABLER S.P., ALLEN R.H.
Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis.
N. Engl. J. Med .1988 ; 318 : 1720-1728
- LINDTJØRN B.
Measuring acute malnutrition : a need to redefine cut-off points for arm circumference ?
Lancet 1985 ; 2 : 1229-1230
- LOCK D.R., VARHOL A., GRIMES S., PATSCH W., SCHONFELD G.
Apo A I / Apo A II ratios in plasmas of vegetarians.
Metabolism 1983 ; 32 : 1142-1145
- LOMBARDI. B., UGAZIO G.
Serum lipoproteins in rats with carbon tetrachloride induced fatty liver.
J.Lipid.Res. 1965 ; 6 : 498-505
- LOMBARDI. B.
Considerations on the pathogenesis of fatty liver.
Lab.Invest. 1966 ; 15 : 1-20

- LONG C.L., BIRKHAHN R.H., GIEGER J.W., BETTS J.E., SCHILLER W.R., BLAKEMORE W.S.
Urinary excretion of 3-methylhistidine : an assessment of muscle protein catabolism in adult normal subjects, and during malnutrition, sepsis, and skeletal trauma.
Metabolism 1981 ; 30 : 765-776
- LOPEZ F, COLE HS, MONTOYA MF, COOPERMAN IM.
Riboflavin deficiency in a pediatric population of low socioeconomic status in New York City.
J.Pediatr. 1975 ; 87 : 420-2
- LUC G., TURPIN G., DE GENNES J.L.
Les apoprotéines : structures, fonctions et modifications pathologiques.
Ann.Méd.Int. 1983 ; 134 : 695-701
- LUKE A., SCHOELLER D.A.
Basal metabolic rate, fat free mass and body cell mass during energy restriction.
Metabolism. 1992 ; 41 : 450-456
- LULEY C.H., PUCHOIS P., KLOER H.U.
The effect of different isolation procedures on high density lipoprotein subfractions obtained by isoelectric focusing.
Clin.Chim.Acta. 1985 ; 146 : 185-193
- LUNN P.G., MORLEY C.J., NEALE G.
A case of kwashiorkor in the UK.
Clin. Nutr. 1998 ; 17 : 131-133
- MAC CLAIN C.J., STUART M.A., VIVIAN B., MAC CLAIN M., TALWALKER R., SNELLING L., HUMPHRIES L.
Zinc status before and after zinc supplementation of eating disorder patients.
J.Am.Coll.Nutr. 1992 ; 11 : 694-700
- MAC CORMICK D.B.
Two interconnected B vitamins : riboflavin and pyridoxine.
Physiol. Rev. 1989 ; 69 : 1170-1198
- MAC DONALD I., HANSEN J.D.L., BRONTE STEWARD B.
Liver, depot and serum lipids during early recovery in kwashiorkor.
Clin.Sci. 1963 ; 24 : 55-61
- MAC DOUGALL LG, ROSS GI.
Serum vitamin B12 concentrations in Kwashiorkor and Marasmus.
J.Pediatr. 1960 ; 57 : 589-593
- MAC FARLANE H., OGBEIDE M.I., REDDY S., ADCOCK K.J., ADESHINA H., GURNEY J.M., COOKE A., TAYLOR G.O., MORDIE J.A.
Biochemical assessment of protein-calorie malnutrition.
Lancet 1969 ; 1 : 392-394
- MACIEJKO J.J., HOLMES D.R., KOTTKE B.A., ZINSMEISTER A.R., DINH D.M., MAO S.J.
Apolipoprotein A I as a marker of angiographically assessed coronary-artery disease.
N.Engl.J.Med. 1983 ; 309 : 385-389
- MAC LAREN D.S., KAMEL W.W., AYYOUR N.
Plasma amino acids and the detection of protein-caloric malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1965 ; 17 : 152-157

MAC LAREN D.S., PELLET P.L., READ W.W.C.

A simple scoring system for classifying the severe forms of protein-caloric malnutrition of early childhood.

Lancet 1967 ; 1 : 533-535

MAC LAREN D.S., LOSHKAJIAN H., KANAWAKI A.A.

Urinary creatinine and hydroxyproline in relation of childhood malnutrition.

Brit.J.Nutr. 1970 ; 24 : 641-651

MAC LAREN D.S.

The fat-soluble vitamins and protein-calorie (energy) malnutrition.

In Protein Caloric Malnutrition.

R.E.Olson Ed. Acad.Press., New-York 1975 ; 181-194

MAC NABB F.M.A., KING D.B.

Thyroid hormone effects on growth, development and metabolism.

In : The Endocrinology of Growth, Development and Metabolism of Vertebrates.

SCHREIBMAN M.P., SCANES C.G., PANG P.K.T.(eds)

New York : Academic Press 1993 ; 393-417

MAC NABB F.M.

Thyroid hormone, their activation, degradation and effects on metabolism.

J.Nutr. 1995 ; 125 : 1773S-1776S

MAHLEY R.W., INNERATY T.L., RALL S.C., WEISGRABER K.H.

Plasma lipoproteins : apolipoprotein structure and function.

J.Lipid.Res. 1984 ; 25 : 1277-1294

MAHLEY R.W.

Atherogenic lipoprotein and coronary artery disease : concepts derived from recent advances in cellular and molecular biology.

Circulation 1985 ; 72 : 943-948

MAILING H.M., FRANK A., HORNING M.G.

Effect of carbon tetrachloride on hepatic synthesis and release of triglycerides.

Biochem.Biophys.Acta. 1962 ; 64 : 540-545

MANCINI G., CARBONARA A.O., HEREMANS.

Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion.

Immunochemistry 1965 ; 2 : 235-241

MANTAGOS S., GENEL M., TANAKA.

Ethylmalonic-adipic aciduria. In vivo and in vitro studies indicating deficiency of activities of multiple acyl-CoA dehydrogenases.

J.Clin.Invest. 1979 ; 64 : 1580-1589

MATHE D., LUTTON C.

Le cholestérol. Aspects dynamiques et métaboliques.

J. Physiol. Paris. 1984 ; 79 : 41-97

MAYERSOHN M., FELDMAN S.

Bile salt enhancement of riboflavin and flavin mononucleotide absorption in man.

J.Nutr. 1969 ; 98 : 288-296

MEHLER P.S., LEZOTTE D., ECKEL R.

Lipid levels in anorexia nervosa.

Int.J.Eat.Disorder 1998 ; 24 : 217-221

MERRILL A.H., ADDISON R., McCORMICK D.B.

Induction of hepatic and intestinal flavokinase after oral administration of riboflavin to riboflavin-deficient rats.

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1978 ; 158 : 572-574

MISTRY P., MILLER N.E., LAKER M., HAZZARD W.R., LEWIS B.

Individual variation in the effects of dietary cholesterol on plasma lipoproteins and cellular cholesterol homeostasis in man. Studies of low density lipoprotein receptor activity and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in blood mononuclear cells.

J.Clin.Invest. 1981 ; 67 : 493-502

MIYAI K, YAMAMOTO T., AZUKISAWA M., ISHIBASHI K., YU MAHARA Y.

Serum thyroid hormones and thyrotropin in anorexia nervosa.

J.Clin.Endocrinol.Metab. 1975 ; 40 : 334-338

MOCK DM, BASWELL DL, BAKER H, HOLMAN RT, SWEETMAN L.

Biotin deficiency complicating parenteral alimentation : diagnosis, metabolic repercussions and treatment.

Ann. N. Y. Acad. Sci. USA 1985 ; 447 : 314-334

MOORE R., MILLS I.H.

Serum T3 and T4 levels in patients with anorexia nervosa showing transient hyperthyroidism during weight gain.

Clin.Endocrinol. 1979 ; 10 : 443-449

MORDASINI R., GRETEN H.

Secondary type II hyperlipoproteinemia in patients with anorexia nervosa.

Metabolism 1978 ; 27 : 71-79

MOUTON-GENSBURGER A., RIGAUD D.

Prise en charge de l'anorexie mentale.

La lettre de l'institut Danone 1999 ; 44 : 3-9

MULLER H.W., GEBICKE-HARTER P.J., HANGEN D.H., SHOOTER E.M.

A specific 37 000 dalton protein that accumulates in regenerating but not in nonregenerating mammalian nerves.

Science 1985 ; 228 : 499-501

NAKUMURA T., KUSONOKI T., KATAOKA S.

The effect of dietary amino acid and protein compositions of CoA metabolism in young albino rats.

J.Vitaminol. 1967 ; 13 : 283-188

NAKASAKI H., OHTA M., SOEDA J., MAKUUCHI H., TSUDA M., TAJIMA T., MITOMI T., FUJII K.

Clinical and biochemical aspects of thiamine treatment for metabolic acidosis during total parenteral nutrition.

Nutrition 1997 ; 13 : 110-117

NARASINGA RAO B.S., NAGABHUSHEM V.S.

Urinary excretion of 3-methylhistidine in children suffering from protein-calorie malnutrition.

Life Sci. 1973 ; 12 : 205-210

N'DIAYE A.M., ROUGEREAU A., GORE J.

Le dépistage de la malnutrition protéino-calorique : Intérêt du dosage de la préalbumine sérique.

Méd. et Nutr. 1977 ; 13 : 423-427

NEWMAN L.J., LOPEZ R., COLE H.S., BORJA M.C., COOPERMAN J.M.

Riboflavin deficiency in women taking oral contraceptive agents.

Am.J.Clin.Nutr. 1978 ; 31 : 247-249

NEWMAN M., HALMI K.A.

The endocrinology of anorexia nervosa and bulimia nervosa.
Endocrinol.Metab.Clin.North.Am. 1988 ; 17 : 195-212

NILSSON-EHLE P., GARFINKEL A.S., SCHOTZ M.C.

Intra and extracellular forms of lipoprotein lipase in adipose tissue.
Biochim.Biophys.Acta. 1976 ; 431 : 147-156

NILSSON-EHLE P., GARFINKEL A.S., SCHOTZ M.C.

Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism.
Annu.Rev.Biochem. 1980 ; 49 : 667-693

NORMAN E.J.

New urinary methylmalonic acid test is a sensitive indicator of cobalamin (vitamin B12) deficiency :
a solution for a major unrecognized medical problem.
J. Lab. Clin. Med. 1987 ; 110 : 369-370

OBARZANEK E., LESEM M.D., JIMERSON D.C.

Resting metabolic rate of anorexia nervosa patients during weight gain.
Am.J.Clin.Nutr. 1994 ; 60 : 666-675

OCKNER R.K., MANNING J.A.

Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation and evidence for its role in
cellular fatty acid transport.
J.Clin.Invest. 1974 ; 54 : 326-338

OGUNSHINA S.O., HUSSAIN M.A.

Plasma thyroxine binding prealbumin as an index of mild protein-energy malnutrition in Nigerian
children.
Am.J.Clin.Nutr. 1980 ; 33 : 794-800

OLIVECRONA T., BENGTSSON., OLIVECRONA G., PETERSON J.

Lipoprotein lipase and hepatic lipase. Molecular properties and roles in lipoprotein metabolism.
In Atherosclerosis VII, N.H.Fidge., P.J.Nestel. (eds).
Excerpta Medica, Elsevier Sci.Publi. Amsterdam. 1986 ; 201-204

OLMOS J.M., RIANCHO J.A., FREIJANES J., MENENDEZ-ARANGO J., GONZALEZ-
MACIAS J.

Vitamin D metabolism and serum binding proteins in anorexia nervosa.
Bone 1991 ; 12 : 43-46

OMS : Relevé épidémiologique hebdomadaire

Etat nutritionnel des enfants de 0 à 4 ans : différences selon le sexe.
1988 ; 63 : 153-157

OMS

Mesure des modifications de l'état nutritionnel.
Genève, Organisation Mondiale de la Santé, 1993

OMS

Utilisation et interprétation de l'anthropométrie. Série Rapports Techniques 854.
Genève, Organisation Mondiale de la Santé, 1995

OMS

Demographic and health surveys (DHS in sub-Saharan Africa) Africa July 1996.
Nutrition chartbooks July 1996

- O'NEAL R.M., JOHNSON O.C., SCHAEFER A.E.
Guidelines for classification and interpretation of group blood and urine data collected as part of the nutrition survey.
Pediatr.Res. 1970 ; 4 : 103-106
- ONUORA C., MAHARAJAN G., SINGH A., ETTA K.M.
Thyroid status in various degrees of protein-calorie malnutrition in children.
Clin.Endocrinol. 1983 ; 18 : 87-93
- OSBORNE J.C., BREWER H.B.
The plasma lipoproteins.
Adv.Protein Chem. 1977 ; 31 : 253-337
- OSIFO B.O., ADADEVOH BK.
Serum vitamin B12 levels in protein-malnourished children.
Nutr.Metab. 1976; 20:9-13
- OSIFO B.O., LADITAN AAO, PARMENTIER Y, GERARD P, NICOLAS JP.
Clinical significance of serum Transcobalamins in Protein Energy malnutrition.
Clin.Nutr. 1983 ; 2 : 29-33
- Oxfam health unit.
Oxfam's practical guide to selective feeding programmes.
Oxford, Oxfam 1984
- OYELAMI O.A., MAXWELL S.M., ADELUSOLA K.A., ALADEKOMA T.A., OYELESE A.O.
Aflatoxins in the lung of children with miscellaneous disease in Nigeria.
J.Toxicol.EnvIRON.Health. 1997 ; 51 : 623-628
- OYELAMI O.A., MAXWELL S.M., ADELUSOLA K.A., ALADEKOMA T.A., OYELESE A.O.
Aflatoxins in autopsy kidney specimens from children in Nigeria.
J.Toxicol.EnvIRON.Health. 1998 ; 55 : 317-323
- PARRA H., FIEVET C., BONIFACE B., BERTRAND M., DUTHILLEUL P., FRUCHART J.C.
Lipoproteins, apolipoproteins and coronary artery disease assessed by coronary arteriography.
In Gennes J.L. de (ed)., *Latent dyslipoproteinemia and atherosclerosis*,
Raven Press. 1984 ; 187 : 202
- PARSY D., CLAVEY V., FIEVET C., KORA I., DURIEZ P., FRUCHART J.C.
Quantification of apolipoprotein C-III in serum by a noncompetitive immunoenzymometric assay.
Clin. Chem. 1985 ; 31 : 1632-1635
- PARSY D., DRACON M., CACHERA C., PARRA H.J., VANHOUTTE G., TACQUET A.,
FRUCHART J.C.
Lipoprotein abnormalities in chronic haemodialysis patients.
Nephrol.Dial.Transplant. 1988 ; 3 : 51-56
- PETERSON P.A., BERGGARD I.
Isolation and properties of a human retinol-transporting protein.
J.Biol.Chem. 1971 ; 246 : 25-33
- PHILBRICK D.J., MILLER D.S.
Development of malnutrition in rats.
Am.J.Clin.Nutr. 1958 ; 27 : 813-818
- PHILIP A.G.
The protective effect of acute phase reactants in neonatal sepsis.
Acta.Paediatr.Scand. 1979 ; 68 : 481-483

PICOU D., ALLEYNE G.A.O., SEAKINS A.

Hydroxyproline and creatinine excretion in infantile protein malnutrition.

Clin.Sci. 1965 ; 29 : 517-523

PICOU D., TAYLOR-ROBERTS T.

The measurement of total protein synthesis and catabolism and nitrogen turnover in infants in different nutritional states and receiving different amounts of dietary protein.

Clin. Sci. 1969 ; 36 : 283-296

PINTER K.G., Mac CRACKEN B.H., LAMAR C., GOLDSMITH G.A.

Fat absorption studies in various forms of steatorrhea.

Am.J.Clin.Nutr. 1964 ; 15 : 293-298

PINTO J., HUANG Y.P., RIVLIN R.S.

Inhibition of riboflavin metabolism in rat tissues by chlorpromazine, imipramine and amitriptyline.

J.Clin.Invest. 1981 ; 67 : 1500-1506

PIRKE K., PLOOG D.

Psychobiology of anorexia nervosa. In : Nutrition and the Brain.

WURTMAN R.J., WURTMAN J.J. (eds)

New York : Raven Press 1986 ; 7 : 167-195

PITTMAN R.C., STEINBERG D.

Sites and mechanisms of uptake and degradation of high density and low density lipoproteins.

J.Lipid.Res. 1984 ; 25 : 1577-1585

POLONOVSKI J.

Biochimie des lipides. Exploration du métabolisme lipidique chez l'homme.

Encyclop. Méd. Chir. Glandes-Nutrition -10368. 1989 ; n° 10:1-24

POWANDA M.C.

Changes in body balance of nitrogen and others keys nutrients : description and underlying mechanisms.

Am.J.Clin.Nutr. 1977 ; 30 : 1254-1268

POWELL L.M., WALLIS S.C., PEASE R.J., EDWARDS Y., KNOTT T.J., SCOTT J.

A novel form of tissue-specific RNA processing produces apolipo-protein-B 48 in intestine.

Cell. 1987 ; 50 : 831-840

POWNALL H.J., SHEPERD J., MANTULIN W.W., SKLAR L.A., GOTTO A.M.Jr.

Effect of saturated and polyunsaturated fat diets on the composition and structure of human low density lipoproteins.

Atherosclerosis 1980 ; 36 : 299-314

PRASAD A.P., LAKSHMI A.V., BAMJI M.S.

Interpretation of erythrocyte glutathione reductase activation test values for assessing riboflavin status.

Eur.J.Clin.Nutr. 1992 ; 46 : 753-758

PRETORIUS J.P., WEYMEYER A.S.

Nutritional marasmus in Bantu infants in the Pretoria area III : the effect of caloric intake on nitrogen and fat balance, certain serum constituents and the rate of recovery.

S.Afr.Med.J. 1966 ; 40 : 240-242

PUCHOIS P., ALAUPOVIC P., FRUCHART J.C.

Mise au point sur les classifications des lipoprotéines plasmatiques.

Ann.Biol.Clin. 1985 ; 43 : 831-840

- PUCHOIS P., KANDOSSI A., DURIEZ P., FRUCHART J.C., MAC CONATHY W.J., KOREN E.
Quantitative determination of human plasma apolipoprotein A II by a non competitive enzyme-linked immunosorbent assay.
J.Immunoassay. 1986 ; 7 : 285-307
- PUCHOIS P., KANDOSSI A., FIEVET P., FOURNIER J.L., BERTRAND M., KOREN E., FRUCHART J.C.
Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease.
Atherosclerosis. 1987 ; 68 : 35-40
- RACHMILEWITZ B., RACHMILEWITZ M., MOSKHOWITZ B., GROSS J.
Serum transcobalamin in myeloid leukaemia.
J.Lab.Clin.Med. 1971 ; 78 : 275-286
- RACHMILEWITZ M., MOSKHOWITZ B., RACHMILEWITZ B., GROSSOWICZ N., GROSS J.
Serum vitamin B12 binding proteins in viral hepatitis.
Eur.J.Clin.Invest. 1972 ; 2 : 239-242
- RAGHURAMULU N., REDDY V.
Studies on vitamin D metabolism in malnourished children.
Br.J.Nutr. 1982 ; 47 : 231-234
- RAHM J., WEINOVA H., PROCHAZKA Z.
The effect of the conditions of preparation of cation-exchange resins on their resolution efficiency in ion-exchange chromatography of amino acids.
J. Chromatogr. 1971 ; 60 : 256-259
- RAO K.S.
Evolution of kwashiorkor and marasmus.
Lancet 1974 ; 1 : 709-711
- RAZ A., GOODMAN S.
The interaction of thyroxine with human plasma prealbumin and with the prealbumin-retinol-binding-protein complex.
J.Biol.Chem. 1969 ; 244 : 3230-3237
- RAZ A., SHIRATORI T., GOODMAN S.
Studies on the protein-protein and protein ligand interactions involved in retinol transport in plasma.
J.Biol.Chem. 1970 ; 245 : 1903-1912
- REARDON M.F., FIDGE N.H., NESTEL P.J.
Catabolism of very low density lipoprotein B apoprotein in man.
J.Clin.Invest. 1978 ; 61 : 850-860
- REDMOND A.O., HANDSEN J.D., Mc HUTCHON B.
Abnormal bile salt metabolism in kwashiorkor.
S.Afr.Med.J. 1972 ; 46 : 617-618.
- RENAULT F., VERSTICHEL P., PLOUSSARD J.P., COSTIL J.
Neuropathy in two cobalamin-deficient breast-fed infants of vegetarian mothers.
Muscle Nerve 1999 ; 22 : 252-254
- RHOADS G.G., DAHLEN G., BERG K., MORTON N.E., DANNENBERG A.L.
Lp (a) lipoprotein, as a risk factor for myocardial infection.
J.A.M.A. 1986 ; 256 : 2540-2544

RICHARD J.L., THURSTON J.R., PIER A.C.

Effects of mycotoxins on immunity.

In : Rosenberg P, Toxins : animal, plant and microbiology.

Oxford : Pergamon Press. 1978 ; 801-817

RICHARD J.L., RODIER M., BRINGER J., CAVALIE G., CLAUSTRES M., BELLET H., MIROUZE J.

L'excrétion urinaire de 3-méthylhistidine. Intérêt et application dans l'étude du catabolisme protidique.

Presse Méd. 1985 ; 14 : 91-94

RICOUR C., HATEMI N., ETIENNE J., POLONOVSKI J.

Plasma post heparin lipolytic activity (PHLA) before and during total parenteral nutrition (TPN) in children.

Acta Chir.Scand. 1976 ; 466 : 114-115

RIDOUT J.H., LUCAS C.C., PATTERSON J.M., BEST C.H.

Changes in chemical composition during the development of "cholesterol fatty liver".

Biochem.J. 1954 ; 58 : 297-301

RIVLIN S.R., LANGDON R.G.

Regulation of hepatic FAD levels by thyroid hormone.

In : Advances in enzymes regulation. WEBER G. (ed).

Oxford : Pergamon Press 1966 ; 4 : 45-58

RIVLIN S.R., LANGDON R.G.

Effect of thyroxine upon biosynthesis of flavine mononucleotide and flavin adenine dinucleotide.

Endocrinology. 1969 ; 84 : 584-588

ROBERTS I.F., WEST R.J., OGILVIE D., DILLON M.J.

Malnutrition in infants receiving cult diets : a form of child abuse.

Br.Med.J. 1979 ; 1 : 296-298

ROBERTSON J.A., GALLAGHER N.D.

In vivo evidence that cobalamin is absorbed by receptor mediated endocytosis in the mouse.

Gastroenterology. 1985 ; 88 : 908-912

ROBILLARD P.Y., MASHAKO L., CEZARD J.P., NAVARRO J.

Intérêt de la mesure du rapport périmètre brachial / périmètre crânien (PB / PC) dans l'évaluation du statut nutritionnel des nourrissons.

Communication à la Société Française de Pédiatrie.

Rouen, Avril 1986

ROBINSON H.M., BETTON H., JACKSON A.A.

Free and total triiodothyronine and thyroxine in malnourished Jamaican infants. The effect of diet on plasma levels of thyroid hormones, insulin and glucose during recovery.

Hum.Nutr.Clin.Nutr. 1985 ; 39 : 245-257

ROBINSON U., BEHAR M., VITERI F., ARROYAVE G., SCRIMSHAW N.S.

Protein and fat balance studies in children recovering from kwashiorkor.

J.Trop.Ped. 1957 ; 2 : 217

ROCHE A.F., SIEVOGEL R.M., CHUMLEA W.C., WEBB P.

Grading body fatness from limited anthropometric data.

Am.J.Clin.Nutr. 1981 ; 34 : 2831-2838

ROCK C.L., HUNT I.F., SWENDSEID M.E., YAGER J.

Nutritional status and bone mineral density in patients with eating disorders.

Am.J.Clin.Nutr. 1987 ; 46 : 527

- ROCK C.L., VASANTHARAJAN S.
Vitamin status of eating disorder patients : relationship to clinical indices and effect of treatment.
Int.J.Eat.Disorder 1995 ; 18 : 257-262
- ROEDIGER W.E.
New views on the pathogenesis of kwashiorkor : methionine and other amino acids.
J.Pediatr.Gastr.Nutr. 1995 ; 21 : 130-136
- ROHEIM P.S.
Atherosclerosis and lipoprotein metabolism. Role of reverse cholesterol transport.
Am.J.Cardiol. 1986a ; 57 : 3 C-10 C
- ROHEIM P.S., DELAMATRE J.G., DORY L., LEFEVRE M., SLOOP C.H.
Apo A IV metabolism and possible physiological role.
In *Atherosclerosis VII*, N.H.Fidge, P.J.Nestel (ed).Excerpta Medica, Elsevier Sci.Publi.,
Amsterdam. 1986b : 295-298
- ROLLAND-CACHERA M.F., DEHEEGER M., GUILLOUD-BATILLE M., AVONS P.,
PATOIS E., SEMPE M.
Tracking the development of adiposity from 1 month of age to adulthood.
Ann.Hum.Biol. 1987 ; 14 : 219-229
- ROLLAND-CACHERA M.F., COLE T.J., SEMPE M., TICHET J., ROSSIGNOL C.,
CHARRAUD A.
Body mass index variations : centiles from birth to 87 years.
Eur. J. Clin. Nutr. 1991 ; 45 : 13-21
- ROSENBLATT D.S., WHITEHEAD V.M.
Cobalamin and folate deficiency : acquired and hereditary disorders in children.
Semin.Hematol. 1999 ; 36 : 19-34
- ROSENTHAL H.L., CUTLER L., SOBIESZCZANSKA W.
Uptake and transport of vitamin B12 in subcellular fractions of intestinal mucosa.
Am.J.Physiol. 1970 ; 218 : 358-362
- ROSENTHAL M.B., BARNARD R.J., ROSE D.P., INKELES S., HALL J., PRITIKIN N.
Effect of a high-complex carbohydrate, low fat, low cholesterol diet on levels of serum lipids and
estradiol.
Am.J.Med. 1985 ; 78 : 23-27
- RUDEL L.L., KESANIEMI A.A.
Unraveling the mysteries of high density lipoprotein metabolism.
Curr. Opin. Lipid. 1999 ; 10 : 293-294
- RUDLAND P.S., CLARK B.F.C.
Polypeptide chain initiation and the role of a methionine tRNA.
In : *The mechanism of protein synthesis and its regulation.* BOSCH L. (ed).
Amsterdam : North Holland 1972 ; 55-131
- SABEL KG, WADSWORTH Ch.
C Reactive Protein (CRP) in early diagnosis of neonatal septicemia.
Acta Paediatr.Scand. 1979 ; 68 : 825-831
- SABRY Z.I., SHADAREVIAN S.B., COWAN J.W., CAMPBELL J.A.
Relationship of dietary intake of sulphur amino-acids to urinary excretion of inorganic sulphate
in man.
Nature 1965 ; 20 : 931-933

SAEED B.O., ELTOM A.M., IBRAHIM S.A., ABDURAHMAN A.A.M.
Lipid and lipoprotein levels in kwashiorkor patients before and after treatment.
East.Afr.Med.J. 1993 ; 70 : 217-219

SAID H.M., MOHAMMADKHANI R.
Uptake of riboflavin across the brush border membrane of rat intestine : regulation by dietary vitamin levels.
Gastroenterology 1993 ; 105 : 1294-1298

SANCHEZ-MUNIZ F.J., MARCOS A., VARELA P.
Serum lipids and apolipoprotein B values, blood pressure and pulse rate in anorexia nervosa.
Eur.J.Clin.Nutr. 1991 ; 45 : 33-36

SANDERS T.A., PURVES R.
An anthropometric and dietary assessment of the nutritional status of vegan preschool children.
J.Hum.Nutr. 1981 ; 35 : 349-57

SATOSKAR RS, KULKARNI BS, METHA MM, SANZGIRI RR, BAMJI MS.
Serum vitamin B12 and folic acid (P.G.A.) levels in hypoproteinemia and marasmus in Indian children.
Arch.Dis.Child 1962 ; 37 : 9-16

SAUDUBRAY J.M.
Riboflavine (vitamine B2).
In : Les Vitamines : Aspects Métaboliques, Génétiques, Nutritionnels et Thérapeutiques.
MUNNICH A., OGIER H., SAUDUBRAY J.M. (eds).
Paris : Masson 1987 ; 144-170

SAUNDERS S.J., TRUSWELL A.S., BARBEZAT C.O., WITTMAN W., HANSEN J.D.L.
Plasma free amino acid in protein caloric malnutrition.
Lancet 1967 ; 2 : 795-797

SCARPACE P.J., MATHENY M., POLLOCK B.H., TUMER N.
Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure.
Am.J.Physiol. 1997 ; 273 : E 226 - E 230

SCHLIENGER J.L., STEPHAN F., RESS D.
Corrélation entre cholestérolémie et triiodothyroninémie dans l'anorexie mentale.
Nouv.Press.Méd. 1980 ; 9 : 2737

SCHNEIDER R.J., BURGER R.L., MEHLMAN C.S., ALLEN R.H.
The role and fate of rabbit and human transcobalamin II in the plasma transport of vitamin B12 in the rabbit.
J.Clin.Invest. 1976 ; 57 : 27-38

SCHONFELD G., PATSCH W., RUDEL L.L., NELSON C., EPSTEIN M., OLSON R.E.
Effect of dietary cholesterol and fatty acids on plasma lipoproteins.
J.Clin.Invest. 1982 ; 69 : 1072-1080

SCHWARTZ M.W., SEELEY R.J.
Neuroendocrine responses to starvation and weight loss.
N.Engl.J.Med. 1997 ; 336 : 1802-1811

SCHWARTZ R.
The serum lipids in kwashiorkor. I. Ventral fat, phospholipid and cholesterol.
J.Trop.Pediatr. 1957 ; 3 : 23-31

SCRIMSHAW N.S., BEHAR M.
Protein malnutrition in young children.
Science 1961 ; 133 : 2039-2047

SCRIMSHAW N.S., TAYLOR L.E., GORDON J.E.
Interactions of Nutrition and Infections.
WHO, Monograph series n°57, Geneva 1968

SEETHARAM B., ALPERS D.H.
Cellular uptake of cobalamin
Nutr. Rev. 1985 ; 43 : 97-102

SERDYUK A.P., MORTON R.E.
Lipid transfer inhibitor protein defines the participation of lipoproteins in lipid transfer reactions :
CEPT has no preference for cholesteryl esters in HDL versus LDL.
Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol. 1999 ; 19 : 718-726

SHAKIR A., MORLEY D.
Measuring malnutrition.
Lancet 1974 ; 1 : 758-759

SHARP C.W., FREEMAN C.P.
The medical complications of anorexia nervosa.
Br.J.Psychiatr. 1993 ; 162 : 452-462

SHELBURNE F., HANKS J., MEYERS W., QUARFORDT S.
Effect of apoproteins on hepatic uptake of triglyceride emulsions in the rat.
J.Clin.Invest. 1980 ; 65 : 652-658

SHEPHERD J., PACKARD C.J., PATSCH J.R., GOTTO A.M.Jr., TAUNTON O.D.
Effects of dietary polyunsaturated and saturated fat on the properties of high density lipoproteins and
the metabolism of apoprotein A-I.
J.Clin.Invest. 1978 ; 61 : 1582-1592

SHETTY P.S.
Adaptation to low energy intakes : the responses and limits to low intakes in infants, children and
adults.
Eur.J.Clin.Nutr. 1999 ; 53 : S 14 - S 33

SIDDONS RC, SPENCE JA, DAYAN AD.
Experimental vitamin B12 deficiency in the baboon.
Adv.Neurol. 1975 ; 10 : 239-252

SIMMER K., KHANUM S., CARLSSON L., THOMPSON R.P.
Nutritional rehabilitation in Bangladesh : the importance of zinc.
Am.J.Clin.Nutr. 1988 ; 47 : 1036-1040

SIMPSON W.S., RAMBERG J.A.
Sexual dysfunction in married females with anorexia nervosa and bulimia nervosa.
J.Sex.Marital.Ther. 1992 ; 18 : 44-54

SIRISINHA S., SUSKIND R., EDELMAN R., ASVAPAKA C., OLSON R.E.
Secretory serum IgA in children with protein-calorie malnutrition.
Pediatrics. 1975 ; 55 : 166-170

SKENE J.H.P., SHOOTER E.M.
Denervated sheath cells secrete a new protein after nerve injury.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1983 ; 80 : 4169-4173

SMITH F.R., GOODMAN D.S., ZAKLAMA M.S., GABR M.K., EL MARAGHY S.,
PAWARDHAN V.N.
Serum vitamin A, retinol-binding protein, and prealbumin concentration in protein-calorie
malnutrition. I. A functional defect in hepatic retinol release.
Am.J.Clin.Nutr. 1973 ; 26 : 973-981

SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G.

Eds statistical method, Ed 7.

Ames Iowa State University Press. 1980 ; 135-148, 215-237

SNIPES G.J., MAC GUIRE C.B., NORDEN J.J., FREEMAN J.A.

Nerve injury stimulates the secretion of apolipoprotein E by nonneuronal cells.

Proc.Natl.Acad.Sci. USA 1986 ; 83 : 1130-1134

SOUTAR A.K., MYANT N.B., THOMPSON G.R.

Simultaneous measurement of apolipoprotein B turnover in very-low and low-density lipoproteins in familial hypercholesterolemia.

Atherosclerosis 1977 ; 28 : 247-256

SPECKER BL., MILLER D., NORMAN EJ., GREENE H., HAYES KC.

Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B-12.

Am. J. Clin. Nutr. 1988 ; 47 : 89-92

STEIER M., LOPEZ R., COOPERMAN J.M.

Riboflavin deficiency in infants and children with heart disease.

Am.Heart J. 1976 ; 92 : 139-43

STEIN E.A., SHAPERO J., MAC NERNEY C., GLUECK C.J., TRACY T., GARTSIDE P.

Changes in plasma lipid and lipoprotein fractions after alteration in dietary cholesterol, polyunsaturated, saturated and total fat in free-living normal and hypercholesterolemic children.

Am.J.Clin.Nutr. 1982 ; 35 : 1375-1390

STEIN Y., SHAPIRO B.

The synthesis of neutral glycerides by fractions of rats liver homogenates.

Biochim.Biophys.Acta. 1957 ; 24 : 197-198

STEIN Y., SHAPIRO B.

Assimilation and dissimilation of fatty acids by the rat liver.

Am.J.Physiol. 1959 ; 196 : 1238-1241

STEINER G., ILSE W.K.

Heterogeneity of VLDL triglyceride production by the liver and intestine.

Can.J.Biochem. 1981 ; 59 : 637-641

STEINER G., REARDON M.F.

A new model of human VLDL metabolism based on simultaneous studies of its apo B and triglyceride.

Metabolism 1983 ; 32 : 342-347

STOLLHOFF K, SCHULTE FJ.

Vitamin B12 and brain development.

Eur.J.Pediatr. 1987 ; 146 : 201-205

STONE N.J.

Secondary causes of hyperlipidemia.

Med.Clin.North Am. 1994 ; 78 : 117-141

STREJA D., KALLAI M.A., STEINER G.

Metabolic heterogeneity of human very low density lipoprotein triglyceride.

Metabolism 1977 ; 26 : 1333-1344

STUART H.C., STEVENSON S.S.

Growth and development. In textbook of pediatrics. BERHMAN R.E., VAUGHAN V.C. (eds).

WB: Saunders Publisher, Philadelphia. 1987 ; 6-35

SUCKLING P.V., CAMPBELL J.A.H.

A five year follow up of coloured children with kwashiorkor in Cape town.
J.Trop.Pediatr. 1957 ; 2 : 173-180.

SULLIVAN L.W., HERBERT V.

Studies on the minimum daily requirement for vitamin B12 hematopoietic responses to 0,1g of cyanocobalamin or coenzyme B12, and comparison of their relative potency.
N.Engl.J.Med. 1965 ; 282 : 340-346

SULLIVAN P.F.

Mortality in anorexia nervosa.
Am.J.Psychiatry. 1995 ; 152 : 1073-1074

SUSKIND R., SIRISHINHA S., VITHAYASAI V., EDELMAN R., DAMRONGSAK D.,
CHARUPATANA C., OLSON R.E.

Immunoglobins and antibody response in children with protein-calorie malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1976 ; 29 : 836-841

TALL A.R., SMALL D.M.

Plasma high-density lipoproteins.
N.Engl.J.Med. 1978 ; 299 : 1232-1236

TANAKA K.

Disorders of organic acid metabolism.
In : Biology of Brain Dysfunction. GAULL G.E. (ed).
New York : Plenum Press 1975 ; 3 : 145-214

TANG C.M., ROLFE M., WELLS J.C., CHAM K.

Outbreak of beri-beri in the Gambia.
Lancet 1989 ; 2 : 206-207

TANZER F., UZUNSEL S., ATALAY A.

Plasma free carnitine levels in children with malnutrition.
Turk.J.Pediatr. 1994 ; 36 : 133-137

TAYLOR G.O.

Serum triglycerides and fatty acids in kwashiorkor.
Am.J.Clin.Nutr. 1971 ; 24 : 1212-1215

TERAN-GARCIA M., IBARRA I., VELAZQUEZ A.

Urinary organic acids in infant malnutrition.
Pediatr.Res. 1998 ; 44 : 386-391

THANANGKUL O.

Water-soluble vitamins. In protein-calorie malnutrition.
Olson, R.E : Ed Academic Press Publ 1975 : 149-161

THIEL A., BROOCKS A., OHLMEIER M., JACOBY G.E., SCHUSSLER G.

Obsessive-compulsing disorder among patients with anorexia nervosa and bulimia nervosa.
Am.J.Psychiat. 1995 ; 152 : 72-75

THOMPSON G.R., SOUTAR A.K., SPENGLER F.A., JADHAV A., GAVIGAN S.J.P., MYANT N.B.

Defects of receptor-mediated low density lipoprotein catabolism in homozygous familial hypercholesterolemia and hypothyroidism in vivo.
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 1981 ; 78 : 2591-2595

THOMPSON M.D., TROWELL H.C.

Pancreatic enzyme activity in duodenal contents of children with a type of kwashiorkor.
Lancet. 1952 ; 1 : 1031-1035

- THUESEN L., HENRICKSEN L.B., ENGBY B.
One-year experience with a low-fat, low-cholesterol diet in patients with coronary heart disease.
Am.J.Clin.Nutr. 1986 ; 44 : 212-219
- TIDWELL H.C., HOLT L.E., FARROW H.L., NEALE S.
Studies in fat metabolism, fat absorption in premature infants and in twins.
J.Pediatr. 1935 ; 6 : 481-489
- TOYOSHIMA M., GRASBECK R.
Cobalamin derivatives in subcellular fractions of porcine ileal enterocytes.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 1987 ; 47 : 277-284
- TROWELL H.C., DAVIES J.P.N., DEAN R.F.A.
Kwashiorkor.
Arnold Edward, London. 1954 ; 116
- TRUSWELL A.S., HANSEN J.D.L.
Fatty liver in protein-calorie malnutrition.
S.Afr.Med.J. 1969a ; 43 : 280-283
- TRUSWELL A.S., HANSEN J.D., WATSON C.E., WANNENBURG P.
Relation of serum lipids and lipoproteins to fatty liver in kwashiorkor.
Am.J.Clin.Nutr. 1969b ; 22 : 568-576
- TRUSWELL A.S.
Lipid metabolism in protein caloric malnutrition.
In : Olson RE Ed., Protein calory malnutrition.
New York Academic Press 1975 ; 123-141
- TUCKLER H.F., ECKSTEIN H.C.
The effect of supplementary methionine and cystine on the production of fatty livers by diet.
J.Biol.Chem. 1937 ; 121 : 479-484
- UNDERWOOD B.A., HASHIM S.A., SEBRELL W.H.
Fatty acid absorption and metabolism in protein-calorie malnutrition.
Am.J.Clin.Nutr. 1967 ; 20 : 226-232
- UNICEF
La Situation des Enfants dans le Monde.
New York. UNICEF 1995
- UNICEF
La Situation des Enfants dans le Monde.
New York. UNICEF 1996
- University of California. BMDP. Statistical Software.
Los Angeles : University of California Press, 1981
- UTERMAN G., KIPP K., WIEGANDT H.
Studies on the Lp (a) lipoprotein of human serum. IV. The disaggregation of the Lp (a) lipoprotein.
Humangenetik. 1972 ; 14 : 142-150
- VAISMAN N., WOLFARTH D., SKLAN D.
Vitamin A metabolism in plasma of normal and anorectic women.
Eur.J.Clin.Nutr. 1992 ; 46 : 873-878
- VAN BINSBERGEN C.J., ODINK J., VAND DEN BERGH H., KOPPESCHAAR H.,
COELINGH BENNINK H.J.
Nutritional status in anorexia nervosa : clinical chemistry ; vitamin ; iron and zinc.
Eur.J.Clin.Nutr. 1988 ; 42 : 929-937

VEITCH K, DRAYE JP, VAMECQ J, CAUSEY AG, BARTLETT K, SHERRATT HS,
VAN HOOFF F.

Altered acyl-CoA metabolism in riboflavin deficiency.
Biochim. Biophys. Acta. 1989 ; 1006 : 335-343

VELAZQUEZ A., MARTIN-DEL-CAMPO C., BAEZ A., ZAMUDIO S., QUITERIO M.,
AGUILAR J.L., PEREZ-ORTIZ B., SANCHEZ-ARDINES M., GUZMAN-HERNANDEZ J.,
CASANUEVA E.

Biotin deficiency in protein-energy malnutrition.
Eur.J.Clin.Nutr. 1989 ; 43 : 169-173

VELAZQUEZ A., TERAN M., BAEZ A., GUTIERREZ J., RODRIGUEZ R.

Biotin supplementation affects lymphocyte carboxylases and plasma biotin in severe protein-energy malnutrition.

Am. J. Clin. Nutr. 1995 ; 61 : 385-391

VENKATACHALAM P.S.

In discussion to Widdowson E.M.

Early nutrition and later development in diet and body composition.

Ciba Foundation study group n°17. Wolstenhome G.E.W., O'Connor M. (eds). J.A.Churchill.
London. 1964 ; 16

VIART P.

Blood volume (51 Cr) in severe protein-calorie malnutrition.

Am.J.Clin.Nutr. 1976 ; 29 : 25-37

VIDAILHET C., MORALI A., REICHENBACH S., KABUTH B., VIDAILHET M.

Prise en charge collaborative des anorexies mentales dans le cadre d'un hôpital d'enfants.

Ann.Pédiatr. 1996 ; 43 : 183-189

VIDAILHET M., VIDAILHET C.

Anorexie mentale.

Pédiatrie pratique. 1996 ; 83 : 10-11

VIDAILHET M., KABUTH B., CONIGLIO N.

Risques mortels de l'anorexie mentale chez l'adolescent.

Journées Parisiennes de Pédiatrie 1997.

Paris : Flammarion Médecine Sciences, 1998 ; 147-155

VIDAILHET M., KABUTH B., BODY-LAWSON F., FEILLET F., MORALI A., VIDAILHET C.

Troubles du comportement alimentaire du nourrisson à l'adolescence.

Le Concours Médical. 1999 ; 121 : 3041-3049

VITERI F. ; BEHAR M. ; ARROYAVE G.

Clinical aspects of protein malnutrition.

In Mammalian Protein Metabolism. Munro H.N, Allison J.B. (eds).

Acad.Press. New-York. 1964 ; 2 : 523-568

VITERI F.E.

Primary protein-energy malnutrition : clinical, biochemical, and metabolic changes.

In Textbook of Ped.Nutr., SUSKIND R.M. (ed).

New-York : Raven Press. 1981 ; 328-331

VON DOBELN U.

Fatty acid oxidation defects.

Acta.Paediatr.Scand. Suppl 1993 ; 82 : Suppl 389 : 88-90

VU-DAC N., MEZDOUR H., PARRA H.J., LUC G., LUYEYE I., FRUCHART J.C.
A selective bi-site immunoenzymatic procedure for human Lp(a) lipoprotein quantification using monoclonal antibodies against Apo(a) and Apo B.
J.Lip.Res. 1989 ; 30 : 1437-1443

VUORISTO M., MIETTINEN T.A.
Absorption, metabolism and serum concentrations of cholesterol in vegetarians : effect of cholesterol feeding.
Am.J.Clin.Nutr. 1994 ; 59 : 1325-1331

WALSER M.
Keto acid therapy in chronic renal failure.
Nephron. 1978 ; 21 : 57-74

WARNICK G.R., ALBERS J.J.
A comprehension of the heparin-manganese precipitation procedure for estimating high density lipoprotein cholesterol..
J. Lipid. Res. 1978 ; 19 : 65-76

WATERLOW J.C.
Fatty liver disease in infants in the British West Indies.
Medical Res.Council Report Series n° 263.
Her Majesty's Stationery Office, London 1948

WATERLOW J.C., CRAVIOTO J., STEPHEN J.M.L.
Protein malnutrition in man.
Acad.Press.Inc.New-York, Adv.Prot.Chem.1960 ; 15 : 131-227

WATERLOW J.C.
Classification and definition of protein-calorie malnutrition.
Brit.Med.J. 1972 ; 3 : 566-569

WATERLOW J.C.
Note on the assessment and classification of protein-energy malnutrition in children.
Lancet 1973 ; 1 : 87-89

WATERLOW J.C.
Metabolic adaptation to low intakes of energy and protein.
Annu.Rev.Nutr. 1986 ; 6 : 495-526

WAYBURNE S.
Caloric Deficiencies and Protein Deficiencies.
Mc Cance. R.A. (ed). Widdowson E.M. J.A.Churchill Ltd.
London 1968 ; 7-32

WHITE H.B., MERILL A.H.
Riboflavin-binding proteins.
Annu.Rev.Nutr. 1988 ; 8 : 279-299

WHITEHEAD R.G.
Hydroxyproline creatinine ratio as an index of nutritional status and rate of growth.
Lancet 1965 ; 2 : 567-570

WHITEHEAD R.G.
Biochemical test in differential diagnosis of protein and calorie deficiency.
Arch.Dis.Child. 1967 ; 42 : 479-484

WHITEHEAD R.G., DEAN R.F.A .
Serum amino acids in Kwashiorkor : I. Relationship to clinical condition.
Am.J.Clin.Nutr. 1964a ; 14 : 313-320

WHITEHEAD R.G., DEAN R.F.A .
Serum amino acids in Kwashiorkor : II. An abbreviated method of estimation and its application.
Am.J.Clin.Nutr. 1964b ; 14 : 320-330

WILLIAMS C.D.
A nutritional disease of childhood associated with a maize diet.
Arch.Dis.Child. 1933 ; 8 : 423-433

WILLIAMS C.D.
Kwashiorkor : nutritional disease of children associated with maize diet.
Lancet 1935 ; 2 : 1151-1152

WILLIAMS M.P., STREETER H.B., WUSTEMANF F.S., CRYER A.
Heparin sulfate and the binding of lipoprotein lipase to porcine thoracic aorta endothelium.
Biochim.Biophys.Acta. 1983 ; 756 : 83-91

WILSON D., RONCADA M.J., NETTO O.B., NETTO A.L., KALIL A.C., NUNES M.F.
Clinical riboflavin deficiency in pre-school children of migrants in transit through the Central de Triagem e Encaminhamento, in the Capital of the State of Sao Paulo, Brazil.
Rev.Saude Publica. 1978 ; 12 : 351-355

WINDLER E., CHAO Y., HAVEL R.J.
Determination of hepatic uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants in the rat.
J.Biol.Chem. 1980 ; 225 : 5475-5480

WOLTERS B.G., WALRECHT H.T., VAN DER MOLEN J.C., NAGEL G.T.,
VAN DORMAAL J.J., WINJNANDTS P.N.
Use of determination of 7-lathosterol (5 alpha-cholest-7-en-3 beta-ol) and other cholesterol precursors
in serum in the study and treatment of disturbances of sterol metabolism, particularly
cerebrotendinous xanthomatosis.
J. Lip. Res. 1991 ; 32 : 603-612

WOODRUFF P.W., MORTON J., RUSSEL G.F.
Neuromyopathic complications in a patient with anorexia nervosa and vitamin C deficiency.
Int.J.Eat.Disorder 1994 ; 16 : 205-209

YAARI S., GODBOURT U., EVEN-ZOHAR S., NEUFELD H.N.
Associations of serum high density lipoprotein and total cholesterol with total cardiovascular and
cancer mortality in a 7-year prospective study of 10 000 men.
Lancet 1981 ; 1 : 1011-1015

YAMADA Y., MERRILL A.H.Jr., MAC CORMICK D.B.
Probable reaction mechanisms of flavokinase and FAD synthetase from rat liver.
Arch.Biochem.Biophys. 1990 ; 278 : 125-130

YOMADJI OUTENGAR O.
Etude du profil des acides aminés et des acides organiques urinaires dans la malnutrition protéino-
énergétique et au cours de la renutrition chez l'enfant.
Thèse de Science : Nancy, 1989 , 221p.

YOUNG V.R., MUNRO H.N.
N-methylhistidine (3-methylhistidine) and muscle protein turnover : an overview.
Fed.Proc. 1978, 37 : 2291-2300

ZECH L.A., SCHAEFER E.J., BRONZERT T.I., AAMODT R.L., BREWER H.B.
Metabolism of human apolipoproteins A-I and A-II : compartmental models.
J.Lipid.Res. 1983 ; 24 : 60-71

ZEMPLINI J., GALLOWAY J.R., MAC CORMICK D.B.
Pharmacokinetics of orally and intravenously administered riboflavin in healthy humans.
Am.J.Clin.Nutr. 1996 ; 63 : 54-66

ZHANG Y., PROENCA R., MAFFEI M., BARONE M., LEOPOLD L., FRIEMAN J.M.
Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue.
Nature 1994 ; 372 : 425-432

ZIEGENHORN J.,
Improved method for enzymatic determination of triglycerides.
Clin.Chem. 1975 ; 21 : 1627-1629

ZIEGLER O., DEBRY G.
La malnutrition protéino-énergétique. Concepts actuels.
Ann. Med. Nancy. Est. 1991 ; 30 : 293-298

PUBLICATIONS

References

1. Khoshoo V, Ray R, Srivastava R, Bhan MK. *Salmonella typhimurium* associated severe protracted diarrhea in infants and young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;10:33-6.
2. Berkman E. In vitro activity of netilmicin against multiple resistant strains of salmonella. *Clin Trial J* 1980;17:280-6.
3. Özsoylu Ş. Infant mortality. *Bull Int Assoc* 1989;9:194-7.

Vitamin B12 Status in Marasmic Children

To the Editor: Protein energy malnutrition (PEM) depends on many factors: weaning date, food diversification, inflammation, and age (1). Several authors have reported normal or high levels of seric vitamin B12 (cobalamin, Cbl) in PEM, especially in the case of liver steatosis (2-5). The serum Cbl dropped to a normal value after renutrition (4). Haptocorrin (HC) and transcobalamin (TC) are the two Cbl binding proteins of blood. Osifo et al. found an increased level of HC in patients with kwashiorkor and of TC in those with marasmus, and they explained these data by an alteration of liver metabolism (5). We have investigated the influence of the weaning date and of the nutritional and inflammatory status on the status of Cbl of 39 marasmic children of North Mauritania.

Thirty-nine malnourished children were included in our study at their admittance to Nouadhibou's hospital situated in a desert. They were hospitalized for diarrhea (30 cases) with or without hypotrophia (24 cases), vomiting (12 cases), or bronchitis or otorhinolaryngeal (ORL) infections (eight cases). The male/female ratio was 1:6. The patients were aged from 9 to 36 months. They were identified as 35 marasmus and 4 Kwashiorkor-marasmus patients, according to the classification of Wellcome (6). Patients with acute decompensation or severe clinical dehydration were excluded from the study. Eighteen controls aged from 10 to 42 months were studied. They were hospitalized for surgical treatment of benign diseases (phymosis and hernia). They did not present any inflammatory or nutritional imbalance.

Albumin-prealbumin and orosomuroid-C reactive protein were used as seric indirect indexes of nutritional and inflammatory status as described by Ingelbleek et al. (7). Unsaturated Cbl binding capacity (UCblBC) of HC and of TC was determined by radioisotope binding assay, according to Jacob et al. (8). The concentration of corrinoids was determined in duplicate by radioisotope assay (9,10). Saturated transcobalamin assay was carried out by separating saturated TC from saturated HC by precipitation with QUSO G 32 (8).

The Cbl mean level was not different between PEM patients and controls, but the dispersion of the values was more important in the malnourished group (75-2,250 pg/ml) than in controls (250-540 pg/ml). The Cbl analogue level was increased in the patient group ($p < 0.001$) (Table 1). Total unsaturated binders were significantly enhanced in patients. The main difference concerned unsaturated TC ($p < 0.02$) and the asialo-HC (named also TC III) ($p < 0.001$). We found a positive correlation between the TC plasma level and the inflammatory index ($r = 0.40$, $p < 0.01$). Carmel and Hollander showed that TC can act as an "acute-phase reactant" in some pathologic states such as infection and inflammation (11). The increase of TC plasma level was not related to hepatic cytolysis. The patients were grouped according to the inflammatory and nutritional indexes (orosomuroid-C reactive protein higher and lower than 30, and albumin-prealbumin higher and lower than 3). The plasma Cbl level and the percentage of unsaturated HC were significantly increased in the groups that had the worst indexes. The same analysis was made in relation to weaning (Table 1). All these findings support the hypothesis that high levels of plasma Cbl corresponded to the most severe form of PEM. Our study showed that inflammation could be a factor involved in the increased Cbl seric level of PEM patients. The effect of infection on the Cbl status was more difficult to establish. Most of our children had diarrhea (77%) whose bacterial origin was not established. Bacterial overgrowth can be responsible for an increased intraluminal synthesis of corrinoids (12). This could explain that the Cbl analogue level was increased in our patients. The Cbl analogues were increased independently of the nutritional index and of weaning (Table 1). These analogues are sup-

TABLE 1. Vitamin B12 (Cobalamin) status according to inflammatory and nutritional indexes and to weaning date

| | | Cbl (pg/ml) | Analogues (pg/ml) | PS TC (%) | Total UCblBC (pg/ml) | Unsat TC (% UCblBC) | Unsat HC (% UCblBC) | Unsat asialo-HC (% UCblBC) |
|--------------------------------|------------|------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------------|
| Orosomuroid-C reactive protein | < 30 | 288 ± 167 | 601 ± 101 | 9.3 ± 3.3 | 2,458 ± 629 | 66.3 ± 4.6 | 27.7 ± 4.8 | 6.0 ± 1.3 |
| | > 30 | 623 ± 592 ^a | 686 ± 327 | 19.5 ± 17 ^a | 2,593 ± 1,745 | 57.7 ± 8.3 ^b | 35.4 ± 8.5 ^b | 6.2 ± 3.8 |
| Albumin-prealbumin | > 3 | 261 ± 115 | 670 ± 340 | 13 ± 13 | 2,295 ± 988 | 64.0 ± 6.4 | 28.8 ± 5.8 | 6.6 ± 3.0 |
| | < 3 | 571 ± 527 ^a | 634 ± 160 | 17 ± 16 | 1,768 ± 1,675 | 58.1 ± 8.6 ^b | 35.5 ± 8.8 ^b | 5.7 ± 3.1 |
| Weaned | | 285 ± 196 | 687 ± 344 | 13.2 ± 15 | 2,675 ± 1,842 | 63.0 ± 8.0 | 29.2 ± 6.0 | 6.9 ± 3.9 |
| | Not weaned | 548 ± 518 ^a | 617 ± 146 | 17.3 ± 13 | 2,407 ± 772 | 59.0 ± 8.0 | 35.0 ± 9.0 ^a | 5.4 ± 1.6 |
| Total patients (n = 39) | | 420 ± 412 | 651 ± 260 | 15.3 ± 14.5 | 2,538 ± 1,387 | 61.2 ± 8.0 | 32.0 ± 8.0 | 6.0 ± 3.0 |
| Controls (n = 18) | | 410 ± 120 | 177 ± 46 ^c | 18.0 ± 4.2 | 1,676 ± 1,360 ^a | 74.0 ± 4.0 ^c | 21.0 ± 13.0 ^c | 3.0 ± 3.0 ^b |

Abbreviations used: Cbl, cobalamin; PS TC, percentage of saturation of TC; UCblBC, unsaturated cobalamin binding capacity; TC, transcobalamin; HC, haptocorrin.

^a $p < 0.05$.

^b $p < 0.01$.

^c $p < 0.001$ (Mann-Whitney test).

posed to be neurologically toxic (13). However, in our study none of our patients had any neurological symptoms.

In conclusion, the high B12 and TC seric levels do not reflect the real Cbl status of marasmic patients. The Cbl level is increased for the patients having the worst inflammatory nutritional or status, including the children who are not weaned.

F. Feillet
J. L. Guéant
D. Lambert
M. Djalali
J. P. Nicolas
M. Vidailhet
INSERM U 308

Faculté de Médecine and Service de Médecine
CHU and University of Nancy I
Vandoeuvre les Nancy, France

References

1. Jelliffe DB. *L'alimentation du nourrisson dans les régions tropicales et subtropicales*. Geneva: WHO, 1970:196-279.
2. Adams EB, Scragg JN. Serum vitamin B12 concentrations in megaloblastic anaemia associated with kwashiorkor and marasmus. *J Pediatr* 1962;60:580-5.
3. Mac Dougall LG, Ross GI. Serum vitamin B12 concentrations in kwashiorkor and marasmus. *J Pediatr* 1960;57:589-93.
4. Satoskar RS, Kulkarni BS, Metha MM, Sanzgiri RR, Bamji MS. Serum vitamin B12 and folic acid (P.G.A.) levels in hypoproteinemia and marasmus in Indian children. *Arch Dis Child* 1962;37:9-16.
5. Osifo BOA, Laditan AAO, Parmentier Y, Gérard P, Nicolas JP. Clinical significance of serum transcobalamins in protein energy malnutrition. *Clin Nutr* 1983;2:29-33.
6. Anonymous. Classification of infantile malnutrition. *Lancet* 1970;ii:302-3.
7. Ingelbleek Y, Carpentier YA. A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients. *Int J Vitam Nutr Res* 1985;55:91-101.
8. Jacob E, Wong KTJ, Herbert V. A simple method for the separate measurement of transcobalamins I, II and III: normal ranges in serum and plasma in men and in women. *J Lab Clin Med* 1977;89:1145-52.
9. Guéant JL, Monin B, Boissel P, Gaucher P, Nicolas JP. Biliary excretion of cobalamin and cobalamin excretion in man. *Digestion* 1984;30:151-7.
10. Kolhouse JE, Kondo H, Allen NC, Podell E, Allen RH. Cobalamin analogues are present in human plasma and can mask deficiency because current radioisotope dilution assays are not specific for true cobalamin. *N Engl J Med* 1978;299:785-92.
11. Carmel R, Hollander D. Extreme elevation of transcobalamin II levels in multiple myeloma and in multiple disorders. *Blood* 1978;51:1057-63.
12. Brandt LJ, Bernstein LM, Wagle A. Production of vitamin B12 analogues in patients with small bowel bacterial overgrowth. *Ann Intern Med* 1977;87:546-51.
13. Stollhoff K, Schulte FJ. Vitamin B12 and brain development. *Eur J Pediatr* 1987;146:201-5.

The $^{14}\text{CO}_2$ Urea Breath Test for *Helicobacter pylori* infection

To the Editor: Recently, the $^{14}\text{CO}_2$ urea breath test (C14UBT) was defined as an inexpensive, simple, sensitive, and noninvasive test that detects *Helicobacter pylori* (HP) colonization of the stomach in adults (1). Moreover, in the same article, the authors concluded that this test should be useful in carrying out epidemiological and therapeutic trials without endoscopy or need for culture. The HP-related gastritis has been reported as also very common in children who have undergone endoscopy for abdominal pain (2,3).

To apply the C14UBT in children, we utilized a dose of ^{14}C three times lower than that proposed by Rauws et al. (1). Moreover, by the same method, we performed a family search of HP in all parents of the children included in the study.

Twelve consecutive children (mean age, 10.74 ± 2.44 years; range, 5.4-13.3 years, six boys and six girls) observed for recurrent abdominal pain by upper gastrointestinal endoscopy and found positive for peptic disease (one with gastric ulcer, eight with gastritis, and three with duodenal ulcer) underwent a C14UBT on the same day in which endoscopy was performed. None of the patients had taken antibiotics for 4 weeks before endoscopy. The diagnosis of HP infection was based on positivity of two of the following tests: rapid urease test, microbiological culture, and histological examination on bioptic samples. Eight patients were HP positive and four were HP negative. All parents also underwent a C14UBT within 1 week since the test was performed on index children. In the three parents affected by peptic disease for which they took antacids or H2 antagonists, these drugs were stopped 3 days before the test. Of all the parents, eight with dyspeptic symptoms also underwent endoscopy, and HP was searched for on bioptic samples, as was done in their children.

Informed consent was obtained before performing the C14UBT. The C14UBT was performed according to the method of Marshall and Surveyor (4), with the only difference of giving a patient-dose of 37 kBq (1 μCi) of ^{14}C .

Table 1 gives detailed breath test results for the HP-positive and the HP-negative patients, assembling both children (12) and parents (8) who underwent endoscopy; it demonstrates a significant difference between the HP-positive and the HP-negative groups at the 2-min point ($p < 0.005$) and at time points after 2 min ($p < 0.001$).

Apart from the value obtained at 2 min, the maximum values of the HP-negative patients were lower than those of the minimum values of the HP-positive patients at each time in all cases. Moreover, at each time point, the minimum values of the HP-positive patients were always higher than the maximum values of the HP-negative patients.

Thirteen parents of 14 in the HP-positive children's group and four of eight in the HP-negative children's group had a positive C14UBT. There was a significantly (Fisher's exact test, $p = 0.039$) different prevalence of HP colonization, detected by C14UBT, in parents of the HP-positive children when compared with those of the HP-negative ones. In all parents who underwent endos-

Relationship between ethylmalonic-adipic aciduria and nutritional status in North Mauritanian marasmic children.

F. Feillet^{1,2}, C Capo-Chichi¹, J.L.Guéant¹, E Lefebvre¹, M Vidailhet^{1,2}.

1 : Laboratoire de Pathologie cellulaire et Moléculaire en Nutrition, EP CNRS 616. (Department of Cellular and Molecular Pathology in Nutrition)-Faculté de Médecine de Nancy-B.P. 184-54505 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex France.

2 : Service de Médecine Infantile III, Hôpital d'enfants, Allée du Morvan, Vandoeuvre-les-Nancy, 54500 France.

Requests for reprints should be addressed to Dr François Feillet. Service de Médecine Infantile III, Hôpital d'Enfants, Allée du Morvan, Vandoeuvre-les-Nancy, 54500, France.

Tel : 00 33 03 83 15 46 01

Fax : 00 33 03 83 15 45 29

email address : f.feillet@chu-nancy.fr

Running title: Ethylmalonic-adipic aciduria in marasmus.

Key words : Protein-energy malnutrition, Marasmus, Children, Urinary organic acids, Ethylmalonic acid, Adipic acid, Dicarboxylic aciduria, Gas chromatography-mass spectrometry.

Abstract :

Background: While thiamine, riboflavin, biotin and cobalamin play a major role in the metabolic energetic pathways, the prevalence of vitamin B deficiencies in severe protein-energy malnutrition (PEM) is not known.

Methods: We have evaluated urinary organic acid (UOA) levels as potential metabolic markers of vitamin B deficiencies in 38 children with the marasmus form of PEM from North-Mauritania and in 12 healthy children as control.

Results: Patients with the marasmus form of malnutrition were selected by anthropometry and the nutritional protein markers albumin (Alb: 36.89 ± 8.83 (patients) vs 46.16 ± 5.58 (controls) gr/L ($P < 0.001$)) and transthyretin (Trt: 0.09 ± 0.05 (patients) vs 0.18 ± 0.03 (controls) mg/L ($P < 0.001$)). The plasma amino acids (AA) profile confirmed the PEM, with increases seen in the ratio of non-essential to essential AA in the patient group compared to controls (Gly/Val+Leu+Ile: 1 ± 0.77 (patients) vs 0.47 ± 0.14 (controls; $P < 0.05$) and Gly+Ala+Ser/Val+Ile+Leu: 2.74 ± 1.65 (patients) vs 1.7 ± 0.35 (controls; $P < 0.05$)). Ten of the 38 marasmic children had a UOA profile with ethylmalonic (EMA) and adipic aciduria (EMA+: n=10, EMA-: n=28). Ethylmalonic acid: 52 ± 50 (EMA+) vs 11 ± 5 (EMA-) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$) and adipic acid: 69 ± 44 (EMA+) vs 29 ± 32 (EMA-) $\mu\text{mol/L}$ ($P < 0.05$). This UOA pattern could be related to a riboflavin deficiency. We did not find any thiamine, biotin or cobalamin deficiency pattern of organic aciduria (no lactic, propionic nor methylmalonic aciduria). The nutritional indexes of the two malnourished children groups with and without EMA excretion was compared. It was observed that the EMA+ group had better nutritional indexes (AA ratios Gly/Val+Ile+Leu: 0.49 ± 0.15 vs 1.18 ± 0.83 ($P < 0.001$), Gly+Ala+Ser/Val+Ile+Leu: 1.51 ± 0.42 vs 3.18 ± 1.71 ($P < 0.001$) and non-essential AA to essential AA ratio: 1.57 ± 0.49 vs 2.37 ± 1.57 ($P < 0.01$)) than the group EMA-.

Conclusion: We observed a UOA profile compatible with a riboflavin deficiency in 10/38 marasmic children but, paradoxically, this profile was found in the less malnourished group. The metabolic adaptation to starvation could explain the paradoxical absence of UOA in the most severely malnourished children.

Introduction:

Protein-energy malnutrition (PEM) remains one of the main public health problems to be addressed in the world today. Vitamin status in PEM has been mainly studied in relation to vitamins A, E and D (1,2,3), but relatively few studies have addressed the issue of biotin, cobalamin, thiamine and riboflavin levels in PEM (4-7). In PEM, the clinical expression of vitamin B deficiencies is rather poor and non-specific. The B vitamins are fundamental because of their implication in many the intermediary energy metabolic pathways. Thiamine is a cofactor for pyruvate dehydrogenase and other dehydrogenase enzymatic complexes (8), while riboflavin is involved in the electron transfer system from Krebs cycle to the respiratory chain (9). Moreover, adenosyl cobalamin is the cofactor of methylmalonyl CoA mutase (10) and biotin is the cofactor of 4 carboxylases including pyruvate carboxylase (11). While the diagnosis of vitamin B deficiency is crucial in PEM, plasmatic vitamin levels are poor indicators of vitamin B deficiency (12-15). Analyses of urinary organic acids (OUAs) by gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) has shown many patterns related to different types of deficiencies in vitamins: B1 (16), B2 (17), B8 (14) and B12 (12). Using GCMS, we studied UOA in a marasmic group of North Mauritanian children to detect patterns of vitamin B deficiencies. The nutritional status in PEM can be evaluated by anthropometry (18) as well as biological markers such as albumin (Alb) and transthyretin (Trt) (19-20). Furthermore, blood amino acids (AA) (22,23) and the ratios of non-essential to essential AA have been used for many years now to estimate the severity of PEM (23-26). We have used the anthropometric measurements, the product of Alb x Trt (as used by Ingenbleek & Carpentier (27) in their prognostic inflammatory and nutritional index), and the classical AA ratios proposed in the literature (26) to evaluate the nutritional status of these PEM children. Moreover, these nutritional indexes were correlate with the UOA patterns found in this malnourished population.

Patients and Methods:

Patients:

Thirty-eight patients (24 boys, 14 girls) aged 9 to 36 months were studied upon admission to Nouadhibou-hospital in Northern Mauritania. Thirty-five of the children were hospitalized for malnutrition and intercurrent diseases (diarrhea and vomiting (n = 32), respiratory tract infection, (n = 9), hyperthermia (n = 3)). All patients presenting with clinical dehydration were excluded of the study. Twelve controls (6 boys and 6 girls, aged 10 to 42 months) with normal nutritional status according to the National Center for Health Statistics (28) were examined (Nancy's Children Hospital) in a surgical pediatric unit just prior to the administration of anaesthesia for surgery of a benign condition (hernia, phimosis). The same evaluation process was carried out as for the marasmic patients. In the patient group, anthropometric measurements and blood sampling were performed just prior to the commencement of treatment. Urine was collected for an examination of UAOs levels; the first miction was immediately stored at -20°C and the urinary output was measured over the following 12 hours.

Methods:

Anthropometric data included measurements of weight and height, thus allowing calculation of the body mass index (BMI ; kg/m^2). Anthropometric data, weight and height are expressed in the results section as percentages of normal values according to the National Center for Health Statistics (28).

A blood sample was obtained from the patient at admission and analysed for inflammatory (orosomuroid (Oroso) and C reactive protein (CRP)) and nutritional (albumin (Alb) and transthyretin (Trt)) proteins. The blood was immediately centrifuged and, the plasma separated and stored at -20°C . We calculated a proteic nutritional index (PNI: (Alb x Transt)) as Ingenbleek & Carpentier (27) in their prognostic inflammatory and nutritional index. Blood and urine samples were stored sent on dry ice (-90°C), transported to France and maintained at -20°C until required for biochemical assays.

Protein assays :

Nutritional (Alb and Transt) and inflammatory (Oroso and CRP) proteins were assayed by laser immunonephelometry (Automatic Nephelometer, Behring, Margburg, Germany) (29).

Amino-acids:

AA analysis was performed by ion exchange chromatography with a "LKB 4151, alpha plus" analyser using a cation exchange resin "Ultopac 8 lithium" (30).

Urinary organic acids:

UOA were extracted from a volume of urine containing 1 mg of creatinine and analysed by GCMS (Hewlett packard 5971A, USA) according to Lefebvre *et al.* (31).

Statistical analyses:

Statistical analyses of results were performed between patients and controls, and also between two subgroups of patients separated according to levels of urinary excretion of ethylmalonic acid (EMA). The threshold for high EMA excretion was taken a level of EMA excretion above the mean value plus 2 standard deviations for control subjects. Thus the EMA+ group had a high level of EMA excretion ($>20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine, $n = 10$), while the EMA- group had a low level of EMA excretion ($<20 \mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine, $n = 28$). Data are expressed as mean \pm SD. Significant differences between patients and controls and between the 2 subgroups of patients was calculated using an analysis of variance test (ANOVA F test). The Spearman rank coefficient test was used to estimate the degree of association between two variables. Statistical analyses were performed using Statview SE+ graphic software (Abacus Concepts, Inc., Bekerley, CA), with results tested at the $P<0.05$ level of significance.

Results:

A summary of anthropometric data for patients and controls with similar age and gender distribution is summarized in Table 1. The patients exhibited typical characteristics of children suffering from the marasmus-type malnutrition, with severe decreases apparent in weight (57 ± 7 vs $100 \pm 12\%$ [$p < 0.001$] for patients and controls respectively) and height (89 ± 5 vs $98 \pm 5\%$ [$p < 0.001$] for patients and controls respectively) compared to norms (28). The weight expressed as a percentage of the norm and the BMI were identical in both the EMA+ and EMA- groups of malnourished children.

The results of analyses for nutritional and inflammatory proteins are shown in Table 2. Patients had significantly lower levels of nutritional proteins and higher levels of inflammatory proteins compared to controls. In the patient group we found a positive correlation between the PNI (Alb x Trt) and BMI ($r = 0.37$, $P < 0.03$).

Plasma AA levels are shown in Table 3. Some AA (taurine[Tau], proline[Pro], glutamic acid [Glu], phenylalanine [Phe] and tyrosin [Tyr]) were found in higher concentrations in patients compared to controls. With the exception of Phe, there was no difference in essential AA levels between patients and controls. A positive correlation was found between many of the essential AA and the PNI in the patients group (Threonine [Thre; $r = 0.41$, $P < 0.02$], Valine [Val; $r = 0.50$, $P < 0.01$], Leucine [Leu; $r = 0.45$, $P < 0.004$], Isoleucine [Ile; $r = 0.48$, $P < 0.002$] and with the sum of branched chain AA (Leu+Ile+Val; $r = 0.5$, $P < 0.002$).

The two ratios Gly/Val+Ile+Leu and Gly+Ala+Ser/Val+Ile+Leu were significantly higher in patients compared to controls (Table 3), and there was a negative correlation of the PNI with the AA ratios Phe/Tyr ($r = -0.56$, $P < 0.0001$), Glycine(Gly)/Serine(Ser) ($r = -0.45$, $P < 0.004$), and Gly/Val+Ile+Leu ($r = -0.39$, $P < 0.01$).

With the exception of Tyr and Ornithine, which were increased in the EMA+ group compared to the EMA- group, no differences in plasma AA composition were found between the two malnourished groups. Considering the AA indexes of malnutrition, we found significantly lower indexes in the EMA+ group compared to the EMA- group (Gly/Val+Ile+Leu [0.49 ± 0.15 vs 1.18 ± 0.83 $P < 0.001$], Gly+Ala+Ser/Val+Ile+Leu [1.51 ± 0.42 vs 3.18 ± 1.71 $P < 0.001$] and the non-essential AA to essential AA ratio [1.57 ± 0.49 vs 2.37 ± 1.57 $P < 0.01$]) suggesting a more severe malnutrition in the EMA- group compared to the EMA+ group.

UOA levels are summarized in Table 4, with most of them being significantly increased in patients compared to controls, including an increase in levels of some dicarboxylic acids (succinic, β -CH₃-succinic, adipic, azelaic and β -CH₃-adipic acids). Furthermore, there was an increase of lactic and β -OH-butyric acids.

Because the patients population were subdivided into two subgroups based on levels of ethylmalonic and adipic acid excretions, a significant increase in these compounds was usually observed in the EMA+ group compared to the EMA- group. The 10 patients of the EMA+ group showed a similar UOA profile with high levels of ethylmalonic and adipic acids evident (Figure 1).

Taking all of the patients' results combined, we found a positive correlation between ethylmalonic acid excretion and several nutritional markers, these being PNI ($r=0.45$; $P<0.05$), Leu ($r=0.54$; $P<0.01$) and Val+Ile+Leu ($r=0.53$; $P<0.01$).

Discussion:

The aim of the present study was to determine whether we could identify UOA profiles related to vitamin B deficiencies in a marasmic population of North Mauritanian children, and if these vitamin deficiencies were related to the severity of malnutrition. We believed that it could be possible to identify organic aciduria patterns typical of cobalamin (32), thiamine (6), biotin (4) or riboflavin deficiencies (17, 33). In 10 patients (26.3%), a UOA profile with excessive ethylmalonic and adipic aciduria (EMA+) was observed which was coupled with increases in other dicarboxylic acids (succinic, β -CH₃-succinic, glutaric, suberic, azelaic) which are known to be present in fatty acid beta oxidation inborn errors as glutaric aciduria type II (34) and in riboflavin deficiency (15, 17, 35, 36). The rarity of such metabolic disorders (multiple acyl-CoA dehydrogenase, short chain acyl CoA dehydrogenase, ETF or ETF Qo deficiencies) leading to ethylmalonic and adipic aciduria and the absence of Reye syndrome in the past medical history of any of these children make it very unlikely that a genetic hypothesis can be used to explain the excessive levels of ethylmalonic and adipic acids excreted in the urine in 26.3% of the malnourished children studied here. Consequently, EMA excretion under these conditions is most likely to be of nutritional origin.

The diets of the children in this study were mainly composed of polished rice, semolina, bread and sometimes small quantities of milk with little or no meat or vegetables. This diet can theoretically lead to a riboflavin deficiency, although a more precise evaluation of the riboflavin intake was not possible in this study. Importantly, we recently found the same UOA pattern observed here in a separate group of malnourished children with no riboflavin deficiency but a deficiency in the conversion of riboflavin into its cofactors (flavin adenine dinucleotide [FAD] and flavin mononucleotide [FMN]) related to a low triiodothyronine status (37).

Fatty liver is consistently found in beta oxidation disorders (38) and has been frequently described in PEM (39-43). The pathogenesis of fatty liver remains poorly explained, however many hypotheses have been proposed, including increased fat synthesis (40), redistribution of fat from the adipocytes (41), inadequate lipoprotein secretion (42), abnormality of lipoprotein lipase activity (43), mycotoxin toxicity (44), peroxisomal dysfunction (45) and beta-oxidation impairment (46). The UOA profile observed here in 10/38 marasmic children is consistent with a secondary beta oxidation impairment related to a deficiency in riboflavin cofactors. We were not

able to ascertain whether these children had a fatty liver, but considering the frequency of fatty liver in PEM (38), an impairment of beta oxidation related to a deficiency in riboflavin or its cofactors could explain part of this usual finding in PEM.

We studied urinary organic acids in a marasmic population according to Wellcome classification (18), namely where patients present with no edema and with a weight below 60% of standard provided by the National Center of Health Statistics (28). Alb and trt have been widely used in malnutrition studies with Ingenbleek & Carpentier (27) proposing a nutritional and inflammatory prognostic index in which the nutritional part of this index is calculated as Alb x Trt. This product was found to decrease in our patient group compared to controls.

In order to evaluate the severity of PEM in our groups, we also used the plasma aminoacids profile and several AA ratios which have been used extensively in studies of PEM (26). In the untreated forms of marasmus and kwashiorkor malnutrition, there is a decrease in essential AA and particularly in the branched chain AA (21). Conversely, the non-essential AA such as Gly, Ser and Ala have been reported raised in PEM (22-24). Several ratios composed of non-essential to essential AA have been proposed to evaluate the severity of PEM. In our population, we found positive correlations between the PNI and the sum of branched chain AA ($r=0.5$, $P<0.002$) and a negative correlation between PNI and the ratio Gly/branched chain AA ($r=-0.39$, $P<0.01$). These correlations show the reliability of these indexes to assess the nutritional status in our population. Interestingly, we initially expected to find a worsened nutritional status in patients with ethylmalonic aciduria, but did not in fact find any difference. Conversely, the EMA- group was found to have lower AA ratios (Table 4) indicating a more severely altered nutritional status compared to the EMA+ group.

Only a few studies have been published concerning UOA profiles in malnutrition (15, 47-50). These studies aimed mainly to demonstrate specific UOA patterns related to vitamin deficiencies, namely riboflavin (47) biotin (48) and cobalamin (49,50). We recently studied UOA and riboflavin status in malnourished girls with anorexia nervosa and found a deficiency in the conversion of riboflavin into its cofactors FMN and FAD, which was related to low patient triiodothyronine concentrations (51). In the present study, the UOA profile showed ethylmalonic, adipic and dicarboxylic aciduria. We have previously studied UOA, riboflavin and thyroid status in PEM children from Benin and Togo (37) and found similar results to those found in patients with anorexia nervosa (51). Teran-Garcia *et al.* (52) also recently published a longitudinal study

of UOA in 4 types of PEM during renutrition. They found in almost 50% of patients, UOA-related blocks in the pathway of propionate (propionic or methylmalonic acid urinary excretion), or fatty acid oxidation (dicarboxylic aciduria). The most abundant excretion of these organic acids in their study was observed in the intermediate samples obtained after a median refeeding period of 8 days. The UOA profile was then normalised to that obtained when the children were discharged (52). This study thus demonstrates that, initially, the UOA profile is a poor indicator in the evaluation of vitamin deficiencies in PEM. In the present study we show that EMA is excreted in greater amounts the less-malnourished patient group. These data are consistent with the fact that the more severe the malnutrition the lower are the UOA markers of vitamin deficiencies. The appearance of UOA excretion in the intermediate samples of the Teran-Garcia study (52) could thus be related to an imbalance between the amount of vitamin and the metabolic activity of this specific pathway. In severe PEM, the metabolic activity is initially low and there is no relative vitamin deficiency. As soon as the patient is refed, the energetic metabolism increases and the vitamin cofactors become deficient. The deficiency can then be manifested in UOA excretions. These paradoxical results could be linked to a metabolic adaptation to starvation. In our study the fact that the patients with the worst nutritional indexes presented the lowest UOA excretion is consistent with this hypothesis.

In conclusion, the UOA profile in malnutrition is a poor indicator of vitamin deficiency, meaning that vitamin supplementation during the refeeding of these patients is indispensable in avoiding secondary vitamin deficiencies once the metabolic activity increases.

TABLE 1

Anthropometric data in patients and controls

| | Controls n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA - n = 28 |
|--------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| Age (months) | 19.7 ± 6.6 | 19.9 ± 6.5 | 20.8 ± 6.7 | 17.5 ± 5.6 |
| Gender | 7 M / 5 F | 23 M / 15 F | 5 M / 5 F | 18 M / 10 F |
| Weight | 11.2 ± 1.1 | 6.6 ± 0.9 † | 6.8 ± 1.1 | 6.6 ± 0.9 |
| Weight (%) | 100 ± 12 | 57 ± 7 † | 56 ± 8 | 61 ± 5 |
| Height | 80.3 ± 5.9 | 74.1 ± 4.3 † | 73.3 ± 4.7 | 74.5 ± 4.2 |
| Height (%) | 98 ± 5 | 89 ± 5 † | 89 ± 5 | 91 ± 3 |
| BMI | 17.5 ± 2.3 | 12.1 ± 1.1 † | 12.6 ± 1.2 | 11.8 ± 1.1 |

Data are expressed as mean ± standard deviation, EMA+ group represents patients with high excretion of EMA; EMA- group represents patients with a low excretion of EMA.

M: Male, F: Female

Weight is expressed in kg, height is expressed in cm, with both parameters also expressed as a % of the age-matched norm (28).

BMI : body mass index (Kg/m²). EMA: ethylmalonic acid,.

† Significantly different from controls, *P* < 0.001 (ANOVA, F test).

TABLE 2

Nutritional and inflammatory protein levels in patients and controls

| | Controls n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA - n = 28 |
|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| Albumin (gr/L) | 46.2 ± 5.6 | 36.9 ± 8.8 † | 39.2 ± 6.2 | 36 ± 9.6 |
| Transthyretin(mg/L) | 0.18 ± 0.03 | 0.09 ± 0.05 † | 0.10 ± 0.06 | 0.08 ± 0.04 |
| PNI (Alb x Transt) | 8.3 ± 1.8 | 3.6 ± 2.3 † | 3.9 ± 2.6 | 3.5 ± 2.3 |
| CRP (mg/L) | 2.3 ± 0.2 | 43.5 ± 55 † | 61 ± 68.2 | 37.3 ± 49.4 |
| Orosomuroid (gr/L) | 0.8 ± 0.2 | 2.7 ± 1.1 † | 2.5 ± 1.3 | 2.8 ± 1.1 |

Data are expressed as mean ± standard deviation, EMA+ group represents patients with high excretion of EMA; EMA- group represents patients with a low excretion of EMA.

Alb : Albumin, Transt : Transthyretin, CRP : C reactive protein, PNI; proteic nutritional index, EMA: ethylmalonic acid.

† Significantly different from controls, $P < 0.001$ (ANOVA, F test).

TABLE 3

Plasma amino acids levels in patients and controls

| | Controls n = 12 | Patients n = 38 | EMA + n = 10 | EMA - n = 28 |
|---------------|--------------------|--------------------|-----------------|-----------------|
| Taurine | 48 ± 22 | 166 ± 99 ‡ | 179 ± 107 | 162 ± 98 |
| Glutamic acid | 40 ± 22 | 137 ± 86 ‡ | 128 ± 83 | 141 ± 89 |
| Glutamine | 368 ± 170 | 385 ± 181 | 407 ± 203 | 377 ± 175 |
| Proline | 99 ± 36 | 246 ± 148 ‡ | 261 ± 184 | 240 ± 137 |
| Glycine | 146 ± 47 | 211 ± 119 | 163 ± 73 | 228 ± 128 |
| Alanine | 218 ± 82 | 269 ± 164 | 205 ± 109 | 292 ± 175 |
| Valine | 174 ± 38 | 145 ± 84 | 184 ± 109 | 131 ± 71 |
| Methionine | 17 ± 8 | 19 ± 11 | 21 ± 13 | 18 ± 11 |
| Isoleucine | 50 ± 20 | 50 ± 30 | 65 ± 41 | 44 ± 24 |
| Leucine | 91 ± 25 | 83 ± 56 | 110 ± 38 | 73 ± 47 |
| Tyrosine | 55 ± 19 | 84 ± 41 † | 111 ± 38 | 74 ± 38 § |
| Phenylalanine | 41 ± 14 | 80 ± 50 ‡ | 92 ± 49 | 75 ± 50 |
| Ornithine | 35 ± 13 | 33 ± 18 | 43 ± 21 | 30 ± 16 § |
| Gly/Ser | 1.21 ± 0.42 | 1.78 ± 1.08 | 1.32 ± 0.55 | 1.95 ± 1.18 |
| V+L+I | 314 ± 79 | 277 ± 168 | 359 ± 221 | 249 ± 138 |
| G/V+L+I | 0.47 ± 0.14 | 1 ± 0.77 † | 0.49 ± 0.15 | 1.18 ± 0.83 §§ |
| G+A+S/V+I+L | 1.7 ± 0.35 | 2.74 ± 1.65 † | 1.51 ± 0.42 | 3.18 ± 1.71 §§ |
| Noness/Ess AA | 1.71 ± 0.35 | 2.19 ± 0.93 | 1.57 ± 0.49 | 2.37 ± 1.57 § |

Table 3: legend

Data are expressed as mean \pm standard deviation, EMA+ group represents patients with high excretion of EMA; EMA- group represents patients with a low excretion of EMA.

Amino acids levels are expressed in $\mu\text{mol/L}$.

EMA: ethylmalonic acid, AD: adipic acid.

Gly/Ser: glycine/serine, V+I+L: valine + isoleucine + leucine,

G/V+I+L: glycine/valine + isoleucine + leucine,

G+A+S/V+I+L: glycine + alanine + serine/valine + isoleucine + leucine

Noness/Ess AA: Non-essential aminoacids/essential aminoacids : glycine + alanine + serine + glutamic acid + glutamine/ valine + isoleucien + leucine + methionine + phenylalanine + tyrosine.

† Significantly different from controls, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test)

‡ Significantly different from controls, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test)

§ Significantly different from patients of EMA+ group, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test).

§§ Significantly different from patients of EMA+ group, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test).

TABLE 4

Urinary organic acids levels in patients and controls

| Organic acid | Controls n = 12 | Patients n = 38 | EMAA + n = 10 | EMAA - n = 28 |
|----------------------------|--------------------|--------------------|------------------|------------------|
| Lactic | 20 ± 8 | 152 ± 117 ‡ | 208 ± 157 | 135 ± 98 |
| Pyruvic | 86 ± 63 | 39 ± 24 ‡ | 46 ± 22 | 38 ± 25 |
| β OH Butyric | 48 ± 25 | 192 ± 152 ‡ | 355 ± 146 | 120 ± 87 § |
| β OH Isovaleric | 85 ± 61 | 84 ± 87 | 134 ± 115 | 62 ± 64 §§ |
| Ethylmalonic | 10 ± 5 | 30 ± 39 | 52 ± 50 | 11 ± 5 § |
| Succinic | 10 ± 4 | 61 ± 70 † | 116 ± 97 | 34 ± 27 § |
| β CH ₃ Succinic | 53 ± 27 | 12 ± 7 † | 15 ± 7 | 8 ± 3 §§ |
| Fumaric | 7 ± 3 | 30 ± 34 | 48 ± 39 | 11 ± 13 §§ |
| Glutaric | 14 ± 16 | 19 ± 10 | 16 ± 10 | 22 ± 11 |
| Adipic | 7 ± 5 | 42 ± 40 † | 69 ± 44 | 29 ± 32 § |
| α ketoglutaric | 38 ± 37 | 123 ± 107 † | 136 ± 110 | 121 ± 116 |
| Suberic | 123 ± 98 | 28 ± 21 ‡ | 43 ± 23 | 20 ± 15 § |
| Azelaic | 5 ± 2 | 17 ± 16 † | 22 ± 19 | 10 ± 8 |

Data are expressed as mean ± standard deviation ($\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$ of creatinine). EMA+ group represents patients with high excretion of EMA; EMA- group represents patients with a low excretion of EMA.

† Significantly different from controls, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test)

‡ Significantly different from controls, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test)

§ Significantly different from patients of group EMAA+, $P < 0.05$ (ANOVA, F-test)

§§ Significantly different from patients of group EMAA+, $P < 0.001$ (ANOVA, F-test).

Figure 1

Legend: Urinary organic acid profile showing ethylmalonic and adipic aciduria in a patient with marasmus-type malnutrition.

1: Lactic acid; 2: Glyoxylic acid; 3: β -OH-butyric acid; 4: β -OH-isovaleric acid; 5: Ethylmalonic acid; 6: Succinic acid; 7: Fumaric acid; 8: Glutaric acid; 9: β -CH₃-Glutaconic acid; 10: β -CH₃-Glutaconic acid; 11: Adipic acid; 12: β -CH₃-adipic acid; 13: Internal standard; 14: β -OH-benzoic acid; 15: Para-OH-phenylacétique; 16: Dehydrosuberic acid; 17: Suberic acid; 18: Azelaic acid; 19: Cisaconitic acid + Homovanilic acid; 20: Hippuric acid; 21: Unknown; 22: Vanylmandelic acid.

References :

1. Carlier C, Moulia-Pelat JP, Ceccon JF, Mourey MS, Malvy D, Fall M, N'Diaye M, Amedee-Manesme O
Prevalence of malnutrition and vitamin A deficiency in the Diourbel, Fatick, and Kaolack regions of Senegal: a controlled study.
Am J Clin Nutr 1991; 53 : 74-77.
2. Ingenbleek Y, Van Den Schrieck HG, De Nayer P, De Visscher M.
The role of retinol-binding protein in protein-calorie malnutrition.
Metabolism 1975; 24:633-641.
3. Soliman AT, Madina EH, Morsi MR
Radiological, biochemical, and hormonal changes in malnourished children with rachitic manifestations.
J Trop Pediatr 1996; 42:34-37.
4. Velazquez A, Martin-del-Campo C, Baez A, Zamudio S, Quiterio S, Aguilar JL, Perez-Ortiz B, Sanchez-Ardines M, Guzman-Hernandez J, Casanueva E.
Biotin deficiency in protein-energy malnutrition.
Eur J Clin Nutr 1989;43:169-173.
5. Feillet F, Gueant JL, Lambert D, Djalali M, Nicolas JP, Vidailhet M.
Vitamin B 12 status in marasmic children.
J Pediatr Gastroenterol Nutr 1990; 11:283-284.
6. Tang CM, Rolfe M, Wells JC, Cham K.
Outbreak of beri-beri in the Gambia.
Lancet 1989; 22 : 206-207.

7. Ajayi OA
Biochemical ariboflavinosis among Nigerian rural school children.
Hum Nutr Clin Nutr 1984; 38:383-389.
8. Wick H, Schweizer K, Baumgartner R.
Thiamine dependency in a patient with congenital lactic acidemia due to pyruvate dehydrogenase deficiency.
Agents Actions 1977; 7 : 405-410.
9. Rhead W, Roettger V, Marshall T, Amendt B.
Multiple acyl-coenzyme A dehydrogenation disorder responsive to riboflavin : substrate oxidation, flavin metabolism, and flavoenzyme activities in fibroblasts.
Pediatr Res 1993; 33:129-135.
10. Rosenberg LE, Lilljeqvist A, Hsia YE.
Methylmalonic aciduria :Metabolic block localization and vitamin B 12 dependency.
Science 1968;162:805-807.
11. Cazzulo JJ, Sundaram TK, Kornberg HL.
Mechanism of pyruvate carboxylase formation from the apo-enzyme and biotin in a thermophilic bacillus.
Nature 1970; 227:1103-1105.
12. Norman EJ, Morrison JA.
Screening elderly populations for cobalamin (vitamin B12) deficiency using the urinary methylmalonic acid assay by gas chromatography mass spectrometry.
Am J Med 1993 ; 94:589-94.

13. Gold M, Chen MF, Johnson K.
Plasma and red blood cell thiamine deficiency in patients with dementia of the Alzheimer's type.
Arch Neurol 1995 Nov;52(11):1081-6
14. Mock NI, Malik MI, Stumbo PJ, Bishop WP, Mock DM.
Increased urinary excretion of 3-hydroxyisovaleric acid and decreased urinary excretion of biotin are sensitive early indicators of decreased biotin status in experimental biotin deficiency.
Am J Clin Nutr 1997 Apr;65(4):951-8.
15. Capo-chichi CD, Feillet F, GuÉant JL, Amouzou KS, Zonon N, Sanni A, Lefebvre E, Assimadi A, Vidailhet M.
Riboflavin and related organic acids status in children with protein-energy malnutrition.
Am J Clin Nutr 1999,in Press
16. Chalmers RA, Lawson AM, Borud O.
Gas chromatographic and mass spectrometric studies on urinary organic acids in a patient with congenital lactic acidosis due to pyruvate decarboxylase deficiency.
Clin Chim Acta 1977; 77:117-124.
17. Goodman SI.
Organic aciduria in the riboflavin-deficient rat.
Am J Clin Nutr 1981;34:2434-2437.
18. Anonymous
Classification of infantile malnutrition.
Lancet 1970; 2 : 302-303.

19. Smith G, Weidel SE, Fleck A.
Albumin catabolic rate and protein-energy depletion.
Nutrition 1994; 10 : 335-341.
20. Ingenbleek Y, De Visscher M, De Nayer P.
Measurement of prealbumin as index of protein-calorie malnutrition.
Lancet 1972; 15 : 106-109.
21. Adibi SA.
Metabolism of branched-chain amino acids in altered nutrition.
Metabolism 1976; 25:1287-1302.
22. Whitehead RG, Dean RF.
Serum aminoacids in kwashiorkor. I Relationship to clinical condition.
Am J Clin Nutr 1964;14:313-319.
23. Whitehead RG, Dean RF.
Serum aminoacids in kwashiorkor. II An abbreviated method of estimation and its application.
Am J Clin Nutr 1964;14:320-330.
24. Anasuya A, Narasinga BS.
Plasma amino acid pattern in kwashiorkor and marasmus.
Am J Clin Nutr 1968;21:723-732.
25. Arroyave G, Wilson D, De Funes C, Behar M.
The free amino acids in blood plasma of children with kwashiorkor and marasmus.
Am J Clin Nutr 1962;11:517-521.

26. Ghisolfi J, Charlet P, Salvayre R, Thouvenot JP, Duole C.
Plasma free amino acids in normal children and in patients with proteinocaloric malnutrition : fasting and infection.
Pediat Res 1978;12:912-917.
27. Ingenbleek Y, Carpentier YA.
A prognostic inflammatory and nutritional index scoring critically ill patients.
Int J Vitam Nutr Res 1985;55:91-101.
28. Stuart HC, Stevenson SS.
Growth and development.
In : Textbook of pediatrics, Berhman RE and Vaughan VC, (Eds) Saunders WB publishers, Philadelphia, 1987;6-35.
29. Conrad A, Schurmann J, Kreutz FH, Sieber A.
Elaboration of a method for the quantitative determination of protein by laser nephelometry in the clinical routine laboratory.
J Clin Chem Clin Biochem 1978;16:299-305.
30. Rahm J, Weinova H, Prochazka Z.
The effect of the conditions of preparation of cation-exchange resins on their resolution efficiency in ion-exchange chromatography of amino acids.
J Chromatogr 1971;60:256-259.
31. Lefebvre E, Vidailhet M, Rousselot JM, Morali A.
Methodologie d'Étude des acides organiques chez l'enfant.
CR Soc Biol 1982;176:30-38.

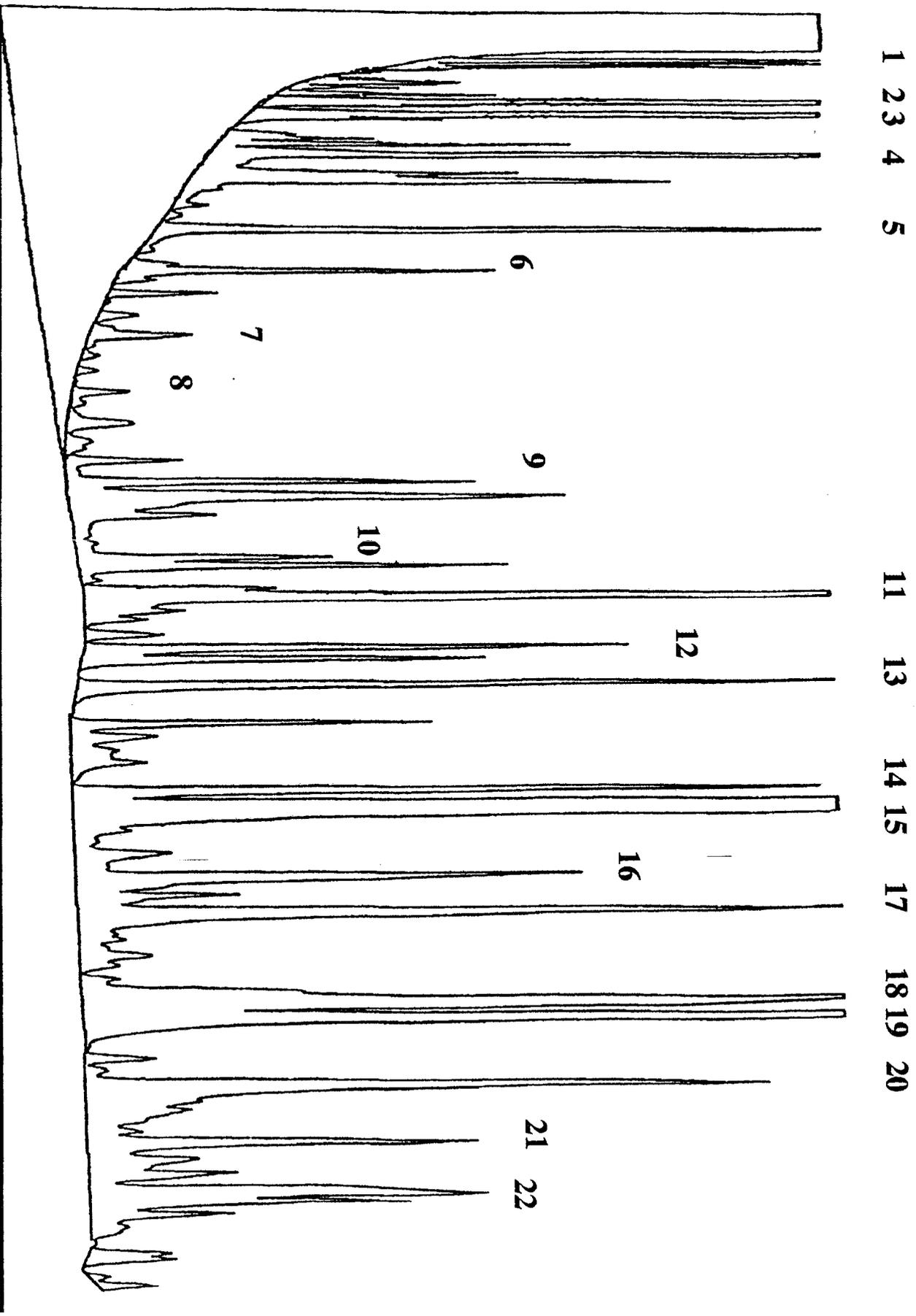
32. Casterline JE, Allen LH, Ruel MT.
Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating guatemalan women and their infants at three months postpartum.
J Nutr 1997;127:1966-1972.
33. Gregersen N, Wintzensen H, Christensen SK, Christensen MF, Brandt NJ,
C6-C10-dicarboxylic aciduria: investigations of a patient with riboflavin responsive
multiple acyl-CoA dehydrogenation defects. Rasmussen K
Pediatr Res 1982 Oct;16(10):861-868.
34. Amendt BA, Rhead WJ.
The multiple acyl-coenzyme A dehydrogenation disorders, glutaric aciduria type II and
ethylmalonic-adipic aciduria. Mitochondrial fatty acid oxidation, acyl-coenzyme A
dehydrogenase, and electron transfer flavoprotein activities in fibroblasts.
J Clin Invest 1986; 78 : 205-213.
35. Largilliere C, Fontaine M, Marrkchis S, Voisin-Tabouveau O.
Pseudo-glutaric aciduria type II in a patient with celiac disease.
J Pediatr 1993;112:504.
36. J Elias E, Gray RG, Poulton K, Green
Ethylmalonic adipic aciduria, a treatable hepatomuscular disorder in two adult brothers.
J Hepatol 1997;26:433-6.
37. Capo-chichi CD, Feillet F, Gueant JL, Amouzou KS, Zonon N, Sanni A, Lefebvre E,
Assimadi A, Vidailhet M.
Riboflavin and related organic acids status in children with protein-energy malnutrition.
Am J Clin Nutr 1999, in Press

38. von Döbeln U.
Fatty acid oxidation defects
Acta Paediatr Suppl 1993;82 Suppl 389:88-90 .
39. Fletcher K.
Observations on the origin of liver fat in infantile malnutrition.
Am J Clin Nutr 1966; 19 : 170-174.
40. Mc Donald I, Hansen JDL, Broute-Stewart B.
Liver, fat depot and serum lipids during early recovery from kwashiorkor.
Clin Sci 1963;24:55-61.
41. Lewis B, Hansen JDL, Witman W, Krut LH, Stewart F.
Plasma free fatty acids in kwashiorkor and the pathogenesis of the fatty liver.
Am J Clin Nutr 1964;15:161-168.
42. Flores H, Pak N, Maccioni A, Monckerberg F.
Lipid transport in kwashiorkor.
Brit J Nutr 1970;24:1005-1011.
43. Agbedana EO, Johnson AO, Taylor GO.
Studies on hepatic and extrahepatic lipoprotein lipases in protein-calorie malnutrition.
Am J Clin Nutr 1979;32:292-8.
44. Hendrickse RG.
The influence of aflatoxins on child health in the tropics with particular reference to kwashiorkor.
Trans R Soc Trop Med Hyg 1984;78:427-435.

45. Doherty JF, Golden MHN, Brooks SEH.
Peroxisomes and the fatty liver of malnutrition : an hypothesis.
Am J Clin Nutr 1991;54:674-677.
46. Leung NW, Peters TJ.
Palmitic acid oxidation and incorporation into triglyceride by needle liver biopsy specimens from control subjects and patients with alcoholic fatty liver disease.
Clin Sci 1986;71:253-260.
47. Veitch K, Draye JP, Vamecq J, Causey AG, Bartlett K, Sherratt HS, Van Hoof F.
Altered acyl-CoA metabolism in riboflavin deficiency.
Biochim Biophys Acta 1989;1006:335-343.
48. Mock DM, Baswell DL, Baker H, Holman RT, Sweetman L.
Biotin deficiency complicating parenteral alimentation : diagnosis, metabolic repercussions and treatment.
Ann N Y Acad Sci 1985; 447 : 314-334.
49. Specker BL, Miller D, Norman EJ, Greene H, Hayes KC.
Increased urinary methylmalonic acid excretion in breast-fed infants of vegetarian mothers and identification of an acceptable dietary source of vitamin B-12.
Am J Clin Nutr 1988;47:89-92.
50. Norman EJ.
New urinary methylmalonic acid test is a sensitive indicator of cobalamin (vitamin B12) deficiency : a solution for a major unrecognized medical problem.
J Lab Clin Med 1987;110:369-370.

51. Capo-chichi CD, Gueant JL, Lefebvre E, Bennani N, Lorentz E, Vidailhet C Vidailhet M.
Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia
nervosa.
Am J Clin Nutr 1999 Apr;69(4):672-8

52. Teran-Garcia M, Ibarra I, Velazquez A.
Urinary organic acids in infant malnutrition.
Pediatr Res 1998;44:386-391.



Concentrations of riboflavin and related organic acids in children with protein-energy malnutrition¹⁻⁴

Callinice D Capo-chichi, François Feillet, Jean-Louis Guéant, Kou'Santa Amouzou, Noël Zonon, Ambaliou Sanni, Emmanuelle Lefebvre, Kossi Assimadi, and Michel Vidailhet

ABSTRACT

Background: Riboflavin, flavin mononucleotide (FMN), and flavin adenine dinucleotide (FAD) concentrations have been little studied in cases of malnutrition.

Objective: Our objective was to investigate the effects of malnutrition on riboflavin status and riboflavin's relation with thyroid hormones and concentrations of urinary organic acids.

Design: Malnourished children from the savannah in Benin (group S, $n = 30$) and the coast in Togo (group C, $n = 30$), as well as 24 control subjects from both regions, were studied. Blood riboflavin, FMN, and FAD were analyzed by HPLC; urinary organic acids were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry.

Results: Children in group S were more severely malnourished than children in group C. Triiodothyronine concentrations were lower in group S than in group C or the control group (1.12 ± 0.24 compared with 1.74 ± 0.18 and 2.92 ± 0.19 nmol/L, respectively; $P < 0.0001$). Plasma riboflavin concentrations in group S were higher than those in group C or the control group (66.90 ± 12.75 compared with 28.09 ± 9.12 and 20.08 ± 3.03 nmol/L, respectively; $P < 0.001$). Plasma FAD concentrations in group S were lower than those in group C or the control group (31.57 ± 10.19 compared with 59.02 ± 5.60 and 65.35 ± 5.23 nmol/L, respectively; $P < 0.0001$). Dicarboxylic aciduria was higher in group C than in group S or the control subjects.

Conclusions: Children in group S had low triiodothyronine concentrations and low conversion of plasma riboflavin into its cofactors, leading to a plasma FAD deficiency. Plasma FAD was not correlated with urinary dicarboxylic acid concentrations. *Am J Clin Nutr* 2000;71:978-86.

KEY WORDS Malnutrition, thyroid hormones, riboflavin, dicarboxylic acids, Benin, Togo, FAD, flavin adenine dinucleotide, FMN, flavin mononucleotide, organic aciduria, children

INTRODUCTION

Child malnutrition remains a major public health problem in underdeveloped countries. Vitamin deficiencies thought to result from protein-energy malnutrition (PEM) have been identified for vitamins A, C, D, E, thiamine, and biotin (1-6). In contrast, vitamin B-12 and folate concentrations have been found to be normal or even elevated in PEM (7-9). Riboflavin concentrations in

children with PEM, however, have been poorly studied to date. Riboflavin is the precursor of flavin mononucleotide (FMN) and flavin adenine dinucleotide (FAD), which are cofactors in intermediary metabolism. The conversion of riboflavin into FMN requires riboflavin kinase (EC 2.7.1.26), the activity of which is enhanced by triiodothyronine (T_3) (10-13). Previous studies showed that thyroid hormone concentrations are affected in PEM (14, 15) and that riboflavin deficiency is responsible for a specific organic aciduria (16, 17). The aim of the present work was to study the influence of PEM and thyroid hormone concentrations on riboflavin metabolism and concentrations of organic acid excreted in the urine.

SUBJECTS AND METHODS

Subjects

Sixty malnourished children from 2 different geographic regions in western Africa were examined in the present study. Thirty children came from the savannah region (group S) in the center of Benin and 30 children came from the gulf coast of Benin in the south of Togo (group C). The diagnosis of malnutrition type (kwashiorkor or marasmus) was made by using the Wellcome classification (18); additional criteria for the diagnosis of kwashiorkor were the existence of edema, thin and discol-

¹From the Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire en Nutrition and Service de Pédiatrie, Hôpital d'Enfants, Centre National de Recherche Scientifique, Faculté de Médecine de Nancy, Nancy, France; Laboratoire de Biochimie et de Nutrition Appliquée, Université du Bénin, Lomé, Togo; Centre Pédiatrique, Abomey, République du Bénin; Département de Biochimie et de Biologie Cellulaire, Université Nationale du Bénin, Cotonou, République du Bénin; and the Service de Pédiatrie, Centre Hospitalier Universitaire Tokoin, Lomé, Togo.

²In memory of Clarisse Dechavassine.

³Supported by La Fondation pour la Recherche Médicale, Comité Lorraine, Nancy, France, and by Beckman-Coulter, Magency, France.

⁴Address reprint requests to M Vidailhet, Service de Pédiatrie, Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire en Nutrition, EP CNRS 616, Faculté de Médecine de Nancy, BP 184-54505 Vandœuvre-les-Nancy Cédex, Nancy, France. E-mail: m.vidailhet@chu-nancy.fr.

Received February 3, 1999.

Accepted for publication September 15, 1999.

ored hair, skin lesions, and low weight-for-height. Eighteen children with kwashiorkor and 12 with marasmus were identified in group S and 6 with kwashiorkor and 24 with marasmus were identified in group C. Diagnostic symptoms at hospitalization were fever, diarrhea, failure to thrive, vomiting, or infection. Parental, informed consent was obtained before the study. The social, clinical, and nutritional history of the child was noted, as were anthropometric data, which included weight, height, and arm and head circumferences. We calculated body mass index (BMI; in kg/m²) (19) and the ratio of arm to head circumference (AC:HC) (20). Weight and height data were compared with standards from the US National Center for Health Statistics (21). Overnight fasting blood and urine samples were collected the morning after admission of patients, just before commencement of the treatment program.

The control data provided in this study were obtained from 23 healthy, age-matched children from the same savannah ($n = 15$) and coastal ($n = 9$) regions. The study was conducted in accordance with guidelines of the Declaration of Helsinki in 1989.

Dietary investigation

The qualitative composition of the diet was determined for both malnourished groups. Breast milk was the principle food for children <24 mo of age, followed by porridges of rice, millet, and maize. After 24 mo of age, the diet was composed of rice or maize pudding, vegetables, and, occasionally, powdered cow milk. Riboflavin concentrations in maize (0.11–0.17 mg/100 g), millet (0.11–0.14 mg/100 g), and cow milk (0.15–0.20 mg/100 g) are higher than those measured in rice (0.01–0.03 mg/100 g) and human milk (0.03–0.04 mg/100 g) (22).

Collection and handling of samples

All samples were collected under low-intensity lighting. Venous blood from patients was collected in a 3-mL heparin-containing tube (wrapped in aluminum foil) and centrifuged at 2200 × *g* and 4°C for 5 min. Plasma was dispensed into aliquots and red cells were washed 3 times with a 0.9% sodium chloride solution. A 15–50-mL volume of urine voided after an overnight fast was collected from the subjects. Plasma, erythrocytes, and urine were immediately frozen at –20°C. All samples were transported to our laboratory on dry ice and were stored at –20°C until analyzed. Samples were protected from light during transport and storage.

Assay of biological variables

Albumin, transthyretin, transferrin, and α_1 -acid glycoprotein were analyzed by Beckman immunonephelometry (Array 360 CE system; Beckman, Brea, CA), whereas C-reactive protein was analyzed by Behring immunonephelometry (Behring, Marburg, Germany).

HPLC procedure

Blood vitamin extraction

Vitamins were extracted from blood was performed according to Capochichi et al (23) with the use of galactoflavin as an internal standard. All experiments were carried out under low-intensity light. A 0.5-mL volume of hemolysate or a 1-mL sample of plasma was used for vitamin extraction, to which an equal volume of solution A (10 mmol dihydrogen potassium phosphate/L and 15 mmol magnesium acetate/L, adjusted to pH 3.4 with orthophosphoric

acid) was added together with 100 μ L galactoflavin (206 nmol/L). Samples were incubated at 65°C for 15 min to release FAD and FMN from apoenzymes present in the medium. Proteins were precipitated by adding a 0.5-mL aliquot of 10% trichloroacetic acid solution to the reaction mixture and centrifuging at 3200 × *g* for 10 min at room temperature; the supernate was kept in a separate tube and the original tube was then rinsed once with 1 mL solution A and centrifuged at 3200 × *g* for 5 min at room temperature. The supernate was added to the first one. Supernates were then loaded onto a C₁₈ Sep-pak cartridge (Waters, Milford, MA) previously conditioned with 2 mL methanol (Prolabo, Paris) and 2 mL solution A. The Sep-pak cartridge was rinsed with 2 mL solution A; vitamins were then eluted with 2 mL solution B (a 1:1 mixture of methanol and solution A). A 100- μ L volume of the vitamin extract was then injected into the HPLC apparatus for analysis. Standard solutions of 265 nmol riboflavin/L (Merck, Darmstadt, Germany); 240 nmol FAD/L, 220 nmol FMN/L (Sigma Chemical Co, St Louis), and 206 nmol galactoflavin/L (Merck Sharp & Dohme, Gibbstown, NJ) were used for calibration. The extraction recoveries from supplemented samples were 99.0 ± 3.81%, 99.0 ± 5.80%, and 97.0 ± 2.80% for FAD, FMN, and riboflavin, respectively. The extraction recovery of the internal standard (galactoflavin) was 97 ± 2.04%. The between-run CVs were 5.9%, 6.8%, 4.3%, and 2.1% for FAD, FMN, riboflavin, and galactoflavin, respectively.

HPLC separation and identification of riboflavin and riboflavin cofactors

Analyses for riboflavin and riboflavin cofactors were carried out with a C₁₈ reversed-phase column (250 mm × 4 mm, 5 μ m internal diameter; Interchim, Montluçon, France) with isocratic elution by using 15% acetonitrile in solution A at a flow rate of 1 mL/min. The HPLC system was composed of 2 Waters 501 pumps connected to a Shimadzu RF 535 fluorescence HPLC monitor and a Shimadzu CR6A Chromatopac integrator (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan). The spectrofluorometer was set to 445 nm for the excitation wavelength and 530 nm for the emission wavelength.

Urinary organic acid analysis

Organic acids were extracted from volumes of urine containing 1 mg creatinine and analyzed by using a gas chromatograph–mass spectrometer (model 5971 A; Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) according to Lefebvre et al (24). Only specific organic acids related to riboflavin concentrations (glutaric, succinic, methylsuccinic, ethylmalonic, suberic, adipic, methyladipic, and pimelic acids) were examined in this study.

Plasma thyroid hormone analysis

Plasma thyroid hormones were assessed by using a time-resolved fluoroimmunoassay (25) with a DELFIA kit and an LKB Wallac 1230 Arcus fluorometer (both from Wallac Oy, Turku, Finland).

Statistical analysis

STATVIEW software (version 4.02; Abacus Concepts, Inc, Berkeley, CA) was used for statistical analyses. Data are expressed as means ± SEs and ranges. Because of a skewed data distribution, logarithmic transformations were carried out to normalize distributions before the statistical analyses (Student's *t* test for unpaired data and Bonferroni adjustment). The following

comparisons were made: 1) group S with group C, 2) each group of malnourished children with the control group, and 3) the subgroups with kwashiorkor and marasmus with each other and with the control subjects. Differences were considered significant for P values < 0.05 . Linear regression correlation coefficients (r) were used to assess the relations between nutritional proteins, riboflavin, FMN, FAD, thyroid hormones, and organic acids.

RESULTS

Anthropometric and biological data from age-matched malnourished children (groups S and C) and the control group are summarized in **Table 1**. Malnourished children in groups S and C had significantly lower average anthropometric measurements than did the control group. Weights and height expressed as percentages of normal weights- and heights-for-age (21), were significantly lower in group S than in group C. There were no significant differences in AC:HC or BMI values between groups S and C.

Except for transferrin concentrations of group C, plasma nutritional protein concentrations were lower in the malnourished children than in the control subjects. These nutritional measures were significantly more affected in group S than in group C. Plasma inflammatory protein concentrations were higher in both malnourished groups than in the control group.

As shown in **Table 2**, all malnourished children had lower thyroxine (T_4), T_3 , free thyroxine (FT_4), and free T_3 (FT_3) concentrations than did the control subjects. T_3 , T_4 , and FT_3 concentrations were lower in group S than in group C. There were no significant differences in thyrotropin concentration between the groups. Although the mean of the ratio of T_3 to T_4 was low in group S (0.018 ± 0.003), it was not significantly different from that in group C (0.019 ± 0.001) or the control group (0.023 ± 0.001). In contrast, the mean FT_3 - FT_4 ratio was significantly lower in group S (0.32 ± 0.04) than in group C (0.47 ± 0.04 ; $P < 0.01$) or the control group (0.48 ± 0.04 ; $P < 0.01$). No signi-

ficant difference in this variable was observed between group C and the control group.

For the malnourished children, T_3 concentrations were positively correlated with albumin, transferrin, and transthyretin ($r = 0.49$, $P < 0.0001$) concentrations ($n = 41$). Graphs showing the correlation of T_3 concentration with that of albumin and transferrin are presented in **Figure 1** and show that all children with low T_3 concentrations had low albumin and transferrin concentrations. Correlation coefficients for T_3 concentrations with albumin, transferrin, and transthyretin concentrations were 0.82 ($P < 0.0001$), 0.81 ($P < 0.0001$), and 0.29 ($P < 0.05$), respectively. The T_3 - T_4 ratio was positively correlated with albumin ($r = 0.34$), transferrin ($r = 0.25$), and transthyretin ($r = 0.29$) concentrations ($P < 0.05$, $n = 41$).

FT_3 concentrations were positively correlated with albumin ($r = 0.51$), transferrin ($r = 0.47$), and transthyretin ($r = 0.43$) concentrations ($P < 0.01$; $n = 36$); no significant correlation was observed with FT_4 . In addition, the FT_3 - FT_4 ratio was positively correlated with albumin ($r = 0.52$), transferrin ($r = 0.41$), and transthyretin ($r = 0.59$) concentrations ($P < 0.05$; $n = 36$).

Measured riboflavin, FMN, and FAD concentrations are summarized in **Table 2**, which shows that there were no significant differences in riboflavin concentrations between group C and the control group. The plasma riboflavin concentration was significantly higher in group S than in group C or the control group. FMN concentrations were not significantly different between groups, whereas plasma FAD concentrations were significantly lower in group S than in group C or the control group. Plasma riboflavin deficiency was observed in 3 children in group S and 1 child in group C. The plasma riboflavin and FAD concentrations in these patients were below the lowest values for the control group (riboflavin < 12.53 nmol/L and FAD < 33.53 nmol/L, respectively).

During HPLC analysis of riboflavin concentrations, 3 different chromatographic profiles were observed (**Figure 2**). 1) In those in group C and the control group with normal riboflavin

TABLE 1
Anthropometric and biological data for malnourished children and a control group¹

| | Group S ($n = 30$) | Group C ($n = 30$) | Control group ($n = 24$) |
|-----------------------------------|--|--|---|
| Age (mo) | 20.20 \pm 1.37 (6–36) | 18.40 \pm 1.46 (6–36) | 18.60 \pm 2.76 (6–36) |
| Weight (% of NCHS standard) | 60.53 \pm 1.79 ² | 67.22 \pm 3.73 ² | 91.51 \pm 3.46 |
| Height (% of NCHS standard) | 88.13 \pm 1.33 ^{3,4} | 93.7 \pm 2.48 | 93.75 \pm 2.46 |
| AC:HC | 0.24 \pm 0.01 ² | 0.26 \pm 0.01 ³ | 0.32 \pm 0.01 |
| BMI (kg/m ²) | 12.08 \pm 0.35 ² | 12.35 \pm 0.38 ² | 17.96 \pm 0.58 |
| Plasma measures | | | |
| Albumin (g/L) | 19.77 \pm 1.38 [26] ^{2,5} (9.4–33.7) | 31.47 \pm 1.76 [29] ² (14.80–54.10) | 39.97 \pm 0.88 [24] (32.8–49.0) |
| Transthyretin (g/L) | 0.10 \pm 0.001 [26] ² (0.06–0.21) | 0.13 \pm 0.01 [29] ² (0.02–0.29) | 0.17 \pm 0.09 [24] (0.11–0.27) |
| Transferrin (g/L) | 0.95 \pm 0.14 [26] ^{2,5} (0.13–2.98) | 2.33 \pm 0.24 [29] (0.53–5.44) | 2.65 \pm 0.12 [24] (1.56–3.49) |
| α -Acid glycoprotein (g/L) | 2.43 \pm 0.17 [26] ⁶ (1.05–5.17) | 2.38 \pm 0.17 [29] ⁶ (0.91–4.47) | 1.49 \pm 0.16 [24] (0.52–3.41) |
| C-reactive protein (mg/L) | 48.16 \pm 9.88 [26] ³ (< 3.00 –200.0) | 48.84 \pm 10.91 [29] ³ (< 3.0 –196.0) | 15.66 \pm 5.39 [24] (< 3.0 –121.80) |

¹ $\bar{x} \pm$ SE; range in parentheses; n in brackets. Group S was from the savannah in Benin; group C was from the coast of Togo. Weight and height are expressed as percentages of National Center for Health Statistics standard values for age (21).

^{2,3,6}Significantly different from the control group (with Bonferroni adjustment): ² $P < 0.0001$, ³ $P < 0.05$, ⁶ $P < 0.001$.

^{4,5}Significantly different from group C (with Bonferroni adjustment): ⁴ $P < 0.05$, ⁵ $P < 0.0001$.

TABLE 2
Plasma thyroid hormones and plasma and erythrocyte riboflavin and riboflavin cofactor concentrations in malnourished children and a control group¹

| | Group S | Group C | Control group |
|----------------------------------|---|--|--------------------------------------|
| Thyrotropin (mU/L) | 3.35 ± 0.55 [23] (0.38–9.54) | 3.11 ± 0.48 [21] (0.49–10.28) | 2.23 ± 0.26 [19] (0.73–4.62) |
| T ₃ (nmol/L) | 1.12 ± 0.24 [23] ^{2,3} (0.01–4.84) | 1.74 ± 0.18 [21] ⁴ (0.40–3.12) | 2.92 ± 0.19 [19] (1.50–4.25) |
| T ₄ (nmol/L) | 57.06 ± 5.87 [23] ^{2,3} (9.13–111.40) | 94.58 ± 8.59 [21] ⁴ (21.76–169.80) | 129.92 ± 6.11 [19] (83.54–185.60) |
| FT ₃ (pmol/L) | 4.71 ± 0.68 [19] ⁴ (1.15–12.22) | 5.25 ± 0.50 [17] ⁵ (2.32–11.21) | 7.19 ± 0.42 [19] (3.62–10.08) |
| FT ₄ (pmol/L) | 13.0 ± 0.97 [19] ⁵ (8.01–20.22) | 11.32 ± 0.65 [17] ⁵ (7.94–17.08) | 16.55 ± 1.77 [18] (10.35–38.69) |
| Plasma | | | |
| Riboflavin (nmol/L) | 66.9 ± 12.75 [24] ^{3,4} (3.0–277.98) | 28.09 ± 9.12 [27] (3.0–227.83) | 20.08 ± 3.03 [15] (12.53–44.49) |
| FMN (nmol/L) | 13.70 ± 2.08 [24] (4.0–38.67) | 16.40 ± 2.45 [27] (4.0–55.26) | 13.02 ± 0.74 [15] (10.24–18.35) |
| FAD (nmol/L) | 31.57 ± 10.19 [24] ^{2,3} (4.0–217.0) | 59.02 ± 5.60 [27] (4.15–108.50) | 65.35 ± 5.23 [15] (33.34–94.20) |
| Erythrocyte | | | |
| Riboflavin (nmol/mol hemoglobin) | Trace [21] | Trace [22] | Trace [15] |
| FMN (nmol/mol hemoglobin) | 23.05 ± 6.07 [21] (4.0–109.73) | 15.61 ± 3.27 [22] (4.0–68.88) | 17.39 ± 2.18 [15] (5.40–31.02) |
| FAD (nmol/mol hemoglobin) | 79.35 ± 7.32 [21] (35.61–142.30) | 67.86 ± 7.90 [22] (34.85–170.62) | 83.85 ± 9.79 [15] (62.26–150.44) |

¹ $\bar{x} \pm SE$; range in parentheses; *n* in brackets. Group S was from the savannah in Benin, group C was from the coast of Togo. T₃, triiodothyronine; T₄, thyroxine; FT₃, eg, free T₃; FAD, flavin adenine dinucleotide; FMN, flavin mononucleotide.

^{2,4,5}Significantly different from the control group (with Bonferroni adjustment): ²*P* < 0.0001, ⁴*P* < 0.001, ⁵*P* < 0.05.

³Significantly different from group C, *P* < 0.0001 (with Bonferroni adjustment).

status (Figure 2A), FAD concentrations were found to be higher than FMN and riboflavin concentrations. 2) In cases of riboflavin deficiency (Figure 2B), FAD, FMN, and riboflavin concentrations were all lower than reference values. 3) In cases of a decrease in riboflavin conversion into its cofactors (Figure 2C), riboflavin concentrations were higher than FMN and FAD concentrations in groups S and C, especially in the most malnourished children in group S.

The extent of riboflavin conversion into its cofactors was estimated by calculating the FMN-riboflavin, FAD-FMN, and FAD-riboflavin ratios for each subject. The mean values of these ratios in plasma were significantly lower (*P* < 0.01) in group S (0.44 ± 0.12, 2.48 ± 0.46, and 0.99 ± 0.31, respectively; *n* = 24) than in group C (2.05 ± 0.48, 5.33 ± 0.91, and 7.06 ± 1.96, respectively; *n* = 27) or the control group (0.78 ± 0.20, 5.68 ± 0.72, and 4.16 ± 0.64, respectively; *n* = 15). No significant difference in these flavin pair ratios was observed between group C and the control group.

There was no significant difference in erythrocyte FAD, FMN, or riboflavin concentrations, or erythrocyte flavin pair ratios between the groups. Erythrocyte riboflavin was measured in trace amounts in all groups (Table 2).

In group S, patients with low T₃ concentrations had plasma riboflavin concentrations that were higher than plasma FAD concentrations. However, in 2 patients with normal thyroid hormone values, higher plasma riboflavin concentrations than FAD concentrations were also observed. Only one patient in group C with low T₃ (0.69 nmol/L) had a plasma riboflavin concentration (227.8 nmol/L) that was higher than the plasma FAD and FMN concentrations (18.7 and 12.18 nmol/L, respectively).

Plasma riboflavin was negatively correlated with low T₃ concentrations (*r* = -0.39, *P* < 0.05; *n* = 27), whereas the FMN-riboflavin and FAD-riboflavin ratios were positively correlated with low T₃ concentrations (*r* = 0.45 and *r* = 0.44, respectively, *P* < 0.05; *n* = 27). No significant correlation was observed between low T₃ concentrations and the plasma FAD-FMN ratio. There was no significant correlation between riboflavin derivatives and T₃ concentrations in the control group or in the malnourished children with T₃ concentrations > 1.50 nmol/L (lowest value for the control group).

FT₄ was positively correlated with FAD concentrations (*r* = 0.39) and the FAD-FMN ratio (*r* = 0.38, *P* < 0.05; *n* = 27). The T₃-T₄ ratio was positively correlated with FAD (*r* = 0.57) and FMN (*r* = 0.26) but negatively correlated with riboflavin (*r* = -0.42, *P* < 0.05; *n* = 27) concentration. In addition, the T₃-T₄ ratio was positively correlated with the FMN-riboflavin (*r* = 0.46), FAD-FMN (*r* = 0.29), and FAD-riboflavin (*r* = 0.47, *P* < 0.05; *n* = 27) ratios.

The relation between plasma riboflavin concentrations and plasma nutritional protein and T₃ concentrations (Figure 3) shows that children with riboflavin concentrations above the highest control riboflavin values (44.49 nmol/L) had very low concentrations of albumin (<33 g/L), transferrin (<1.56 g/L), and T₃ (1.50 nmol/L).

All urinary organic acids were analyzed and some specific organic acids related to fatty acid oxidation are presented in Table 3. Excretion of ethylmalonic, adipic, methyladipic, suberic, glutaric, and methylsuccinic acids was higher in groups S and C than in the control group. Dicarboxylic aciduria was higher in group C than in the most severely malnourished children in

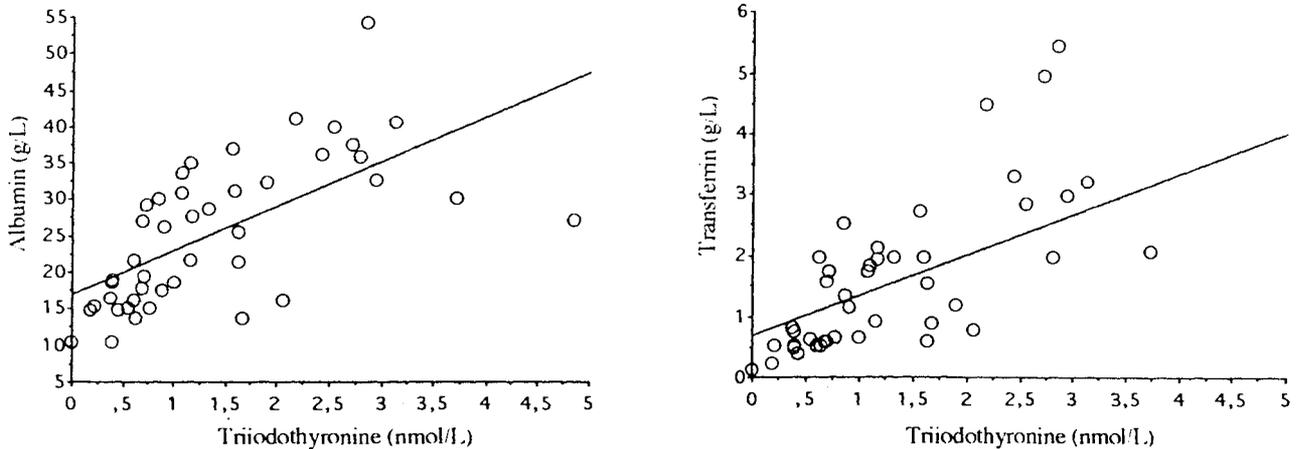


FIGURE 1. Correlations between albumin and triiodothyronine concentrations ($r = 0.78$, $P < 0.0001$) and between transferrin and triiodothyronine concentrations ($r = 0.72$, $P < 0.0001$) in malnourished children.

group S. No significant correlation was observed between urinary dicarboxylic acids and plasma or erythrocyte riboflavin, FMN, and FAD concentrations, nor between urinary dicarboxylic acids and plasma thyroid hormone concentrations.

Although children with kwashiorkor had albumin, transferrin, T_3 , and T_4 concentrations that were significantly lower (18.25 ± 1.47 g/L, 0.95 ± 0.16 g/L, 1.10 ± 0.24 nmol/L, and 54.85 ± 6.97 nmol/L, respectively) than those of children with marasmus (31.89 ± 1.43 g/L, 2.24 ± 0.22 g/L, 1.68 ± 0.20 nmol/L,

and 90.35 ± 7.44 nmol/L, respectively; $P < 0.0001$), no significant difference was observed between these groups in relation to transthyretin, α_1 -acid glycoprotein, C-reactive protein, FT_3 , FT_4 , riboflavin, FMN, FAD, and urinary organic acid concentrations. Thyrotropin concentrations were significantly higher ($P < 0.05$) in the group with kwashiorkor (4.07 ± 0.66 mU/L) than in group with marasmus (2.57 ± 0.35 mU/L). No significant difference was observed for these variables in relation to the sex or age of the malnourished children.

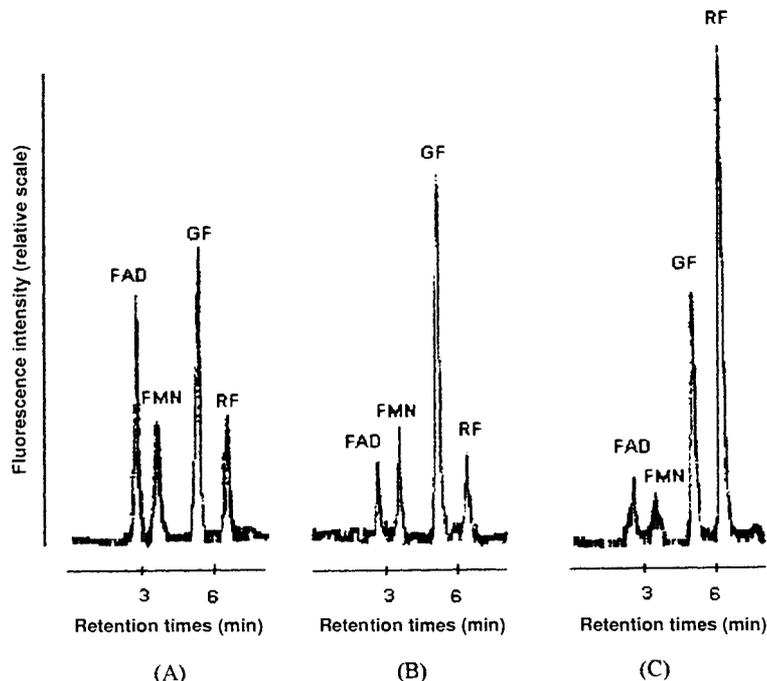


FIGURE 2. HPLC chromatogram of plasma flavin adenine dinucleotide (FAD), flavin mononucleotide (FMN), galactoflavin (GF), and riboflavin (RF) in children with normal plasma RF concentrations (A), plasma RF deficiency (B), and perturbations in plasma RF metabolism (C). The sample was injected onto a C_{18} reversed-phase column (250 mm \times 4 mm, 5 μ m) with isocratic elution using 15% acetonitrile and 85% of a solution of 10 mmol dihydrogen potassium phosphate/L and 15 mmol magnesium acetate/L, adjusted to pH 3.4 with orthophosphoric acid at a flow rate of 1 mL/min. FAD, FMN, GF, and RF were detected by spectrofluorometry at an excitation wavelength of 445 nm and an emission wavelength of 530 nm.

TABLE 3
Urinary organic acid concentrations in malnourished children and a control group¹

| | Group S (n = 22) | Group C (n = 26) | Control group (n = 21) |
|---|---|--|----------------------------------|
| Ethylmalonic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 11.76 \pm 4.21 (0.87–86.8) | 14.98 \pm 2.67 ² (1.73–64.19) | 3.64 \pm 0.80 (0.87–16.05) |
| Succinic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 43.35 \pm 25.08 (2.87–610.30) | 41.73 \pm 7.99 ² (4.6–157.90) | 14.48 \pm 3.20 (2.98–60.64) |
| Methylsuccinic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 2.81 \pm 0.57 ^{2,3} (1.09–13.60) | 5.06 \pm 0.99 ⁴ (1.36–22.58) | 2.05 \pm 0.22 (0.90–5.17) |
| Adipic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 26.35 \pm 13.60 ⁵ (3.66–187.30) | 130.01 \pm 60.78 ⁴ (5.33–875.72) | 12.23 \pm 2.36 (1.0–45.7) |
| Methyladipic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 20.07 \pm 5.54 ³ (2.85–117.15) | 92.32 \pm 18.25 ⁴ (5.7–380.0) | 17.50 \pm 2.96 (1.05–52.25) |
| Suberic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 34.08 \pm 7.10 ^{2,5} (6.02–122.0) | 67.75 \pm 14.48 ⁴ (5.27–262.90) | 16.85 \pm 2.73 (1.36–39.17) |
| Glutaric acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 5.46 \pm 2.12 ⁵ (0.77–46.96) | 9.52 \pm 1.33 ⁴ (2.16–28.45) | 3.58 \pm 0.87 (0.23–17.61) |
| Pimelic acid ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ creatinine) | 22.73 \pm 4.04 (4.91–65.52) | 20.37 \pm 4.54 (1.60–67.95) | 15.81 \pm 2.42 (2.05–40.94) |

¹ $\bar{x} \pm \text{SE}$; range in parentheses. Group S was from the savannah in Benin, group C was from the coast of Togo.

^{2,4}Significantly different from the control group (with Bonferroni adjustment): ² $P < 0.01$, ⁴ $P < 0.001$.

^{3,5}Significantly different from group C (with Bonferroni adjustment): ³ $P < 0.001$, ⁵ $P < 0.05$.

DISCUSSION

We studied 2 populations of malnourished children from 2 different geographic regions of West Africa. Clinical records, anthropometric data, and plasma nutritional protein concentrations observed in this and other studies (26, 27) indicate that the children in group S were more severely malnourished than were the children in group C. We observed low thyroid hormone concentrations in the malnourished children described here, as was reported previously (14, 15). The lower T_3 and T_4 concentrations observed in group S than in group C was more likely due to the severity of malnutrition in group S and to the lower concentrations of T_4 -binding proteins (albumin and transthyretin) in group S than in group C or the control group (28) than to an iodine-deficient intake. The mean T_3 - T_4 ratio and thyrotropin concentrations were indeed not higher than those measured in control subjects, in contrast with what was described in children with iodine intake deficiency (29). The positive correlation between T_3 and albumin and transferrin concentrations confirmed that thyroid hormone concentrations are affected by the severity of malnutrition.

The children in group C did not have significantly lower transferrin, FAD, FMN, or riboflavin concentrations than the control subjects (Table 1 and Figure 2A). In contrast, the children in group S had significantly lower plasma transferrin, albumin, and FAD and higher riboflavin concentrations than the control group (Figure 2C). This was probably because of a decrease in the conversion of riboflavin into its cofactors. As shown in Figure 2B, the impairment in riboflavin conversion was not manifested in cases of low plasma riboflavin concentrations.

Riboflavin is the precursor of FMN and FAD, which are implicated in energy metabolism and electron transfer pathways. The conversion of riboflavin into FMN and FAD is catalyzed by riboflavin kinase and FMN adenylyltransferase (EC 2.7.7.2) in the presence of ATP and Zn^{2+} (30). T_3 enhances riboflavin kinase activity (10, 13). The low T_3 concentrations observed in PEM might be responsible for a reduction in riboflavin kinase activity,

which would give rise to an insufficient conversion of riboflavin into its cofactors. Zinc deficiency, which was described previously in severely malnourished children (31, 32), might also be implicated in the impairment of riboflavin conversion into its cofactors. Along with the thyroid hormone concentrations observed in groups S and C, estimation of energy and zinc intakes in severely malnourished children (group S) and moderately malnourished children (group C) might help explain the observed riboflavin concentrations in group S.

In cases of low T_3 concentrations, the positive correlation observed between T_3 and plasma FMN:riboflavin and FAD:riboflavin, and the negative correlation between T_3 and riboflavin concentrations suggest that riboflavin kinase activity decreases with decreasing T_3 concentrations, leading to riboflavin accumulation and a reduction in plasma FAD and FMN concentrations. This observation is strengthened by the negative correlation of T_3 - T_4 ratios with riboflavin concentrations and the positive correlation of T_3 - T_4 ratios with FMN-riboflavin, FAD-FMN, and FAD-riboflavin ratios.

Although the fraction of bound riboflavin cofactors measured might not equal the total amount present, plasma FAD concentrations measured in this study were more affected by malnutrition than were FMN concentrations in cases of malnutrition accompanied by low T_3 concentrations. In group S children with low T_3 concentrations, there was a positive correlation between plasma FMN-riboflavin and FAD-riboflavin ratios ($r = 0.87$, $P < 0.01$), suggesting that a reduction in FAD synthesis in PEM is influenced by FMN availability. Two patients in group S with normal thyroid hormone concentrations and low albumin and transferrin concentrations also had plasma riboflavin concentrations that were higher than those of FAD, proving that factors other than a low T_3 concentration might be implicated in the impairment of riboflavin conversion into its cofactors. The higher plasma riboflavin than FAD concentrations observed in these malnourished children were also reported in some cases of severely malnourished anorexic girls

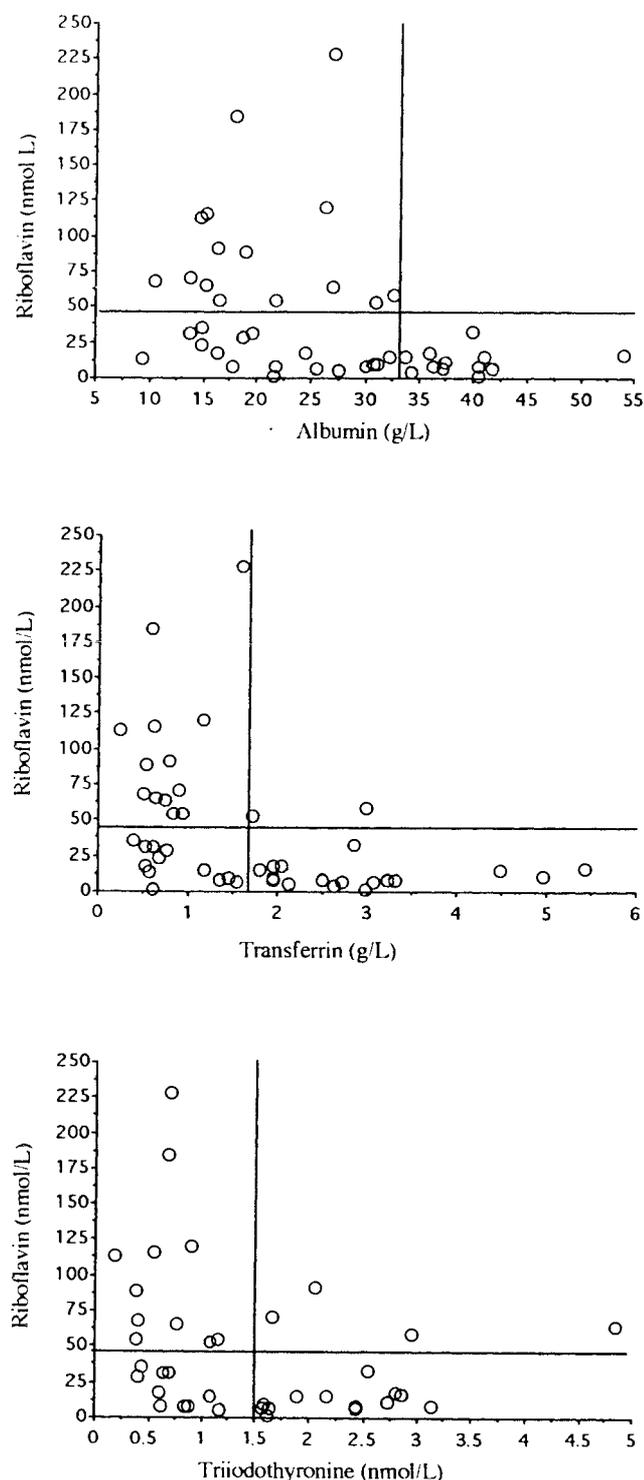


FIGURE 3. Relations between plasma riboflavin concentration and albumin ($n = 48$), transferrin ($n = 48$), and triiodothyronine ($n = 41$) concentrations in malnourished children from the savannah in Benin (S) and from the coast of Togo (C). All malnourished children with high plasma riboflavin concentrations (>44.5 nmol/L) had albumin concentrations <33 g/L, most of the malnourished children with high plasma riboflavin concentrations had transferrin concentrations <1.56 g/L, and most of the children with high plasma riboflavin concentrations had triiodothyronine concentrations <1.50 nmol/L.

with low thyroid hormone concentrations (23). A previous study also reported an increase in riboflavin excretion during acute starvation and restriction of energy intake (33). Despite the anemia (34) and erythrocyte membrane perturbations (35) occurring in the malnourished children, erythrocyte riboflavin cofactor concentrations were not deficient in either of the groups of malnourished children in our study.

Some studies have implicated riboflavin and FAD deficiencies in a specific organic aciduria (16, 17, 36). The high urinary excretion of dicarboxylic acids (ethylmalonic, succinic, methylsuccinic, glutaric, adipic, methyladipic, and suberic acids) observed in PEM indicates a defect in fatty acid mitochondrial β -oxidation (37–41). In our study, adipic, methyladipic, and suberic aciduria were higher in group C children with normal plasma FAD concentrations than in group S children with low plasma FAD concentrations. This suggests that dicarboxylic aciduria was not correlated with plasma FAD concentrations. Organic aciduria does not always reflect vitamin deficiencies, but their analysis is useful in the assessment of the active forms of vitamins in cells. The lower concentrations of urinary organic acids observed in the most severely malnourished children (group S) leads to the hypothesis that fatty acids were less available for oxidation in cases of severe malnutrition.

Organic aciduria was described previously in cases of malabsorption (41), in malnourished children (42, 43), and in anorexia nervosa (23, 44). These latter studies also showed an increase in organic acid excretion during refeeding. A recent study of organic aciduria in infantile malnutrition (43) showed an increase in dicarboxylic aciduria during refeeding. These studies in anorexia nervosa patients and malnourished children (23, 43, 44) add weight to the hypothesis that the high organic aciduria observed in the group C children was due to more substrates being available to enter the mitochondria than in the group S children, in whom substrate availability might have been rate-limiting.

Although hepatic steatosis is observed in PEM (45), the pathogenesis of fatty liver in malnutrition remains unknown. Among the hypotheses proposed to explain it is an impairment of fatty acid β -oxidation (46). Previous studies have reported that riboflavin uptake by rat and human liver cells is energy dependent (47, 48) and that hepatic FAD is low in rats with hypothyroidism (10, 11). These findings might explain the fact that in cases of severe protein-energy restriction and hypothyroidism, the reduction of riboflavin uptake by liver cells is responsible for the decreased availability of riboflavin-derived cofactors for fatty acid β -oxidation via acyl-CoA dehydrogenase activities in mitochondria, leading to the shunting of fatty acids into the ω -oxidation pathway to form dicarboxylic acids. These findings also explain why malnourished children in both groups S and C had dicarboxylic aciduria despite the fact that most of them had normal plasma riboflavin concentrations.

Our data show that dicarboxylic aciduria occurs in patients with riboflavin, FMN, and FAD concentrations in plasma and erythrocytes that are not deficient. The observed organic aciduria is not the consequence of vitamin deficiency but, more likely, reflects a reduction of riboflavin uptake by hepatic cells and an imbalance between substrate amount and β -oxidation activity.

In conclusion, our work shows a relation between riboflavin concentrations, thyroid hormones, and plasma nutritional proteins. Severe malnutrition and low concentrations of T_4 -binding proteins (albumin and transthyretin) result in low T_3 concentrations,

which in turn impair the conversion of riboflavin into its cofactors. According to our results, thyroid hormone deficiencies might not be the only factor influencing riboflavin metabolism. In our study, severely malnourished children were not globally riboflavin deficient, but the lack of mitochondrial riboflavin cofactor biosynthesis might be implicated in the reduction of FAD-dependent enzyme activities, leading to the urinary excretion of dicarboxylic acids resulting from the ω -oxidation pathway. The fact that the severely malnourished children (group S) with insufficient riboflavin conversion into cofactors had lower excretions of dicarboxylic acids than the 2 other groups, suggests that the severity of the PEM might limit the availability of fatty acids to be oxidized in these children. This finding could explain the differences observed in the excretion of dicarboxylic acids in the groups of malnourished children studied here. ☛

We especially thank the 6 medical students—Thierry Costa, Clarisse Dechavassine, Lise Delaquereze, Anne Pallez, Gabrielle Rivet, and Charlotte Tourmente—who recorded the clinical data and collected, treated, and transported the samples from Togo. We also thank Nicodem Chabi, who took care of the samples in Benin.

REFERENCES

1. Donnen P, Brasseur D, Dramaix M, et al. Vitamin A deficiency and protein-energy in a sample of pre-school age children in the Kivu province in Zaire. *Eur J Clin Nutr* 1996;50:456–61.
2. Becker K, Bötticher D, Leichsenring M. Antioxidant vitamins in malnourished Nigerian children. *Int J Vitam Nutr Res* 1994;64:306–10.
3. Raghuramulu N, Reddy V. Studies on vitamin D metabolism in malnourished children. *Br J Nutr* 1982;47:231–4.
4. Beau JP, Sy A. Vitamin E supplementation in Senegalese children with kwashiorkor. *Santé* 1996;6:209–12.
5. Neumann CG, Swendseid ME, Jacob M, Stiehm ER, Dirige OV. Biochemical evidence of thiamin deficiency in young Ghanaian children. *Am J Clin Nutr* 1979;32:99–104.
6. Velázquez A, Martin-del-Campo C, Báez A, et al. Biotin deficiency in protein-energy malnutrition. *Eur J Clin Nutr* 1989;43:169–73.
7. Lejeune-Lenain C, Fondu P. Serial measurements of vitamin B12 and vitamin-B12-binding capacity in marasmic kwashiorkor. *Clin Chim Acta* 1975;59:81–6.
8. Feillet F, Guéant JL, Lambert D, Djalali M, Nicolas JP, Vidailhet M. Vitamin B12 status in marasmic children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1990;11:283–4 (letter).
9. Wickramasinghe SN, Akinyanju OO, Grange A, Litwinczuk RA. Folate levels and deoxyuridine suppression tests in protein-energy malnutrition. *Br J Haematol* 1983;53:135–43.
10. Rivlin SR, Langdon RG. Regulation of hepatic FAD levels by thyroid hormone. In: Weber G, ed. *Advances in enzymes regulation*. Oxford, United Kingdom: Pergamon Press, 1966;4:45–58.
11. Rivlin SR, Langdon RG. Effects of thyroxin upon biosyntheses of flavin mononucleotide and flavin adenine dinucleotide. *Endocrinology* 1969;84:584–8.
12. Lee SS, McCormick DB. Thyroid hormone regulation of flavocoenzyme biosynthesis. *Arch Biochem Biophys* 1985;237:197–201.
13. Cimino JA, Jhangiani S, Schwartz E, Cooperman JM. Riboflavin metabolism in the hypothyroid human adult. *Proc Soc Exp Biol Med* 1987;184:151–3.
14. Onuora C, Maharajan G, Singh A, Etta KM. Thyroid status in various degrees of protein-calorie malnutrition in children. *Clin Endocrinol* 1983;18:87–93.
15. Ingenbleek Y, De Visscher M, Beckers C. Fonction thyroïdienne dans la malnutrition protéino-calorique chez les enfants en bas âge (Thyroid function in protein-calorie malnutrition in infants). *Ann Endocrinol (Paris)* 1978;39:147–8 (in French).
16. Parsons HC, Dias VC. Intramitochondrial fatty acid metabolism: riboflavin deficiency and energy production. *Biochem Cell Biol* 1991;69:490–7.
17. Veitch K, Draye JP, Vamecq J, et al. Altered acyl-CoA metabolism in riboflavin deficiency. *Biochim Biophys Acta* 1989;1006:335–43.
18. Wellcome Trust Working Party. Classification of infantile malnutrition. *Lancet* 1970;2:302–3.
19. Rolland-Cachera MF, Cole TJ, Sempé M, Tichet J, Rossignol C, Charraud A. Body mass index variations: centiles from birth to 87 years. *Eur J Clin Nutr* 1991;45:13–21.
20. Kanawati AA, McLaren DS. Assessment of marginal nutrition. *Nature* 1970;228:573–5.
21. Stuart HC, Stevenson SS. Growth and development. In: Behrman RE, Vaughan VC, eds. *Textbook of pediatrics*. Philadelphia: WB Saunders Publishers, 1987:6–35.
22. Food composition and nutrition tables 1986/1987. In: Souci SW, Fachmann W, Kraut H, eds. 3rd revised and complete edition. Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft MBH, 1986.
23. Capo-chichi CD, Guéant JL, Lefebvre E, et al. Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia nervosa. *Am J Clin Nutr* 1999;69:672–8.
24. Lefebvre E, Vidailhet M, Rousselot JM, Morali A. Méthodologie d'étude des acides organiques chez l'enfant. (Methodology in the study of organic acids in children.) *CR Soc Biol* 1982;176:30–3 (in French).
25. Hemmilä I, Dakubu S, Mikkala VM, Siitari H, Lovgren T. Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. *Anal Biochem* 1984;137:335–43.
26. Leichsenring M, Doehring-Schwerdfeger E, Bremer HJ, Diamoungana J, Schroeder U, Wahn V. Investigation of the nutritional state of children in a Congolese village. I. Anthropometrical data, plasma prealbumin, albumin, immunoglobuline, ferritin, C-reactive protein, circulating immune complexes. *Eur J Pediatr* 1988;148:155–8.
27. Sauerwein RW, Mulder JA, Mulder L, et al. Inflammatory mediators in children with protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1534–9.
28. Kalk WJ, Hofman KJ, Smit AM, van Drimmelen M, van der Walt LA, Moore ER. Thyroid hormone and carrier protein interrelationships in children recovering from kwashiorkor. *Am J Clin Nutr* 1986;43:406–13.
29. Aquaron R, Aquaron C, Daouda H, Madi N, Roux F, Bisset JP. Etude de deux foyers d'endémie goitreuse au Niger: Belley-Koira et Tiguey-Tallawal. (Study of two goitrous endemic areas in Niger: Belley-Koira and Tiguey-Tallawal.) *Ann Endocrinol (Paris)* 1990;51:231–40 (in French).
30. Yamada Y, Merrill AH Jr, McCormick DB. Probable reaction mechanisms of flavokinase and FAD synthetase from rat liver. *Arch Biochem Biophys* 1990;278:125–30.
31. Atinmo T, Johnson A, Mbofung C, Tindimebwa G. Plasma zinc status of protein-energy malnourished children in Nigeria. *Acta Trop* 1982;39:265–74.
32. Laditan AAO, Ette SI. Plasma zinc and copper levels during acute phase of protein-energy malnutrition (PEM) and after recovery. *Trop Geogr Med* 1982;34:77–80.
33. Consolazio CF, Johnson HL, Krzywicki HJ, Daws TA, Barnhart RA. Thiamin, riboflavin, and pyridoxine excretion during acute starvation and calorie restriction. *Am J Clin Nutr* 1971;24:1060–7.
34. Fondu P, Hariga-Muller C, Mozes N, Neve J, Van Steirteghem A, Mandelbaum IM. Protein-energy malnutrition and anemia in Kivu. *Am J Clin Nutr* 1978;31:46–56.
35. Fondu P, Mozes N, Neve P, Sohet Robazza L, Mandelbaum IM. The erythrocyte membrane disturbances in protein energy malnutrition: nature and mechanisms. *Br J Haematol* 1980;44:605–18.
36. Gregersen N, Rhead W, Christensen E. Riboflavin responsive glutaric aciduria type II. *Prog Clin Biol Res* 1990;321:477–94.

37. Mantagos S, Genel M, Tanaka K. Ethylmalonic-adipic aciduria. In vivo and in vitro studies indicating deficiency of activities of multiple acyl-CoA dehydrogenases. *J Clin Invest* 1979;64:1580-9.
38. Burlina A, Zacchello F, Dionisi-Vici C, et al. New clinical phenotype of branched-chain acyl-CoA oxidation defect. *Lancet* 1991;338:1522-3.
39. Hoppel C, DiMarco JP, Tandler B. Riboflavin and rat hepatic cell structure and function. Mitochondrial oxidative metabolism in deficiency states. *J Biol Chem* 1979;254:4164-70.
40. Green A, Marshall TG, Bennett MJ, Gray RG, Pollitt RJ. Riboflavin-responsive ethylmalonic-adipic aciduria. *J Inher Metab Dis* 1985;8:67-70.
41. Largillière C, Fontaine M, Marrakchi S, Voisin-Taboureau O. Pseudo-glutaric aciduria type II in a patient with celiac disease. *J Pediatr* 1993;122:504 (letter).
42. Feillet F, Lefebvre E, Tang M, Vidailhet M. Pseudo-acidurie glutarique de type II en cas de malnutrition. Déficit en riboflavine? (Pseudo-glutaric aciduria type II in malnutrition. A riboflavin deficit?). *Ann Med Nancy* 1994;33:421-4 (in French).
43. Terán-García M, Ibarra I, Velázquez A. Urinary organic acids in infant malnutrition. *Pediatr Res* 1998;44:386-91.
44. Capo-chichi CD, Guéant JL, Lefebvre E, Vidailhet M. Utilization of ethylmalonic acid as an indicator of acyl-CoA dehydrogenase activities in anorexia nervosa patients refeeding. *Reprod Nutr Dev* 1998;38:198 (abstr).
45. Truswell AS, Hansen JDL. Fatty liver in protein caloric malnutrition. *S Afr Med J* 1969;43:280-3.
46. Leung NW, Peters TJ. Palmitic acid oxidation and incorporation into triglyceride by needle liver biopsy specimens from control subjects and patients with alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci* 1986;71:253-60.
47. Aw TY, Jones DP, McCormick DB. Uptake of riboflavin by isolated rat liver cells. *J Nutr* 1983;113:1249-54.
48. Said HM, Ortiz A, Ma TY, McCloud E. Riboflavin uptake by the human-derived liver cells Hep G2: mechanism and regulation. *J Cell Physiol* 1998;176:588-94.

Lipoprotein metabolism in marasmic children of Northern Mauritania^{1,2}

François Feillet, Henri-Joseph Parra, Kadiatou Kamian, Jean-Marie Bard, Jean-Charles Fruchart, and Michel Vidailhet

ABSTRACT Lipid metabolism in marasmus has been poorly studied compared with that in kwashiorkor. Published studies show normal or high plasma triglycerides and low cholesterol concentrations. We studied some plasma lipid indexes, including total, HDL, and LDL cholesterol; triglycerides; apolipoproteins A-I, A-II, B, C-III, and E; and lipoprotein particles containing apo A-I, apo A-I and A-II (Lp A-I:A-II) Lp C-III:B, and Lp E:B in Mauritanian marasmic children compared with a control group. We found in patients low total, HDL, and LDL cholesterol and normal Lp A-I concentrations, which suggest that the cholesterol reverse transport system is not altered. We observed normal triglyceride concentrations and significantly increased Lp C-III:B and Lp E:B, which are triglyceride-rich particles. These data suggest that the marasmic state led to quantitative and structural modifications of the triglyceride-rich lipoproteins, defined by their apolipoprotein composition, and was probably related to undercatabolism. *Am J Clin Nutr* 1993;58:484–8.

KEY WORDS Lipoprotein particles, lipids, apolipoproteins, protein-energy malnutrition, marasmus

Introduction

Marasmus is a type of protein-energy malnutrition (PEM) induced by a global energetic deficiency. Lipid metabolism has been poorly studied in marasmus, which is not the case with kwashiorkor (1). In marasmus biological indexes are more mildly affected compared with kwashiorkor (1–3). In PEM many factors can interfere with lipid metabolism: very poor lipid intake, intestinal malabsorption, functional pancreatic deficiency, stress and infection—which induce epinephrine, growth hormone, and glucagon increases—and a low-energy diet, which induces chronic hypoglycemia and hypoinsulinemia. Liver dysfunction is less important in marasmus than in kwashiorkor, for which steatosis is frequent (4).

All these factors interact with intake, absorption, and lipid metabolism. Lipoprotein metabolism is affected by malnutrition, hepatopathy (synthesis), and hormonal responses to malnutrition (regulation) (5–7). Published studies have shown normal or high triglycerides and low cholesterol concentrations in plasma in subjects with marasmus (1–4). This apparent paradox of high triglycerides concentrations in an extreme energy deficiency has never been explained. Low cholesterol concentrations in ma-

rasmus compared with hypercholesterolemia found in anorexia nervosa is also unexplained (8–10).

Over the past few years there has been a new approach to lipid metabolism, which studies the lipoproteins characterized by their apolipoprotein composition (11–14). High-density lipoproteins (HDLs), for example, comprise two main subclasses: 1) Lp A-I:A-II, which contain apolipoprotein A-I (apo A-I) and apolipoprotein A-II (apo A-II) as the main protein components and 2) Lp A-I, which contains apo A-I but no apo A-II.

These two fractions have different roles and are affected differently by drug treatment (15). In a previous clinical study the lower HDL concentration in patients with coronary artery disease was linked with lower Lp A-I concentrations, whereas Lp A-I:A-II concentrations were unaffected (14). This observation led us to hypothesize that Lp A-I may represent the antiatherogenic lipoprotein particle, a premise that fits with *in vitro* studies showing that cholesterol efflux from adipose cells is mediated by Lp A-I but not by Lp A-I:A-II (12, 16). In addition, different apo B-containing lipoprotein particles such as Lp C-III:B and Lp E:B do not behave in the same way with regard to the low-density-lipoprotein (LDL) receptor pathway (17). Thus, studies of lipoproteins defined by their hydrated density will not necessarily show changes in different particles with the same density but different protein composition.

The aim of our study was to explore triglyceride and cholesterol metabolism in marasmus, with emphasis on lipoprotein particles defined by their apolipoprotein composition.

Subjects and methods

Patients

Thirty-nine marasmic children (24 boys, 15 girls) aged 9–44 mo (22 ± 8 y, $\bar{x} \pm$ SD) were studied on their admittance to Nouadhibou Hospital in Northern Mauritania. They were hos-

¹ From the Service de Médecine Infantile III, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre; the Service de Recherche sur les Lipoprotéines et l'Athérosclérose (SERLIA), INSERM U325, Institut Pasteur, Lille; and the Laboratoire de Biochimie Clinique et Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Lille, France.

² Address reprint requests to F Feillet, Service de Médecine Infantile III, Hôpital d'Enfants, rue du Morvan, Vandoeuvre 54511, France.

Received January 14, 1993.

Accepted for publication March 6, 1993.

TABLE 1
Anthropometric data of patients and control subjects*

| | Patients (n = 24 M, 15 F) | Control subjects (n = 13 M, 5 F) |
|-----------------|------------------------------|-------------------------------------|
| Weight (%)† | 57 ± 7 | 99 ± 10‡ |
| Height (%)† | 89 ± 4 | 98 ± 4‡ |
| Quetelet index‡ | 8.9 ± 1 | 14.3 ± 1‡ |
| Age (mo) | 20.3 ± 6.9 | 22.6 ± 8.3 |

* $\bar{x} \pm$ SD.

† Percent of the mean height or ideal body weight for sex and age compared with data from the National Center for Health Statistics (18).

‡ Significantly different from patients, $P < 0.001$ (ANOVA, F test).

§ In kg/m².

pitalized for diarrhea (77%) and for other reasons, including vomiting, failure to thrive, anorexia, and respiratory infections (23%). At their admission 17% were mildly dehydrated. Half of the patients were weaned. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University Hospital of Nancy, France.

Anthropometric measurements and blood sampling were done just before treatment was started. Anthropometric data are expressed in patients and control subjects as a percentage of normal mean values for age; data from the National Center for Health Statistics (NCHS) are used for comparison (18).

Control subjects

Eighteen control subjects (13 boys, 5 girls) aged 10–42 mo (20 ± 7 y) were studied in a surgical pediatric unit just before general anesthesia was administered for surgery of benign diseases (hernia, phimosis). The same evaluations were done as for the marasmic patients.

Methods

After an overnight fast, blood samples were drawn on sodium EDTA, and immediately centrifuged at 3500 × g for 10 min at room temperature. Plasma was frozen at –20 °C until biochemical studies were carried out in France. Anthropometric data included weight, height, and Quetelet index [wt/(ht)²]. Nutritional (albumin and transthyretin) and inflammatory proteins [orosomuroid and C-reactive protein (CRP)] were assayed by laser immunoephelometry (Automatic Nephelometer, Behring, Marburg, Germany) (19).

Total plasma cholesterol and triglycerides were measured by enzymatic methods (20, 21). Cholesterol was measured in the HDL-containing supernate after sodium phosphotungstate/MgCl₂ precipitation (22). LDL cholesterol was calculated according to the formula of Friedewald et al (23). Apo A-I, A-II, B, C-III, and E were measured by immunoenzymometric assays as previously described (24–28).

Lp A-I:A-II, Lp E:B, and Lp C-III:B were measured by two-site immunoenzymometric assays as described elsewhere (29, 30). Lp A-I was obtained by using the following formula: Lp A-I = apo A-I – Lp A-I:A-II (29).

Statistical analysis

Data are expressed as mean ± SD. Significance of differences was estimated by analysis of variance (ANOVA, F test) and the

TABLE 2
Nutritional and inflammatory status of patients and control subjects*

| | Patients (n = 39) | Control subjects (n = 18) |
|---------------------------|----------------------|------------------------------|
| Albumin (g/L) | 36.7 ± 9.0 | 46.0 ± 5† |
| Transthyretin (mg/L) | 0.09 ± 0.05 | 0.18 ± 0.01† |
| Orosomuroid (g/L) | 2.7 ± 1.0 | 0.8 ± 0.2† |
| C-reactive protein (mg/L) | 42.0 ± 54.0 | 2.2 ± 0.6† |

* $\bar{x} \pm$ SD.

† Significantly different from patients, $P < 0.01$ (ANOVA, F test).

Spearman rank correlation coefficient was used to estimate the degree of association between two variables (31). The level of significance was taken as $P < 0.05$.

Results

The anthropometric characteristics of the patient and control populations are summarized in Table 1. The nutritional and inflammatory status of the two populations is summarized in Table 2.

These results showed typical marasmic characteristics in patients with weight < 60% of the norm (32). The protein assessment showed typical nutritional protein deficiencies and considerable dispersions for inflammatory protein indexes (Table 2). We studied whether there were differences between dehydrated and normal, hydrated children with marasmus. We found in the dehydrated group a significant decrease in albumin (32 ± 10.1 vs 38.8 ± 7.3 g/L, $P < 0.05$) and in transthyretin (0.072 ± 0.03 vs 0.1 ± 0.05 g/L, $P < 0.05$). Despite differences in these two indexes there were no differences in inflammatory proteins, hematocrit, and lipid indexes.

Total plasma cholesterol; HDL and LDL cholesterol; apo A-I, A-II, and B; and Lp A-I:A-II are indicated in Table 3. All these indexes were significantly decreased in the patient group, indicating a decrease in LDL and HDL particles. On the other hand there was no difference in Lp A-I between patients and control subjects.

We studied apo A-I/apo A-II, apo A-I/Lp A-I:A-II, and HDL cholesterol/apo A-I, as proposed by Lock et al (33), to determine

TABLE 3
Lipid, apolipoprotein, and lipoprotein indexes in patients and control subjects*

| | Patients (n = 39) | Control subjects (n = 18) |
|--------------------------|----------------------|------------------------------|
| Cholesterol (mmol/L) | 2.44 ± 0.71 | 4.71 ± 0.65† |
| HDL cholesterol (mmol/L) | 0.41 ± 0.14 | 1.25 ± 0.25† |
| LDL cholesterol (mmol/L) | 1.27 ± 0.05 | 2.78 ± 0.46† |
| Apo A-I (g/L) | 0.68 ± 0.22 | 1.42 ± 0.22† |
| Apo A-II (g/L) | 0.18 ± 0.04 | 0.41 ± 0.09† |
| Apo B (g/L) | 0.67 ± 0.21 | 1.12 ± 0.28† |
| Lp A-I (g/L) | 0.35 ± 0.13 | 0.43 ± 0.23 |
| Lp A-I:A-II (g/L) | 0.34 ± 0.2 | 0.99 ± 0.21† |

* $\bar{x} \pm$ SD.

† Significantly different from patients, $P < 0.01$ (ANOVA, F test).

the repartition of different HDL particles. Results are summarized in Table 4. We found that apo A-I/apo A-II was unaffected by malnutrition. On the other hand we observed an increase of apo A-I/Lp A-I:A-II ($p < 0.01$) and a decrease of HDL cholesterol/apo A-I ($p < 0.01$).

Triglyceride, apo C-III, apo E, Lp C-III:B, and Lp E:B values are indicated in Table 5. Apart from triglycerides, for which there were no differences between the two populations, all other indexes were significantly increased in the patient group. We found positive correlations ($p < 0.001$) in patients between transthyretin and total cholesterol ($r = 0.45$), HDL cholesterol ($r = 0.35$), and LDL cholesterol ($r = 0.35$). There was no correlation between indexes included in Table 3 and albumin or inflammatory proteins. There was no correlation between lipid values shown in Table 5 and protein values except for apo E, which is strongly correlated with inflammatory proteins: CRP ($r = 0.71$) and orosomucoid ($r = 0.55$), $P < 0.001$. There was no difference in lipid indexes on the basis of sex or weaning age.

Discussion

The studied population presents a relatively pure marasmic form of PEM. In Northern Mauritania, a desert country, there are no tropical infectious diseases. The differences that we observed between dehydrated and normal, hydrated groups are not correlated with degree of dehydration.

These differences were not correlated with dehydration because if the children were dehydrated at admittance they were excluded from the study. The estimation of dehydration was made on cutaneous pinch, and when malnutrition is severe, cutaneous pinch retracts slowly like in dehydration. The dehydrated group has perhaps the most severe form of malnutrition, as shown by the low concentrations of albumin and transthyretin. The biological inflammatory status of our patients was very dispersed and there was no correlation between inflammatory protein and lipid indexes, except for apo E, which is well known as an acute-phase reactant. The apo E concentrations were increased in the marasmic group; this apolipoprotein is also increased in many pathologic conditions in which energy or lipids are needed for neurological damage repair or inflammation (34–36). In the present study there was a positive correlation between apo E and inflammatory markers, ie, orosomucoid and CRP.

On the other hand we found a positive correlation between transthyretin, which is a good marker of PEM (37), and cholesterol but not with triglycerides.

In patients with coronary heart disease, a diet low in saturated fatty acids and cholesterol brings about a decrease in total cho-

TABLE 5
Plasma triglyceride, apo C-III, apo E, Lp C-III:B, and Lp E:B concentrations in patients and control subjects*

| | Patients (n = 39) | Control subjects (n = 18) |
|------------------------|----------------------|------------------------------|
| Triglycerides (mmol/L) | 1.71 ± 0.8 | 1.6 ± 0.34 |
| Apo C-III (g/L) | 0.05 ± 0.02 | 0.02 ± 0.006† |
| Apo E (g/L) | 0.08 ± 0.04 | 0.05 ± 0.02† |
| Lp C-III:B (g/L) | 0.15 ± 0.06 | 0.09 ± 0.04† |
| Lp E:B (g/L) | 0.29 ± 0.13 | 0.12 ± 0.09† |

* $\bar{x} \pm SD$.

† Significantly different from patients, $P < 0.01$ (ANOVA, F test).

lesterol and LDL cholesterol (38, 39). The effect on HDL cholesterol varies according to the quality and duration of the diet; Thuesen et al (38) found an increase in HDL cholesterol concentrations after 1 y on the diet. In our study, total HDL, and LDL cholesterol were lower in marasmic patients than in control subjects.

Until now apo A-I and apo A-II have never been measured in PEM. Studies in vegetarians showed a low concentration of apo A-I in the group that consumed the least cholesterol, and apo A-I/apo A-II, which increased with the peripheral cholesterol uptake capacity, was lowest in the low-cholesterol-intake group (33).

In our study the absence of a decrease in Lp A-I in patients agrees with preferential uptake capacity of cholesterol in this group. Apo A-I/apo A-II did not differ between patients and control subjects, but apo A-I/Lp A-I:A-II was significantly higher in patients than in control subjects ($P < 0.01$). Lp A-I and Lp A-I:A-II particles are subspecies of HDL and may have different biological functions. In vitro evidence suggests that Lp A-I particles participate in reverse cholesterol transport from peripheral tissues to the liver (12, 16). It has also been shown that in patients with coronary artery disease, Lp A-I concentrations were decreased, whereas the Lp A-I:Lp A-II concentrations were unchanged (14). These data support the view that Lp A-I might represent the antiatherogenic fraction of HDL. In the present study the normal values of Lp A-I particles observed in patients as compared with control subjects suggest that the cholesterol reverse transport system in patients is not altered by the marasmic state. However, it would be hazardous to draw definitive conclusions from this observation because it should be kept in mind that fundamental results were obtained with mouse adipocytes, which might behave in a very different way than human cells, and that clinical findings on the significance of Lp A-I were obtained in adult subjects from industrialized areas.

Triglyceride metabolism has been poorly explored in marasmus (1–3). We found normal triglycerides in patients and a significant increase of some markers of triglyceride-rich particles, such as Lp C-III:B and apo C-III, which are correlated positively with triglycerides.

However, note that Lp E:B and Lp C-III:B are heterogeneous particles—Lp E:B contains apo E and apo B (and possibly apo C-III and other apolipoproteins) whereas Lp C-III:B contains apo C-III and apo B (and apo E and possibly other apolipoproteins). Consequently, the Lp E:B assay measures two main types of particles, Lp E:B (free of apo C-III) and Lp B:C-III:E, and that the Lp C-III:B assay measures both Lp C-III:B (free of apo E) and Lp B:C-III:E. According to our previous results (17), apo

TABLE 4

Apo A-I/apo A-II, HDL cholesterol/apo A-I, and apo A-I/Lp A-I:A-II in patients and control subjects*

| | Patients (n = 39) | Control subjects (n = 18) |
|-------------------------|----------------------|------------------------------|
| Apo A-I/apo A-II | 3.71 ± 0.93 | 3.67 ± 1.18 |
| HDL cholesterol/apo A-I | 0.61 ± 0.22 | 0.88 ± 0.19† |
| Apo A-I/Lp A-I:A-II | 2.46 ± 1.14 | 1.48 ± 0.34† |

* $\bar{x} \pm SD$.

† Significantly different from patients, $P < 0.01$ (ANOVA, F test).

E increases the affinity of the particles to the LDL receptor; in contrast, apo C-III decreases the affinity and Lp C-III:B (free of apo E) is unable to bind to the receptor.

Furthermore, we recently showed (unpublished data) that the number of Lp E:B particles (free of apo C-III) was negligible in plasma relative to the number of Lp C-III:B (free of apo E) and Lp B:C-III:E particles. We also showed that Lp B:C-III:E particles are rich in triacylglycerol as are Lp C-III:B particles, but to a lesser extent. (40)

Thus, normal triglyceride concentrations associated with high concentrations of Lp C-III:B and Lp E:B compared with the low concentrations of apo B and LDL cholesterol suggest alterations in catabolism of triglyceride-rich lipoprotein particles in marasmic children. On the other hand, these particles are normally metabolized by the lipoprotein lipase (LPL) pathway. As we recently showed (41), treatment by fenofibrate (Lipanthyl; Lab Fournier, Dijon, France), which acts on LPL activity and enhances peripheral catabolism of triglyceride-rich lipoproteins, was significantly more effective in reducing these particles than was simvastatin (Zocor; Lab Merck, Sharp, and Dohme-Chibret, Paris), which acts mainly by inhibiting the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. These results coupled with the fact that apo C-III is an inhibitor of LPL (42) and decreases the hepatic uptake of triglyceride-rich particles (43, 44) led us to hypothesize that a deficiency in the lipolytic system could partly explain the perturbations observed in marasmus.

In marasmus there are many factors that can inhibit this LPL activity; one is hypoinsulinemia, insulin being the most important activator of LPL. This hypoinsulinism inhibits LPL and stimulates the hormone-sensitive lipase (45). Some authors have shown LPL deficiency in PEM even after intravenous heparin administration (46, 47). Our data agree with these findings. These factors might suggest that the marasmic children are unable to use triglyceride-rich particles to generate LDL particles and might explain the paradox of normal triglyceride concentrations associated with high triglyceride-rich particles and very low LDL-cholesterol concentrations in this malnutrition state. We observed an important increase of Lp E:B particles, which could be the result of an increase in production of these particles (which is difficult to explain in the context of marasmus) or of a decrease in catabolism due to deficiencies in the production or expression of LDL receptors.

As a consequence, in the beginning of treatment of marasmic patients, it might be more important to feed carbohydrates and proteins to raise LPL activity rather than feed lipids, which cannot be utilized correctly immediately and could induce hypertriglyceridemia (45) because of a blockage of catabolism of triglyceride-rich particles.

In conclusion, the study of new indexes of lipid metabolism, apolipoproteins, and lipoprotein particles, enables lipid metabolism in marasmus to be better understood. All these findings show once again the great interest in the notion that lipoprotein particles are defined by their apolipoprotein composition. However, none of the hypotheses presented here were directly examined in the present study. Nevertheless, such considerations could provide a conceptual framework to explain in further studies the alteration of triglyceride-rich lipoprotein particle metabolism in marasmus. ■

We thank Paul Kelly (Lille, France) for helpful assistance with the preparation of the manuscript.

References

1. Truswell AS. Carbohydrate and lipid metabolism in protein-calorie malnutrition. In: Olson RE, ed. Protein-calorie malnutrition. New York: Academic Press, 1975:119-41.
2. Flores H, Nelly P, Maccioni A, Monckeberg F. Lipid transport in kwashiorkor. *Br J Nutr* 1970;24:1005-11.
3. Lewis B, Hansen JDL, Wittman W, Krut LH, Stewart B. Plasma free fatty acids in kwashiorkor and the pathogenesis of the fatty liver. *Am J Clin Nutr* 1964;15:161-8.
4. Truswell AS, Hansen JDL. Fatty liver in protein caloric malnutrition. *S Afr Med J* 1969;43:280-3.
5. Viteri FE. Primary protein-energy malnutrition: clinical, biochemical, and metabolic changes. In: Suskind RM, ed. Textbook of Pediatric Nutrition. New York: Raven Press, 1981:189-215.
6. Hoeldtke RD, Wurtmann RJ. Excretion of catecholamines and catecholamine metabolites in kwashiorkor. *Am J Clin Nutr* 1973;26:205-10.
7. Krieger I, Mellinger RC. Pituitary function in the deprivation syndrome. *J Pediatr* 1971;79:216-25.
8. Klinefelter HF. Hypercholesterolemia in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol* 1965;25:1520-1(letter).
9. Nestel PL. Cholesterol metabolism in anorexia nervosa and hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metabol* 1974;38:325-8.
10. Arden MR, Weibelberg GC, Nussbaum MP, Shonker IR, Jacobson MS. Effect of weight restriction with dyslipoproteinemia of anorexia nervosa. *J Adolesc Health Care* 1990;11:199-202.
11. Cheung MC, Albers JJ. Characterization of lipoprotein particles isolated by immunoaffinity chromatography: particles containing A I and A II and particles containing A I but not A II. *J Biol Chem* 1984;259:12201-9.
12. Fielding CJ, Fielding PE. Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin:cholesterol acyltransferase *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:3911-4.
13. Atmeh RF, Shepherd J, Packard CJ. Subpopulations of apolipoprotein A I in human high density lipoproteins: their metabolic properties and response to drug therapy. *Biochim Biophys Acta* 1983;751:175-88.
14. Puchois P, Kandoussi A, Fievet P, et al. Apolipoprotein A I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1987;68:35-40.
15. Bard JM, Parra HJ, Douste Blazy P, Fruchart JC. Effect of pravastatin, an HMG CoA reductase inhibitor, and cholestyramine, a bile acid sequestrant, on lipoprotein particles defined by their apolipoprotein composition. *Metabolism* 1990;39:269-73.
16. Barbaras R, Puchois P, Fruchart JC, Ailhaud G. Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by Lp A I particles but not Lp A I- A II particles. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;142:63-9.
17. Agnani G, Bard JM, Candelier L, Delattre S, Fruchart JC, Clavey V. Interaction of LpB, LpE:B, LpB:CIII, and LpB:CIII:E lipoproteins with the low density lipoprotein receptor of HeLa cells. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1021-9.
18. Hamill PVV. National Center for Health Statistics; growth charts. *Monthly Vital Stat Rep* 1976;3(suppl):76-1120.
19. Conrad A, Schurmann J, Kreutz FH, Sieber A. Elaboration of a method for the quantitative determination of protein by laser nephelometry in the clinical routine laboratory. *J Clin Chem Clin Biochem* 1978;16:299-305.
20. Fruchart JC, Marcovina S, Puchois P. Laboratory measurement of plasma lipids and lipoproteins. In: Fruchart JC, Sheperd J, eds. Human plasma lipoproteins. New York: Walter de Gruyter, 1989:79-112.
21. Ziegenhorn J, Bartl K, Deeg R. Improved kinetic method for automated determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 1980;26:973-9.

22. Assmann G, Schriewer H, Schmitz G, Hagele EO. Quantification of high density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. *Clin Chem* 1983;29:2026-30.
23. Friedewald WT, Levy RT, Frederickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifugation. *Clin Chem* 1972;18:499-505.
24. Betard C, Vu-Dac N, Mezdour H, Nestruck AC, Leroy A, Fruchart JC. Standardization of an enzymometric assay for apolipoprotein AI by using mixtures of monoclonal antibodies. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:893-9.
25. Puchois P, Kandoussi A, Duriez P, Fruchart JC, Mc Conathy WJ, Koren E. Quantitative determination of human apolipoprotein AII by a non-competitive enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunoassay* 1986;7:285-307.
26. Fruchart JC, Fievet C, Ouvry D, et al. Enzyme linked immunoassay on microtiter plates for human apolipoprotein B. *Ric Clin Lab* 1984;3:569-74.
27. Parsy D, Clavey V, Fievet, Ckora I, Duriez P, Fruchart JC. Quantification of apolipoprotein C III in serum by a non-competitive immunoenzymometric assay. *Clin Chem* 1985;31:1632-6.
28. Koffigan M, Kora I, Clavey V, Bard JM, Chapman J, Fruchart JC. Quantification of human apolipoprotein E in plasma and lipoprotein subfractions by a non-competitive enzyme immunoassay. *Clin Chim Acta* 1987;163:245-56.
29. Koren E, Puchois P, Alaupovic P, Fesmire J, Kandoussi A, Fruchart JC. Quantification of two different types of apolipoprotein AI containing lipoprotein particles in plasma by enzyme linked differential antibody immunosorbent assay. *Clin Chem* 1987;33:38-43.
30. Kandoussi A, Cachera C, Parsy D, Bard JM, Fruchart JC, Tacquet A. Quantitative determination of different apolipoprotein B containing lipoproteins by an enzyme linked immunosorbent assay: apo B with apo CIII and apo B with apo E. *J Immunoassay* 1991;12:305-23.
31. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. 7th ed. Ames, IA: The Iowa State University Press, 1980:175-93, 215-37.
32. Mac Laren DS, Pellet PL, Read WWC. A simple scoring system for classifying the severe forms of protein-calorie malnutrition of early childhood. *Lancet* 1967;1:533-5.
33. Lock DR, Varhol A, Grimes S, Patsch W, Sehoufeld G. Apo AI/Apo AII ratios in plasmas of vegetarians. *Metabolism* 1983;32:1142-5.
34. Basu K, Brown MS, Hu YK, Havel R, Goldstein JL. Mouse macrophage synthesize and secrete a protein resembling apoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:7545-9.
35. Muller HW, Gebicke HPJ, Hangen DH, Shooler EM. A specific 37 000 dalton protein that accumulates in regenerating but not in not regenerating mammalian nerves. *Science* 1985;228:499-501.
36. Kabbaj O, Saile R, Ghalim N, et al. Quantitative analysis of some apolipoproteins and lipoprotein particles by head-injured patients. (Analyse quantitative des apolipoprotéines et des particules lipoprotéiniques chez les traumatisés crâniens.) *Ann Biol Clin* 1989;47:35-40 (in French).
37. Ingenbleek Y, Devisscher M, De Mayer PH. Measurement of prealbumin as index of protein-calorie malnutrition. *Lancet* 1972;2:106-9.
38. Thuesen L, Henricksen LB, Engby B. One year experience with a low fat, low cholesterol diet in patients with coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 1986;44:212-9.
39. Rosenthal MB, Barnard RJ, Rose DP, Inkeles S, Hall J, Pritikin N. Effect of a high-complex-carbohydrate, low fat, low cholesterol diet on levels of serum lipids and estradiol. *Am J Med* 1985;78:23-7.
40. Bard JM, Agnani G, Lestavel-Delattre S, Candelier L, Copin C, Fruchart JC. Isolation and characterization of different apo B-containing particles, according to the presence or the absence of apo CIII or apo E. In: Paoletti R, Gotto AM, eds. *Drugs affecting lipid metabolism*. Kluwer Academic Publishers (in press).
41. Bard JM, Parra HJ, Camare R, et al. A multicenter comparison of the effects of simvastatin and fenofibrate therapy in severe primary hypercholesterolemia, with particular emphasis on lipoproteins defined by their apolipoprotein composition. *Metabolism* 1992;41:498-503.
42. Brown WV, Baginsky ML. Inhibition of lipoprotein lipase by an apoprotein of human very low density lipoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;46:375-82.
43. Shelburne F, Hanks J, Meyers W, Quardford S. Effect of apoprotein on hepatic uptake of triglyceride emulsions in the rat. *J Clin Invest* 1980;65:652-8.
44. Windler E, Chao Y, Havel RJ. Determinants of hepatic uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants in the rat. *J Biol Chem* 1980;255:5475-80.
45. Bourdeaux-Jambert AM, Alcindor LG, Gindicelli Y. New aspects of hormonal regulation of adipocyte lipoprotein lipase. (Aspects récents de la régulation hormonale de la lipoprotéine lipase adipocytaire.) *Nutr Clin Metabol* 1987;3:133-41(in French).
46. Ricour C, Hatemi N, Etienne J, Polonovski J. Plasma post heparin lipolytic activity (PHLA) before and during total parenteral nutrition (TPN) in children. *Acta Chir Scand* 1976; suppl 466:114-5.
47. Gurson TC, Saner G. Lipoprotein lipase activity in marasmic type of protein caloric malnutrition. *Arch Dis Child* 1969;44:765-8.



Plasma cholesterol and endogenous cholesterol synthesis during refeeding in anorexia nervosa

François Feillet^{a,*}, Christine Feillet-Coudray^{b,1}, Jean-Marie Bard^{c,2},
Henri-Joseph Parra^{c,3}, Elisabeth Favre^d, Bernard Kabuth^e,
Jean-Charles Fruchart^c, Michel Vidailhet^a

^aService de Médecine Infantile III, EP CNRS 616, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre les Nancy, France

^bInserm U 58, Montpellier, France

^cSERLIA, Lille, France

^dService de Diététique, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre les Nancy, France

^eService de Pédiopsychiatrie, Hôpital d'Enfants, Vandoeuvre les Nancy, France

Received 23 July 1999; received in revised form 1 November 1999; accepted 3 November 1999

Abstract

Normal or high levels of cholesterol have been measured in patients with anorexia nervosa (AN). Given that cholesterol intake in AN is usually very low, the reasons for this anomaly are not clearly understood. We studied lipid and lipoprotein profiles and endogenous cholesterol synthesis, estimated by serum lathosterol, in a population of 14 girls with AN, before and during a period of 30 days refeeding. The initial body mass index (BMI) of the patients was 13.41 ± 1.62 kg/m². No changes were observed during refeeding in endocrine parameters (ACTH, cortisol and estradiol). At Day 0 the lipids data measured here showed normal levels of triglycerides, and total cholesterol at the upper limits of the normal range (5.44 ± 1 mmol/l). At this time, total and LDL cholesterol were negatively correlated with transthyretin and BMI. Serum lathosterol (a precursor in cholesterol synthesis pathway) increased significantly (5.99 ± 1.75 (Day 0) vs. 8.39 ± 2.96 (Day 30); $P = 0.02$) while there was a significant decrease in apo B (0.79 ± 0.33 (Day 0) vs. 0.60 ± 0.17 g/l (Day 30), $P = 0.02$) with refeeding. Thus, patients with initial high cholesterol levels have the worst nutritional status and high cholesterol levels are not related to a de novo synthesis. This

*Corresponding author. Tel.: +33-383-154-601; fax: +33-383-154-529.

E-mail address: f.feillet@chu-nancy.fr (F. Feillet)

¹Present address: INRA, Unité maladies métaboliques et micronutriments, 63122 Saint-Genès-Campanelle, France.

²Present address: Faculté de pharmacie et Centre de Recherche en Nutrition Humaine, CHU Nantes, France.

³Present address: Laboratoire National de Santé Publique, cité Louis Pasteur, BP 120, Brazzaville, Congo.

profile returns to normal with refeeding. An increase of cellular cholesterol uptake may be responsible for this apparently paradoxical evolution with increase of cholesterol synthesis and decrease of apo B during renutrition. © 2000 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Anorexia nervosa; Malnutrition; Refeeding; Lipids; Cholesterol synthesis; Lathosterol

1. Introduction

Cholesterol levels have been found to be normal or, more frequently, increased in patients with anorexia nervosa (AN) [1–4]. In this way, Jaguenaud et al. [5] recently reported a mean cholesterol level of 4.91 mmol/l in a large group of anorexic patients. While a considerable interindividual variation was demonstrated, 16% of the group had a cholesterol level in excess of 6.47 mmol/l. This high cholesterol is primarily composed of LDL cholesterol (LDL chol) and usually decreases with refeeding [5].

Theoretically, hypercholesterolemia may be the consequence of multiple causes: an excessive alimentary intake (obviously not the case in AN), an increase in endogenous cholesterol synthesis, or an abnormality in cholesterol metabolism. Many factors can interfere with lipid metabolism in patients with AN. These include a very low lipid intake, low energy diet (which induces chronic hypoglycaemia and hypoinsulinemia), stress (which induces the secretion of epinephrine, growth hormone, and glucagon), hypothyroidism [6,7], and abnormalities of the adrenal axis (with high levels of corticotropin-releasing hormone, normal adrenocorticotropin hormone levels and normal or high levels of cortisol [8–10]). The adrenal axis as such is involved in cholesterol regulation and could induce an increase in cholesterol synthesis. Cholesterol metabolism can be investigated using plasmatic lipoproteins characterized by their apolipoprotein composition [11–13]. In a previous clinical study the lower HDL concentration in patients with coronary artery disease was linked with lower Lp A-I concentrations, whereas Lp A-I:A-II concentrations were unaffected [14]. This observation led us to hypothesise that Lp A-I may represent the antiatherogenic lipoprotein particle, a premise that fits with *in vitro* studies showing that cholesterol efflux from adipocytes is mediated by Lp A-I but not by Lp A-I:A-II [15,16]. Thus, studies of lipoproteins defined by their hydrated density will not necessarily show variations while changes can be revealed in particles with the same density but different protein composition. Most techniques for the evaluation of cholesterol synthesis in humans require the use of labelled compounds. We have used an alternative method based on the determination of serum lathosterol, a metabolic precursor in the cholesterol synthesis pathway, and on the calculation of the serum lathosterol to cholesterol ratio. Several studies have established that both parameters are reliable indexes of cholesterol

synthesis in humans [17,18]. To investigate the cholesterol metabolism in AN, we focus our study on lipid metabolism defined by the lipoprotein and apolipoprotein profile coupled to a marker of cholesterol synthesis, the lathosterol. This study was carried out at the time of admission to hospital and during a 30 days refeeding period in 14 patients with severe malnutrition related to AN.

2. Materials and methods

2.1. Patients

Fourteen girls aged 14.8 ± 2.1 years (mean \pm S.D.; range: 10–17) were studied before and during their hospitalisation for AN in The Nancy University Children's hospital. The mean duration of the AN condition prior to hospitalisation was 9.4 ± 5.7 months (mean \pm S.D.; range: 3 to 24 months), with an average weight loss of 11.9 ± 5.1 kg (mean \pm S.D.; range: 5.8 to 21.4 kg). The diagnosis of AN was made according to DSM IV criteria [19]. Four patients presented bulimic crises associated with AN before the study. The refeeding protocol consisted of an initial period of spontaneous oral feeding which, if weight gain remained poor or negative, was followed by supplementary continuous nasogastric nocturnal tube feeding (NNTF) associated with diurnal spontaneous feeding; 10 patients received nocturnal feeding during the study period, 2 patients ate spontaneously and did not need nocturnal feeding. Each patient was permitted to return to spontaneous feeding alone once a previously defined weight had been reached. The nocturnal feeding was composed of SONDALIS[®] (Nestle, Sèvres, France): 1200 ± 400 Kcal per night. This diet contains 41.4 ± 15 g of vegetal lipids per day. In spontaneous feeding, patients excluded mostly the lipids of animal origin (meat, butter). The daily cholesterol intake was less than 300 mg. Anthropometric measurements and blood sampling were carried out after an overnight fast on day 0 (D0), day 10 (D10) and day 30 (D30). Blood samples were taken at the same time as the usual blood controls carried out during the refeeding period. The total amount of blood sampled during the study did not exceed 30 ml per patient.

2.2. Methods

- Anthropometric measurements, including weight, height and body mass index (BMI; $\text{weight}/\text{height}^2$), were carried out at D0 and D30. The theoretical weight for height was obtained from French standard data [20] and patients weights were also expressed as percentage of this theoretical weight for height.
- After overnight fasting, blood samples were taken, centrifuged and stored at -20°C prior to analysis.

- Proteins reflecting nutritional status (albumin and transthyretin) were assayed by laser immunonephelometry (Automatic nephelometer, Behring Marburg, Germany) [21].
- ACTH, cortisol and 17- β -estradiol were analyzed by radio-immunoassay technics, these being ELSA-ACTH (cis bio, international), Ref. 1114 (Immunotech. International, France), and ESTR CTRIA CIS (Bio International), respectively.
- Total plasma cholesterol and triglycerides were measured by enzymatic methods [22,23]. Cholesterol was measured in the HDL-containing supernate after sodium phosphotungstate/MgCl₂ precipitation [24]. LDL chol was calculated according to Friedewald et al. [25].

Apolipoproteins (apo) A-I, A-II, B, C-III and E, were measured by immuno-enzymometric assays as previously described [26–30].

Lp A-I:A-II was measured by two-site immunoenzymometric assay as described elsewhere [30]. Lp-A I was obtained according to the following formula: Lp A-I = Apo A-I-Lp A-I:A-II [31]. Lp(a):B was measured by immunoenzymatic assay as previously described [32].

Lathosterol was quantified by gas-liquid chromatography on a capillary column after separation of the sterol mixture from non-saponifiable material as previously described [33].

The ratio of lathosterol to total cholesterol was calculated. This is a better indicator in humans of both whole-body cholesterol synthesis and hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A (HMG CoA) reductase activity, rather than lathosterol alone [17,18].

2.3. Statistical analysis

Data are expressed as mean \pm S.D. The significance of the difference was estimated by unpaired *t*-test for comparison between patients and controls and by repeated measures analysis of variance (ANOVA) for the comparison of D0, D10 and D30 data. The signed-rank Wilcoxon test was used for the analysis of the difference between D0 and D30. The Spearman rank correlation coefficient was used to estimate the degree of association between two variables. All statistics were calculated using BMDP software [34]. A value of $P < 0.05$ was considered statistically significant.

3. Results

Anthropometric data measured at D0 and D30 show significant levels of malnutrition (Table 1). The patients' average weight loss was $27.8 \pm 7.2\%$ of the

Table 1
Anthropometric data of patients at day 0 and day 30 of refeeding (D0, D30) and controls^a

| | D0 <i>n</i> = 14 | D30 <i>n</i> = 14 |
|--------------------------|---------------------|-------------------------|
| Age (years) | 14.8±2.12 | 14.90±2.12 |
| Weight (kg) | 33.2±7.3 | 38.7±5.3 [†] |
| Height (cm) | 156.3±11.3 | 156.4±11.4 |
| <i>T</i> Weight/Height* | 45.12±8.21 | 45.12±8.21 |
| Weight (%)** | 75.4±10.4 | 86.41±9.0 [†] |
| BMI (kg/m ²) | 13.41±1.62 | 15.79±1.83 [†] |

^a Data are expressed as mean±S.D. * = *T* Weight/Height expressed in kg represent the theoretical weight for height [20]. ** = The weight is also expressed as percentage of theoretical weight ((measured weight/theoretical weight for age)*100). [†] = Significantly different from D0, *P* < 0.001 (signed-rank Wilcoxon test).

basal weight prior to AN. With refeeding, there was an average weight gain of 5±2.7 kg. The average body mass index (BMI) was severely decreased at D0 (13.41±1.62 kg/m²) and increased significantly with refeeding (15.79±1.83 kg/m²), *P* < 0.001.

Nutritional and endocrinologic data are summarized in Table 2. At D0, there was a low transthyretin but normal albumin values. Transthyretin increased significantly with refeeding (0.23±0.05 (D0) vs. 0.26±0.07 (D10) vs. 0.31±0.06 mg/l (D30); *P* < 0.001).

At D0, ACTH was normal, cortisol was at the upper limit of the normal range and 17-β-estradiol had been broken down. No change was observed for any of these parameters after the 30-days refeeding period.

The results of the lipid parameters of patients are summarized in Tables 3 and 4. At D0, total cholesterol and LDL cholesterol levels were at the upper normal range of the norm for age [35,36]. During refeeding total cholesterol did not change, LDL chol tended to decrease, while apo B underwent a significant

Table 2
Nutritional and endocrinologic parameters at D0, D10 and D30^a

| | D0 <i>n</i> = 14 | D10 <i>n</i> = 14 | D30 <i>n</i> = 14 |
|----------------------|---------------------|----------------------|------------------------|
| Albumin (g/l) | 47.9±9.13 | 44.6±4.3 | 48.0±5.9 |
| Transthyretin (mg/l) | 0.23±0.05 | 0.26±0.07 | 0.31±0.06 [†] |
| ACTH (ng/l) | 34.73±22.8 | 39.07±22.7 | 35.4±16.5 |
| Cortisol (μg/l) | 42.15±79.7 | 228.7±70 | 232.9±64.2 |
| Estradiol (μg/l) | 4.0±3.2 | 10.8±9.2 | 8.8±11.4 |

^a Data are expressed as mean±standard deviation. [†] = Significant difference between D0, D10 and D30, *P* < 0.001 (repeated measures ANOVA).

Table 3
Cholesterol metabolism parameters at D0, D10 and D30^a

| | D0 <i>n</i> = 14 | D10 <i>n</i> = 14 | D30 <i>n</i> = 14 |
|----------------------|---------------------|----------------------|------------------------|
| Cholesterol (mmol/l) | 5.44±1. | 4.88±1.75 | 4.82±0.80 |
| HDL chol (mmol/l) | 1.37±0.54 | 1.06±0.52 | 1.26±0.59 |
| LDL chol (mmol/l) | 3.61±2.09 | 3.28±1.88 | 3.17±0.9 |
| Apo A-I (g/l) | 1.05±0.28 | 0.99±0.18 | 1.06±0.18 |
| Apo A-II (g/l) | 0.29±0.10 | 0.29±0.06 | 0.34±0.08 [†] |
| Apo B (g/l) | 0.79±0.33 | 0.66±0.25 | 0.60±0.17 [†] |
| Lp A-I (g/l) | 0.60±0.22 | 0.53±0.16 | 0.58±0.20 |
| Lp A-I:A-II (g/l) | 0.44±0.21 | 0.46±0.10 | 0.49±0.11 |
| Lp(a):B (g/l) | 0.14±0.13 | 0.18±0.22 | 0.19±0.19 [†] |
| Lathosterol (mmol/l) | 5.99±1.75 | 6.82±3.16 | 8.39±2.96 [†] |
| Lath/chol | 1.24±0.59 | 1.54±0.75 | 1.75±0.57 [†] |

^a Data are expressed as mean±standard deviation. Lath/chol=lathosterol/total cholesterol ratio. [†] = Significantly different from D0, *P* < 0.05 (Wilcoxon test).

decrease (*P* < 0.02) and the Lp(a):B level increased significantly (0.14±0.13 (D0) vs. 0.19±0.19 g/l (D30), *P* < 0.002). At D0, total cholesterol was strongly correlated with LDL cholesterol (*r* = 0.97, *P* < 0.0001), apo B (*r* = 0.78, *P* < 0.001) and apo C-III (*r* = 0.64, *P* < 0.01).

In our patients group, we observed no significant variation in HDL cholesterol or apo A-I levels but there was a significant rise in apo A-II (0.29±0.10 vs. 0.34±0.08 g/l, *P* < 0.04) with refeeding.

Lathosterol and the lathosterol to total cholesterol ratio increased significantly with refeeding (5.99±1.75 vs. 8.39±2.96 mmol/l (*P* < 0.02) and 1.24±0.59 vs. 1.75±0.57 (*P* < 0.02), respectively). The Lp(a):B level at D0 was negatively correlated with lathosterol (*r* = 0.56, *P* < 0.04) but there was no relation between these 2 parameters at D10 and D30.

Initially triglycerides levels were within the normal range for age. Refeeding did not bring about any change in the concentration of triglycerides, apo C-III nor in apo E.

At D0, there was a negative correlation between BMI and total cholesterol if

Table 4
Plasma triglycerides, apo C-III, apo E^a

| | D0 <i>n</i> = 14 | D10 <i>n</i> = 14 | D30 <i>n</i> = 14 |
|------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| Triglycerides (mmol/l) | 1.01±0.32 | 1.18±0.66 | 0.88±0.31 |
| Apo C-III (mg/l) | 29±9 | 28±10 | 29±10 |
| Apo E (mg/l) | 79±29 | 69±25 | 81±30 |

^a Data are expressed as mean±standard deviation.

we exclude the patients with an extremely low BMI (9.42 kg/m^2) ($r = 0.65$, $P < 0.02$ [$n = 13$]) and triglycerides ($r = 0.57$, $P < 0.03$ [$n = 14$]), while at D30 (with all patients) the BMI was negatively correlated with total cholesterol ($r = 0.62$, $P < 0.02$) and with triglycerides ($r = 0.69$, $P < 0.02$).

At D0, there was a strong negative correlation between transthyretin and total cholesterol ($r = 0.62$, $P < 0.02$), LDL chol ($r = 0.62$, $P < 0.02$) and triglycerides ($r = 0.69$, $P < 0.007$). At D30, there was a negative correlation between transthyretin and triglycerides ($r = 0.56$, $P < 0.05$).

There was no variation in any of the endocrinologic parameters during this period, in that 17- β -estradiol levels did not increase significantly and there was no clinical sign of estrogen impregnation. Moreover, there was no correlation between these parameters and any of the lipid data.

4. Discussion

The observed high or normal cholesterol values in 14 adolescent girls with AN in the present study are consistent with previous reports in the literature [1–4,37,38]. The cholesterol levels measured here were negatively correlated with BMI ($n = 13$) and transthyretin (a biological malnutrition marker) at D0, and with BMI at D30. The results thus suggest that, at D0, cholesterol increases according to the extent to which the nutritional state is affected. When total cholesterol is increased, it is mainly due to an increase in LDL cholesterol as shown by positive correlation between these two parameters at D0. Even if the decrease in LDL cholesterol is not significant in our study, the significant decrease in apo B with refeeding shows that the evolution of cholesterol during renutrition tends to a decrease in LDL lipoproteins.

Vuoristo [39] showed, in vegans, that refeeding with cholesterol induces a rise in cholesterol level which return to initial level when cholesterol feeding is stopped. In our study, we have no increase of cholesterolemia during refeeding, furthermore, refeeding induced a decrease in apo B, but cholesterol intake was lower in our group than in Vuoristo study [39]. Even if dietary cholesterol is poorly influencing cholesterolemia, nevertheless increase in cholesterol intake tends to increase cholesterol levels [39,40] and down regulates the low-density lipoprotein receptor. This has been shown in healthy adults for cholesterol intake of 1 gr per day [40]. In our study, the cholesterol intake was less than 300 mgr per day and this down regulation effect has not been demonstrated for such dietary intake.

Because of the very poor dietary cholesterol intake in AN, prior to hospitalisation, we first hypothesised that the high cholesterol levels described in previous studies [1–4] could be related to an increase in cholesterol synthesis. This increase would be related to the endocrinologic status of these patients, in

accordance with previous studies where patients with AN presented with high levels of corticotropin-releasing hormone [8–10]. In this way, it has been previously shown that adrenocorticotropin can stimulate adrenal HMG CoA reductase activity [41].

In our study, plasma cortisol concentrations were at the upper limit of the normal range. There was no relation between this finding and cholesterol levels or any other lipid parameters. Furthermore, there were no changes in cortisol or ACTH levels with refeeding and no relation between these parameters and the evolution of lipid data. Cholesterol levels were not related to an increased rate of synthesis because the lathosterol level and the lathosterol/cholesterol ratio were normal at D0 compared to the literature data [33] and they increased significantly with refeeding whereas cholesterol and apo B levels decreased.

In newly insulin-treated diabetic patients, lathosterol is lower compared to controls before treatment and increases after insulin [33]. In both cases of newly insulin treated diabetic patients and anorexia nervosa patients after renutrition, a common feature is the rise in insulinemia (exogenous for diabetic patients and endogenous for AN patients). The low lathosterol level at D0 and its rise at D30 might be the result of insulin secretion induced by refeeding.

Because the hypercholesterolemia observed in AN did not occur in parallel with either an increase in the nutritional intake of cholesterol nor an excessive endogenous synthesis, it must be concluded that the rise was related to a disturbance in cholesterol metabolism. In this way, Nestel [42] showed a decrease in the cholesterol and bile acid turnover in AN patients along with a decrease in biliary cholesterol excretion which may have been the result of reduced caloric intake. Jaguenaud [5] showed that VLDL cholesterol increased in patients with AN and that the catabolism of these triglyceride-rich particles was diminished. This catabolism is under the influence of lipoprotein lipase activity which is frequently diminished in cases of severe malnutrition [43,44] and in AN [37]. In our study, the triglyceride level was increased compared to the controls but within normal range [36], in contrast to what we found in marasmus [45] (1.01 ± 0.32 (AN) vs. 1.71 ± 0.8 mmol/l (marasmus)). If the triglyceride-rich particles were responsible for the relative hypercholesterolemia found in severe denutrition, total cholesterol should also be increased in marasmus in which we found increased triglycerides but a low total cholesterol [45].

Just as importantly, Jaguenaud found in AN, a negative correlation between total cholesterol and triiodothyronine (T_3) [5]. Asami [46] found an identical lipid profile in infants with congenital hypothyroidism: that is, high total cholesterol and high LDL cholesterol prior to treatment and a decrease in both of these parameters under $L-T_4$ treatment. Depressed levels of T_3 with a normal concentration of thyroxine (T_4) have been described in AN [6,47]. This situation can be rectified after refeeding. In 1981, Thompson [48] showed a defect in

receptor-mediated LDL catabolism in hypothyroidism in vivo, with high LDL cholesterol and a possible decrease in the capacity of cells to take up LDL cholesterol. A similar profile was observed in the present study.

As such, refeeding could influence cholesterol metabolism in two opposite ways: via the direct activation of cholesterol synthesis or via activation of the LDL receptor-specific pathway which should, in turn, decrease LDL cholesterol. Our results are consistent with the hypothesis of increased cellular cholesterol uptake with refeeding. Kinetic studies would be helpful in clarifying this point.

In our refeeding protocol, the cholesterol intake was less than 300 mg/day and the lipids of NNTF are of vegetable origin. A deficiency in essential fatty acids in the AN condition has been demonstrated by Holman [49]. Alimentary *n-6* fatty acids decreases the plasma cholesterol level [50], while the nutritional deficiency of these fatty acids could be involved in the high cholesterolemia described in AN. Holman et al. also showed in their study [49] that there was a decrease in erythrocyte membrane fluidity which could hinder the uptake of LDL particles in peripheral cells. The fluidity of the erythrocyte membrane in AN has been shown to return to normal after of refeeding [51]. Then the increase in unsaturated fatty acids intake probably take a part in the decrease in Apo B we observed.

In the present study, Lp(a):B levels prior to refeeding were not different from those described in healthy controls [52], but there was a significant rise in the plasma concentration of this particle with refeeding. Lp(a):B levels are genetically determined and independent of LDL cholesterol. In our study these two parameters evolved in opposite ways. In diabetic patients, insulin may modulate the concentration of Lp(a):B [52], this could explain the rise we observed in Lp(a):B with refeeding by virtue of an increase in insulinemia.

In conclusion, the relatively high cholesterol levels we observed in AN patients in the present study was associated with a poor nutritional status and a normal rate of cholesterol synthesis. With refeeding, there was an increase in cholesterol synthesis and a decrease in the level of apo B-containing particles. This profile has been observed in hypothyroidism [46]. A mechanism of cellular adaptation to very low caloric intake with low T_3 status could be responsible for these abnormalities and should be investigated by balance cholesterol studies. The evolution of Lp(a):B levels was different and could be linked to higher insulin levels associated with refeeding.

References

- [1] Klinefelter H. Hypercholesterolemia in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1965;25:1520–1.
- [2] Crisp AH, Blendis LM, Pawan GL. Aspects of fat metabolism in anorexia nervosa. *Metabolism* 1968;17:1109–18.

- [3] Bhanji S, Mattingly D. Anorexia nervosa: some observations on dieters and vomiters, cholesterol and carotene. *Br J Psychiatry* 1981;139:238–41.
- [4] Arden MR, Weiselberg EC, Nussbaum MP, Shenker IR, Jacobson MS. Effect of weight restoration on the dyslipoproteinemia of anorexia nervosa. *J Adolesc Health Care* 1990;11:199–202.
- [5] Jaguenaud P, Malon D, Cosnes J, Reveillard V, Apfelbaum M, Rigaud D. Lipoproteines plasmatiques et anorexie mentale. Effet de la réalimentation. *Cah Nutr Diet* 1996;31:45–50.
- [6] Miyai K, Yamamoto T, Azukizawa M, Ishibashi K, Kumahara Y. Serum thyroid hormones and thyrotropin in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40:334–8.
- [7] Moore R, Mills IH. Serum T3 and T4 levels in patients with anorexia nervosa showing transient hyperthyroidism during weight gain. *Clin Endocrinol* 1979;10:443–9.
- [8] Kaye WH, Gwirtsman HE, George DT, Ebert MH, Jimerson DC, Tomai TP, Chrousos GP, Gold PW. Elevated cerebrospinal fluid levels of immunoreactive corticotropin-releasing hormone in anorexia nervosa: relation to state of nutrition, adrenal function, and intensity of depression. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:203–8.
- [9] Kolata G. Depression, anorexia, Cushing's link revealed. *Science* 1986;232:1197–8.
- [10] Hotta M, Shibasaki T, Masuda A, Imaki T, Demura H, Ling N, Shizume K. The responses of plasma adrenocorticotropin and cortisol to corticotropin-releasing hormone (CRH) and cerebrospinal fluid immunoreactive CRH in anorexia nervosa patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62:319–24.
- [11] Cheung MC, Albers JJ. Characterization of lipoprotein particles isolated by immunoaffinity chromatography. Particles containing A-I and A-II and particles containing A-I but not A-II. *J Biol Chem* 1984;259:12201–9.
- [12] Atmeh RF, Shepherd J, Packard CJ. Subpopulations of apolipoprotein A-I in human high-density lipoproteins. Their metabolic properties and response to drug therapy. *Biochim Biophys Acta* 1983;751:175–88.
- [13] Bard JM, Parra HJ, Douste-Blazy P, Fruchart JC. Effect of pravastatin, an HMG CoA reductase inhibitor, and cholestyramine, a bile acid sequestrant, on lipoprotein particles defined by their apolipoprotein composition. *Metabolism* 1990;39:269–73.
- [14] Puchois P, Kandoussi A, Fievet P, Fourrier JL, Bertrand M, Koren E, Fruchart JC. Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1987;68:35–40.
- [15] Fielding CJ, Fielding PE. Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin:cholesterol acyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:3911–4.
- [16] Barbaras R, Puchois P, Fruchart JC, Ailhaud G. Cholesterol efflux from cultured adipose cells is mediated by Lp AI particles but not Lp AI:AI particles. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;142:63–9.
- [17] Bjorkhem I, Miettinen T, Reihner E, Ewerth S, Angelin B, Einarsson K. Correlation between serum levels of some cholesterol precursors and activity of HMG-CoA reductase in human liver. *J Lipid Res* 1987;28:1137–43.
- [18] Kempen HJ, Glatz JF, Gevers Leuven JA, van der Voort HA, Katan MB. Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body cholesterol synthesis in humans. *J Lipid Res* 1988;29:1149–55.
- [19] Diagnostic and statistical manual of mental disorders. In: DSM IV, Washington: American Psychiatric Association, 1994.
- [20] Sempe M, Pedron G, Roy-Pernot MP. Axiologie, methode et séquences. Theraplix, 1979.
- [21] Conrad A, Schurmann J, Krentz FH, Sieber A. Elaboration of a method for the quantitative determination of proteins by laser nephelometry in the clinical routine laboratory. *J Clin Chem Clin Biochem* 1978;16:299–305.

- [22] Fruchart JC, Marcovina S, Puchois P. Laboratory measurement of plasma lipids and lipoproteins. In: Fruchart JC, Sheperd J, editors, *Human plasma lipoprotein*, New York: Walter de Gruyter, 1989, pp. 79–112.
- [23] Ziegenhorn J, Bartl K, Deeg R. Improved kinetic method for automated determination of serum triglycerides. *Clin Chem* 1980;26:973–9.
- [24] Assmann G, Schriewer H, Schmitz G, Hagele EO. Quantification of high-density lipoprotein cholesterol by precipitation with phosphotungstic acid/MgCl₂. *Clin Chem* 1983;29:2026–30.
- [25] Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499–505.
- [26] Betard C, Vu-Dac N, Mezdour H, Leroy A, Fruchart JC. Standardization of an enzymometric assay for apolipoprotein A-I by using mixtures of monoclonal antibodies. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:893–9.
- [27] Puchois P, Kandoussi A, Duriez P, Fruchart JC, McConathy WJ, Koren E. Quantitative determination of human apolipoprotein A II by a non competitive enzyme linked immunosorbent assay. *J Immunoassay* 1986;7:285–307.
- [28] Fruchart JC, Fievet C, Ouvry D, Koffigan M, Beucler I, Ayrault-Jarrier M, Du Barry M, Marcovina S. Enzyme linked immunoassay on microtiter plates for human apolipoprotein B. *Ric Clin Lab* 1984;3:569–74.
- [29] Parsy D, Clavey V, Fievet P, Kora I, Duriez P, Fruchart JC. Quantification of apolipoprotein C III in serum by a non-competitive immunoenzymometric assay. *Clin Chem* 1985;31:1632–6.
- [30] Koffigan M, Kora I, Clavey V, Bard JM, Chapman J, Fruchart JC. Quantification of human apolipoprotein E in plasma and lipoprotein subfractions by a non-competitive enzyme immunoassay. *Clin Chem* 1987;163:245–56.
- [31] Koren E, Puchois P, Alaupovic P, Fesmire J, Kandoussi A, Fruchart JC. Quantification of two different types of apolipoprotein A I containing lipoprotein particles in plasma by enzyme linked differential antibody immunosorbent assay. *Clin Chem* 1987;33:38–343.
- [32] Vu-Dac N, Mezdour H, Parra HJ, Luc G, Luyeye I, Fruchart JC. A selective bi-site immunoenzymatic procedure for human Lp(a) lipoprotein quantification using monoclonal antibodies against Apo (a) and Apo B. *J Lip Res* 1989;30:1437–43.
- [33] Feillet C, Monnier LH, Barjon JN, Perrin M, Descomps B, Crastes de Paulet A. Evidence for a short term stimulatory effect of insulin on cholesterol synthesis in newly insulin-treated diabetic patients. *Metabolism* 1994;43:1233–40.
- [34] University of California. BMDP. Statistical Software. Los Angeles: University of California Press, 1981.
- [35] Bermingham MA, Jones E, Steinbeck K, Brock K. Plasma cholesterol and other cardiac risk factors in adolescent girls. *Arch Dis Child* 1995;73:392–7.
- [36] Bergstrom E, Hernell O, Persson LA, Vessby B. Serum lipid values in adolescents are related to family history, infant feeding and physical growth. *Atherosclerosis* 1995;117:1–13.
- [37] Mordasini R, Greten H. Secondary type II hyperlipoproteinemia in patients with anorexia nervosa. *Metabolism* 1978;27:71–9.
- [38] Stone NJ. Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am* 1994;78:117–41.
- [39] Vuoristo M, Miettinen TA. Absorption, metabolism and serum concentrations of cholesterol in vegetarians: effect of cholesterol feeding. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1325–31.
- [40] Applebaum-Bowden D, Haffner SM, Hartsook E, Luk KH, Albers JJ, Hazzard WR. Down-regulation of the low-density lipoprotein receptor by dietary cholesterol. *Am J Clin Nutr* 1984;39(3):360–7.
- [41] Lehoux JG, Lefebvre A, de Medicis E, Belisle S, Bellabarba D. The enhancing effect of adrenocorticotropin on adrenol 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase messenger ribonucleic acid level is inhibited by aminoglutethinide but not by cycloheximide. *Endocrinology* 1989;125:158–64.

- [42] Nestel PJ. Cholesterol metabolism in anorexia nervosa and hypercholesterolemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1974;38:325–8.
- [43] Ricour C, Hatemi N, Etienne J, Polonovski J. Plasma post heparin lipolytic activity (PHLA) before and during total parenteral nutrition in children. *Acta Chir Scand*, 1976;466(suppl):114–5.
- [44] Gurson TC, Saner G. Lipoprotein lipase activity in marasmic type of protein caloric malnutrition. *Arch Dis Child* 1969;44:765–8.
- [45] Feillet F, Parra HJ, Kamian K, Bard JM, Fruchart JC, Vidailhet M. Lipoprotein metabolism in marasmic children of Northern Mauritania. *Am J Clin Nutr* 1993;58:484–8.
- [46] Asami T, Touru K, Uchiyama M. Effects of L-thyroxine on serum lipid profiles in infants with congenital hypothyroidism. *J Ped* 1995;127:815–7.
- [47] Capo-chichi CD, Gueant JL, Lefebvre E, Bennani N, Lorentz E, Vidailhet C, Vidailhet M. Riboflavin and riboflavin-derived cofactors in adolescent girls with anorexia nervosa. *Am J Clin Nutr* 1999;69:672–8.
- [48] Thompson GR, Soutar AK, Spengel FA, Jadhav A, Gavigan SJ, Myant NB. Defects of receptor mediated low density lipoprotein catabolism in homozygous familial hypercholesterolemia and hypothyroidism. *Proc Natl Acad Sci* 1981;78:2591–5.
- [49] Holman RT, Adams CE, Nelson RA, Grater SJ, Jaskiewicz JA, Johnson SB, Erdman Jr. JW. Patients with anorexia nervosa demonstrate deficiencies of selected essential fatty acids, compensatory changes in nonessential fatty acids and decreased fluidity of plasma lipids. *J Nutr* 1995;125:901–7.
- [50] Bonanome A, Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein concentrations. *N Engl J Med* 1988;318:1244–8.
- [51] Lejoyeux M, Bouvard MP, Viret J, Daveloose D, Ades J, Dugas M. Modification of erythrocyte membrane fluidity from patients with anorexia nervosa before and after refeeding. *Psychiatry Res* 1996;59:255–8.
- [52] Kuusi T, Yki-Järvinen H, Kauppinen-Mäkelin R, Jauhiainen M, Ehnholm C, Kauppila M, Seppala P, Viikari J, Kujansuu E, Rajala S et al. Effect of insulin treatment on serum lipoprotein(a) in non-insulin-dependant diabetes. *Eur J Clin Invest* 1995;25:194–200.

Nom : Monsieur FEILLET
Prénom : François

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

en BIOLOGIE ET SANTÉ

Spécialité : GÉNIE BIOLOGIQUE ET MÉDICAL

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 17 juillet 2000 n° 330

Le Président de l'Université



C. BURLET

ABSTRACT

Background : Protein-energy malnutrition (PEM) and anorexia nervosa (AN) are severe nutritional diseases which induce multiple deficiencies. Group B vitamins and urinary organic acids (markers of some vitamins deficiencies) are poorly studied in PEM. Moreover, the lipid status shows an increase of plasma cholesterol in AN, and there is actually no good explanation for this paradoxical result.

Objective : To evaluate the relationship between the vitamin (cobalamin (Cbl) or riboflavin (Rf)) status and the severity of malnutrition in PEM, and between the lipid status and the severity of malnutrition in PEM and in AN.

Design : The study has been performed in 39 children with marasmus in Mauritania and in 72 children with marasmus and kwashiorkor in Togo and Benin. 14 adolescent girls with AN have been studied in France. Cobalamin has been assayed by radioisotopic methods, Rf, FMN and FAD have been assayed by high performance liquid chromatography, urinary organic acids have been studied by gas chromatography mass spectrometry and the lipid screening has been performed by immunoenzymatic assays.

Results and discussion : We paradoxically observed an increase of plasma vitamins (Cbl and Rf) levels in children with the worse state of PEM. In Rf study we can explain this result by the hypothyroidism we found in the children with the higher levels of Rf. Organic acids study shows an abnormal excretion of ethylmalonic acid in children with the less severe form of PEM, while the children with the worse nutritional state do not presents this Rf deficiency pattern. In marasmus form of PEM, the lipid study shows abnormalities in rich triglycerides particles while the cholesterol rich particles are profoundly depressed. At the opposite, we found an increase of cholesterol in AN, with a low level of endogenous cholesterol synthesis. During refeeding, the endogenous cholesterol synthesis increases while the plasmatic levels of cholesterol tends to decrease. All these studies allowed a better understanding in the metabolic adaptation to starvation. One of the most important factor for this adaptation should be hypothyroidism.

Key words : Protein-energy malnutrition, anorexia nervosa, cobalamin, riboflavin, organic acids, lipids.

RESUME

Introduction : La malnutrition protéino-énergétique (MPE) de l'enfant et l'anorexie mentale (AM) sont deux pathologies entraînant des carences nutritionnelles multiples. Les vitamines du groupe B et les conséquences de leur déficit objectivées par une excrétion anormale d'acides organiques urinaires ont été peu étudiées dans ce cadre. Par ailleurs le bilan lipidique dans l'anorexie mentale retrouve une augmentation du cholestérol qui est paradoxale dans cet état de grave dénutrition.

But : Étudier les relations entre le statut en cobalamine ou en riboflavine en fonction de la sévérité de la malnutrition dans la MPE de l'enfant et étudier le bilan lipidique caractérisé par sa composition en apoprotéines et en lipoprotéines dans la MPE de l'enfant et dans l'AM.

Matériels et Méthodes : L'étude a été menée chez 39 enfants de Mauritanie et 72 enfants du Togo et du Bénin pour les études sur la MPE et chez 14 jeunes filles françaises atteintes d'AM pour l'étude sur les lipides dans l'AM. Le statut en cobalamine a été étudié par méthodes radioisotopiques, la riboflavine, la FMN et la FAD ont été analysées par chromatographie liquide haute performance, les acides organiques urinaires ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et le bilan lipidique a été analysé par méthodes immunoenzymatiques.

Résultats et discussion : Nous avons observé de façon paradoxale, une augmentation des taux de vitamines sériques (cobalamine, riboflavine) chez les enfants porteurs de MPE. Cette augmentation est d'autant plus importante que la malnutrition est sévère. Dans l'étude sur la riboflavine nous avons pu expliquer les résultats par l'hypothyroïdie que nous avons mis en évidence chez les patients aux taux de Rf les plus élevés. L'étude des acides organiques montre une excrétion anormale d'acides éthylmalonique et adipique (marqueur d'un déficit en Rf) chez les enfants présentant la malnutrition la moins sévère, alors que les enfants les plus atteints ne présentaient pas de signes de déficit en Rf. L'étude du bilan lipidique montre des anomalies des particules riches en triglycérides chez les enfants atteints de marasme, alors qu'ils ont un cholestérol effondré. Dans l'anorexie mentale, on trouve un cholestérol élevé associé à une production endogène de cholestérol basse. Cette synthèse endogène remonte avec la renutrition alors que les taux de cholestérol plasmatique diminuent. Toutes ces études permettent de mieux comprendre l'adaptation métabolique de l'organisme à la carence énergétique prolongée dont un des médiateurs essentiels est l'hypothyroïdie.

Titre en anglais : Metabolic adaptation to starvation. Models of cobalamin, riboflavin, urinary organic acids and lipids in protein-energy malnutrition and in anorexia nervosa.

Mots clés : Malnutrition protéino-énergétique, anorexie mentale, cobalamine, riboflavine, acides organiques, lipides.

Discipline : École Doctorale Biologie et Santé - Spécialité : Génie Biologique et Médical.

Intitulé du Laboratoire : Laboratoire de Pathologie Cellulaire et Moléculaire en Nutrition - E.P. C.N.R.S. 616 - Faculté de Médecine - Vandoeuvre les Nancy.