



HAL
open science

Étude pilote de l'effet de l'administration de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone et de cortisol chez le volontaire sain

Caroline André

► **To cite this version:**

Caroline André. Étude pilote de l'effet de l'administration de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone et de cortisol chez le volontaire sain. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01235995

HAL Id: dumas-01235995

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01235995>

Submitted on 1 Dec 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

Diplôme d'Etat

Par

Caroline ANDRE

Née le 26 Janvier 1986 à Louviers (27)

Présentée et soutenue publiquement le 12 Octobre 2015

**Etude pilote de l'effet de l'administration de la
L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone et de cortisol
chez le volontaire sain.**

PRESIDENT DU JURY : Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE

DIRECTEUR DE THESE : Madame le Docteur Anne-Françoise CAILLEUX

MEMBRES DU JURY : Monsieur le Professeur Dominique GUERROT

Monsieur le Docteur Moïse COEFFIER

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 - 2015
U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Bruno BACHY (<i>surnombre</i>)	HCN	Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART (<i>surnombre</i>)	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Guy BONMARCHAND (<i>surnombre</i>)	HCN	Réanimation médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr Jean-François CAILLARD (<i>surnombre</i>)	HCN	Médecine et santé au travail
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale

Mr Stéfán DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN (<i>surnombre</i>)	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>surnombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Philippe GRISE (<i>surnombre</i>)	HCN	Urologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Xavier LE LOET	HCN	Rhumatologie
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mr Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile

Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Bruno MIHOUT (<i>surnombre</i>)	HCN	Neurologie
Mr Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophtalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Jean-Marc PERON (<i>surnombre</i>)	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale

Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Bactériologie
Mr Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais
Mr Thierry WABLE	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mr Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB santé	Législation pharmaceutique et économie de la
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie

Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr Jérémie MARTINET	Immunologie
----------------------------	-------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie
Mr François HALLOUARD	Galénique

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mr Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL**

UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE**

UFR Médecine Générale

Mr Alain **MERCIER**

UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH**

UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET**

UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD**

UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN**

UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX**

UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med) Inserm 905)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (phar)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT (phar)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (phar)	Neurophysiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (phar)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation.SJ – Saint Julien Rouen

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A Monsieur le Professeur Hervé LEFEBVRE,

Vous me faites l'honneur de présider ma thèse,

Pour votre enseignement de qualité, votre encadrement pendant ces quatre années,

Pour votre passion pour l'endocrinologie, et notamment pour la surrénale, qui m'a donné envie de faire ce travail,

Pour votre soutien et votre grande disponibilité,

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Anne-Françoise CAILLEUX,

Vous me faites l'honneur de diriger cette thèse,

Pour vos encouragements et votre soutien tout au long de ce travail,

Pour votre gentillesse et votre grande disponibilité,

Pour vos enseignements toujours dans la bonne humeur,

Veillez trouver ici l'expression de ma gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Dominique GUERROT,

Vous me faites l'honneur d'être présent et de juger cette thèse,
Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

A Monsieur le Docteur Moïse COEFFIER,

Vous me faites l'honneur d'être présent et de juger cette thèse,
Pour votre gentillesse,
Pour m'avoir permis de découvrir la nutrition,
Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

A Margaux,

Je t'ai connue d'abord interne, puis chef: toujours au top!

Un grand merci pour ton soutien, ta disponibilité, ta bonne humeur

Tu vas nous manquer...

A Sandrine, Adeline,

Merci pour votre patience, vos enseignements, et vos grandes qualités humaines.

Merci également pour votre bonne humeur constante qui m'a permis d'évoluer dans les meilleures conditions.

A Monsieur le Docteur Prévost,

Merci de votre disponibilité pour ces nombreux avis, et pour vos enseignements.

A Monsieur le Docteur Gancel,

Merci pour vos enseignements, en particulier pour la prise en charge de la chirurgie bariatrique.

A Monsieur le Docteur Ménard,

Un grand merci pour votre aide dans mes analyses statistiques, pour votre gentillesse

Et pour votre disponibilité.

Sans vous, je n'aurai pas pu terminer ce travail à temps.

A Lucile, Caroline et Alice,

Mes premières chefs,

Merci pour votre aide au cours de mes premières années, ainsi que pour votre gentillesse.

A Monsieur le Docteur Richard,

Merci de m'avoir encadré au cours de mon premier semestre, et de vous être battus pour que je puisse obtenir mon poste d'ASR.

Je suis heureuse de rejoindre votre équipe en Novembre.

A Stéphanie,

Avec qui j'ai fait mes débuts, et qui m'a soutenue tout au long de cet internat.

Merci pour ta patience, ta gentillesse, et pour ton aide dans les moments difficiles.

A mes co-internes: Henri, Caroline, Delphine, Romain, Pauline, Julie, Antoine-Guy,

Merci de votre gentillesse, de votre soutien,

Merci d'avoir permis que chaque semestre se passent dans la bonne humeur.

A mes anciennes co-internes: Clémence et Justine,

Merci pour m'avoir donné l'exemple à suivre et pour votre aide dans mes premiers semestres,

Je suis contente de débiter cette nouvelle année avec toi Justine.

A mes co-internes non endoc: Etienne, Isabelle, Anaëlle, William, Anne-So, Pauline,

Merci pour ces semestres incroyables passés avec vous.

A mes amis : Marie, Audrey, Manu, Nico, Tony,

Merci pour ces soirées préparations ECN où l'on discutait « cas cliniques » avant de faire notre repas rituel

Merci plus particulièrement à Tony et Nico qui ont dû nous supporter pendant qu'on parlait boulot.

J'espère qu'on continuera notre route ensemble.

A toute l'équipe paramédicale d'endocrino,

Merci de m'avoir supporté depuis mes débuts, et de m'avoir appris tant de choses,
C'est avec un grand plaisir que j'ai travaillé avec vous.

A nos secrétaires: Aurélie, les Steph's, Vanessa,

Merci de votre grande patience lors de mes retards de comptes-rendus,
Merci de votre gentillesse et de votre soutien.

A toute l'équipe du CIC, en particulier à Laurence :

Merci d'avoir participé à mon travail de thèse,
Rien n'aurait pu être possible sans vous.

A mes parents,

Vous m'avez tout donné pour que j'en arrive là sans rien attendre en retour,
Merci d'avoir toujours été présent pour moi, de m'avoir soutenu dans toutes les
épreuves
Merci d'avoir toujours eu confiance en moi.
Je vous aime!

A mes frère et sœur: Christelle et Thomas,

Merci d'avoir toujours été là dans les bons et les mauvais moments.

A Matthieu,

Merci pour ton soutien inconditionnel et pour l'amour que tu me portes chaque jour,
Tu as toujours su me conseiller et m'aider à prendre les bonnes décisions.
Une période se termine, une nouvelle vie nous attend. Je t'aime.

Liste des abréviations

ACTH : adrenocorticotropie hormone
AMM : autorisation de mise sur le marché
AMPc : adenosine monophosphate cyclique
APA : adénome producteur d'aldostérone (adénome de Conn)
ARNm : acide ribonucléique messenger
AVP : arginine vasopressine
CGRP : calcitonine gene-related peptide
CRH : corticotropin-releasing hormone
DHEA : Déhydroépiandrostérone
ECE : endotheline converting enzyme
ECG : électrocardiogramme
ET-1 : endothéline 1
GABA : acid γ amino butirique
GIP : gastric inhibitory peptide
HCG : hormone chorionique gonadotrope
HDL : high density lipoprotein
5-HIAA : 5-hydroxyindolacetic acid
HMBS : Hypertrophie macronodulaire bilatérale des surrénales
5-HT : 5-hydroxytryptamine (sérotonine)
5-HTOL : 5-hydroxytryptophol
IL : interleukine
IMC : indice de masse corporelle
LDL : low density lipoprotein
LH : hormone luthéinisante
MAO : monoamine oxydase
NS : non significatif
PKA : protéine kinase A

PACAP : pituitary adenylate cyclase activationg polypeptide

POMC : proopiomelanocortine

PTZ : pentylenetetrazol

SCF : stem cell factor

SDHEA : Sulfate de déhydroépiandrostérone

SEM : standard error of the mean

TGF β : transforming growth factor β

TNF α : tumor necrosis factor α

VIP : vasoactive intestinal polypeptide

Table des matières

INTRODUCTION	22
1. La surrénale	23
A. Généralités	23
B. Régulation endocrine de la surrénale	25
i. Système hypothalamo-hypophysaire.....	26
ii. Système rénine-angiotensine.....	27
C. Régulation autocrine/paracrine de la surrénale	29
i. Système rénine-angiotensine intra-surrénalien.....	29
ii. Système CRH/ACTH intra-surrénalien	30
iii. Cellules nerveuses	32
iv. Cellules endothéliales.....	35
v. Cellules immunitaires	36
D. Sérotonine et surrénale.....	37
i. En physiologie.....	37
ii. En pathologie.....	39
iii. Implications thérapeutiques	41
2. La L-Lysine.....	44
A. Généralités	44
B. Effets de la L-Lysine mis en évidence	45
i. Sur le tractus digestif.....	45
ii. Sur l'anxiété.....	45
iii. Sur le système nerveux central	46
iv. Sur la surrénale.....	46
v. Implication en physiopathologie	47
3. But de l'étude	47
MATERIEL ET METHODES	49
1. Caractéristiques de l'étude	50
2. Traitement de l'étude.....	50
A. Substance test	50
B. Médicaments interdits pendant l'étude.	51
C. Suivi de l'observance du traitement.....	51
3. Patients étudiés.....	51
A. Taille de l'échantillon.....	51

B.	Critères d'inclusion.....	52
C.	Critères d'exclusion.....	53
4.	Critères de jugement.....	53
5.	Déroulement de l'essai.....	54
A.	Organisation des visites (Figure 4).....	54
B.	Identification et conditionnement des prélèvements veineux et urinaires.....	58
C.	Sortie d'essai.....	59
6.	Analyse statistique.....	60
	RESULTATS.....	62
1.	Tolérance.....	63
2.	Evolution des paramètres cliniques.....	64
3.	Evolution des paramètres hormonaux.....	64
A.	Impact de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone (Tableau 4).....	64
B.	Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de rénine.....	68
C.	Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de cortisol.....	68
	DISCUSSION.....	71
1.	Impact de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone et de rénine.....	72
2.	Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de cortisol.....	75
3.	Points forts et points faibles de l'étude.....	76
4.	Perspectives.....	76
5.	Conclusion.....	77
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	78
	RESUME.....	88

INTRODUCTION

1. La surrénale

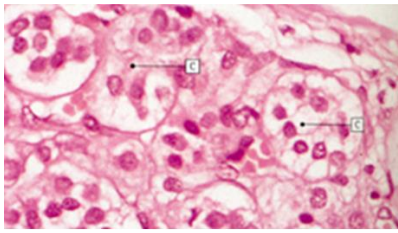
A. Généralités

Chez l'homme, les glandes surrénales sont localisées au pôle supérieur des deux reins. Elles sont de forme triangulaire et pèsent environ 5 grammes.

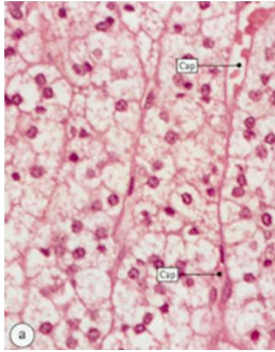
Elles sont constituées de 2 parties distinctes : le cortex et la médulla. Ces dernières ont des fonctions sécrétoires et une origine embryologique différentes.

Le cortex se divise en 3 couches, qui se distinguent par le type d'hormone sécrétée. De l'extérieur vers l'intérieur, on retrouve : la zone glomérulée, qui sécrète les minéralocorticoïdes dont le chef de file est l'aldostérone ; la zone fasciculée, qui synthétise principalement le cortisol, appartenant à la famille des glucocorticoïdes ; la zone réticulée, qui sécrète les androgènes surrénaliens tels que la déhydroépiandrostérone (DHEA), son sulfate (S-DHEA) et le delta-4-androstenedione.

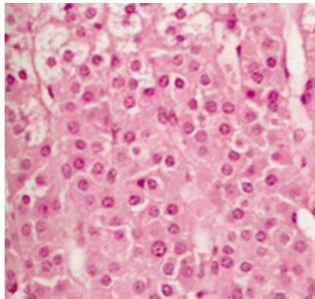
La zone glomérulée, adjacente à la capsule, est composée de petites cellules claires. La zone fasciculée est la zone du cortex la plus épaisse. Elle est composée de colonnes de larges cellules claires appelées spongiocytes ayant de nombreuses inclusions de gouttelettes lipidiques intracellulaires. Enfin, la zone réticulée est composée de cordons anastomosés formés de petites cellules éosinophiles (**Figure 1**)



Zone glomérulée



Zone fasciculée



Zone réticulée

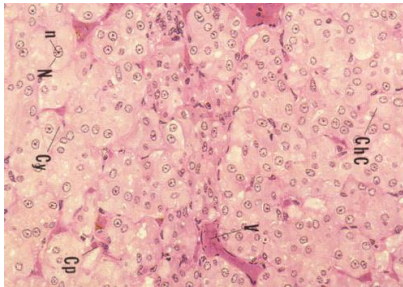
Figure 1 : Représentation au microscope optique de coupes histologiques de la corticosurrénale (D'après Stevens A. et Lowe J. Human histology, 2ème édition, Mosby 1997)

La médullosurrénale est la couche la plus centrale. Elle présente une architecture en cordons cellulaires irréguliers accompagnés d'un réseau vasculaire bien développé. Les cellules médullosurréaliennes sont également nommées cellules chromaffines du fait de la coloration de leur cytoplasme par les sels de chrome (**Figure 2**).

Les cellules chromaffines sont originaires des cellules précurseur de la crête neurale qui ont migré dans la surrénale pour se différencier dans la médulla sous l'influence des stéroïdes corticosurréaliens (Ehrhart-Bornstein et coll. 1998).

Ses principaux produits de sécrétion sont les catécholamines : noradrénaline, adrénaline, dopamine.

Les cellules chromaffines sont également capables de libérer de multiples neuropeptides, et neurotransmetteurs conventionnels participant à la régulation paracrine du cortex surrénalien.



Médullosurrénale

Figure 2 : Représentation au microscope optique de coupes histologiques de la médullosurrénale (D'après Junqueira L.C., Carneiro J. et Kelly R. Histologie, 2ème édition française, PICCIN 2001).

En réalité, ces distinctions ne sont pas aussi claires car il existe des îlots et des cordons de cellules chromaffines dans le cortex (Ehrhart-Bornstein et coll, 1998) facilitant la communication entre les différentes zones. En effet, les fonctions corticosurréaliennes sont soumises à un contrôle complexe impliquant des influences multiples issus de la médullosurrénale, de la vascularisation artérielle et veineuse, des fibres neuronales, du système immunitaire, et des facteurs régulateurs circulants tels que le système rénine-angiotensine, le potassium et l'ACTH.

B. Régulation endocrine de la surrénale

L'aldostérone est une hormone produite par les cellules de la zone glomérulée de la corticosurrénale en réponse à de multiples agents de régulation. Le maintien en vie d'un organisme complexe dépend de sa capacité à s'adapter et à maintenir une homéostasie interne. La réponse à un stress, tel qu'une chirurgie majeure, une infection chronique ou une maladie auto-immune, est donc vitale et s'effectue par trois principaux relais : le système

hypothalamo-hypophyso-surrénalien, le système nerveux sympathique, et le système rénine-angiotensine-aldostérone. (Bornstein M et coll, 1999).

i. Système hypothalamo-hypophysaire

L'activation du système hypothalamo-hypophyso-surrénalien par le stress provoque une sécrétion de CRH et d'AVP par l'hypothalamus, qui sont les principaux régulateurs de l'ACTH hypophysaire.

L'ACTH agit par le biais du récepteur MC2 exprimé par les cellules corticosurréaliennes. La sensibilité des cellules stéroïdiennes à l'ACTH est le reflet de la présence de l'adénylate cyclase. Celle-ci présente 9 isoformes, se fixant sur les récepteurs de la protéine G. Son action peut être soit activatrice soit inhibitrice en fonction de l'isoforme exprimé.

L'ACTH stimule en premier lieu les formes AC5 et AC6 pour produire de l'AMPc en l'absence de calcium. L'AMPc et la PKA favorisent ensuite un flux calcique lent, pour enfin activer l'isoforme AC3 dans les cellules fasciculées. Une fois la concentration maximale de calcium atteinte, les isoformes AC5, AC6 et AC3 sont inhibées (**Figure 3**).

Alors qu'elle induit sa production, l'ACTH favorise également la dégradation de l'AMPc par son action directe sur la phosphodiesterase.

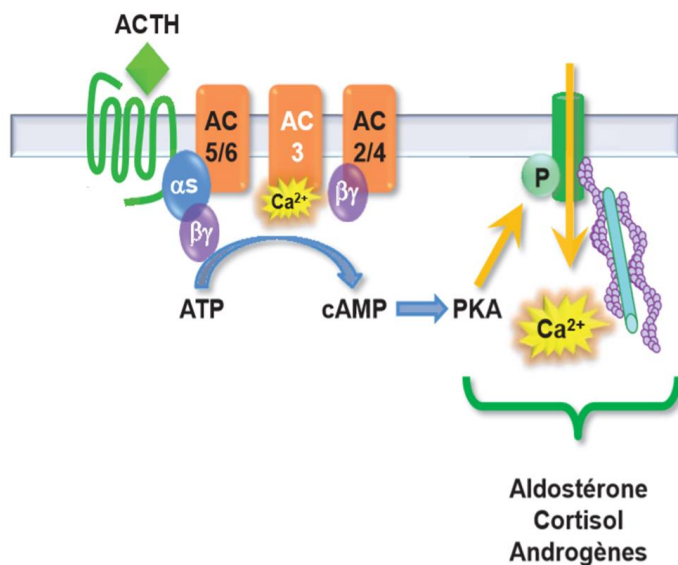


Figure 3 : Représentation des voies de signalisations mises en jeu par l'action de l'ACTH sur les cellules corticosurréaliennes (D'après Gallot-Payet N, MSA 2012)

Via l'AMPc, l'ACTH stimule l'expression de multiples enzymes de la stéroïdogénèse et participe ainsi à la conversion du cholestérol en pregnenolone puis en 18-hydroxycorticostérone qui deviendra aldostérone dans les cellules glomérulées (**schéma 1**).

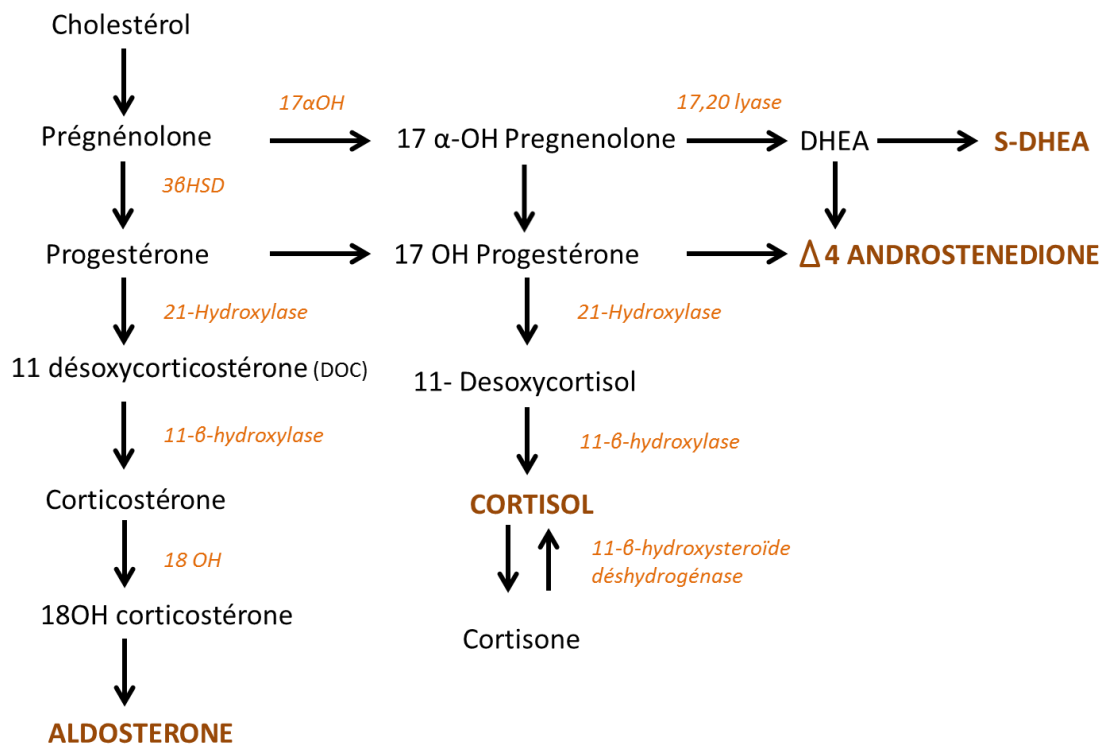


Schéma 1 : Représentation schématique de la stéroïdogénèse

Il semblerait que l'ACTH ait également une action trophique sur les cellules surrénaliennes in vitro mais cela n'a pas encore été mis en évidence in vivo.

ii. Système rénine-angiotensine

La rénine est une hormone synthétisée par l'appareil juxta-glomérulaire des reins en réponse à une hypovolémie, à une chute de pression artérielle au niveau des artères rénales ou à une variation de concentration tubulaire de sodium. Sa sécrétion est inhibée par l'angiotensine II et l'hypokaliémie.

Elle permet la maturation de l'angiotensinogène, peptide synthétisé dans le foie, en angiotensine I (protéine inactive). Cette dernière est transformée en angiotensine II (protéine active) grâce à l'enzyme de conversion de l'angiotensine sécrétée par l'endothélium pulmonaire (**Schéma 2**). L'angiotensine II a pour principale action de stimuler la sécrétion d'aldostérone par les cellules minéralocorticoïdes surrénaliennes. Elle permet également d'activer le système nerveux sympathique afin de provoquer une vasoconstriction, de favoriser la réabsorption tubulaire de sodium, et de stimuler la sécrétion de vasopressine hypothalamique. De plus, elle favorise la sécrétion de catécholamines par la médullosurrénale et la sécrétion de cortisol par les cellules de la zone fasciculée en facilitant l'action de l'ACTH.

Les cellules de la zone glomérulée de la corticosurrénale contiennent des récepteurs spécifiques à l'angiotensine, plus particulièrement son sous-type AT1 (Ehrhart-Bornstein M et coll, 1998). La médulla exprime également les récepteurs de l'angiotensine, préférentiellement le sous-type AT2. Dans les zones fasciculée et réticulée la concentration de récepteurs de l'angiotensine II est considérablement insuffisante. L'angiotensine II a un effet prolifératif sur la zone glomérulée et sur le maintien de la synthèse d'aldostérone.

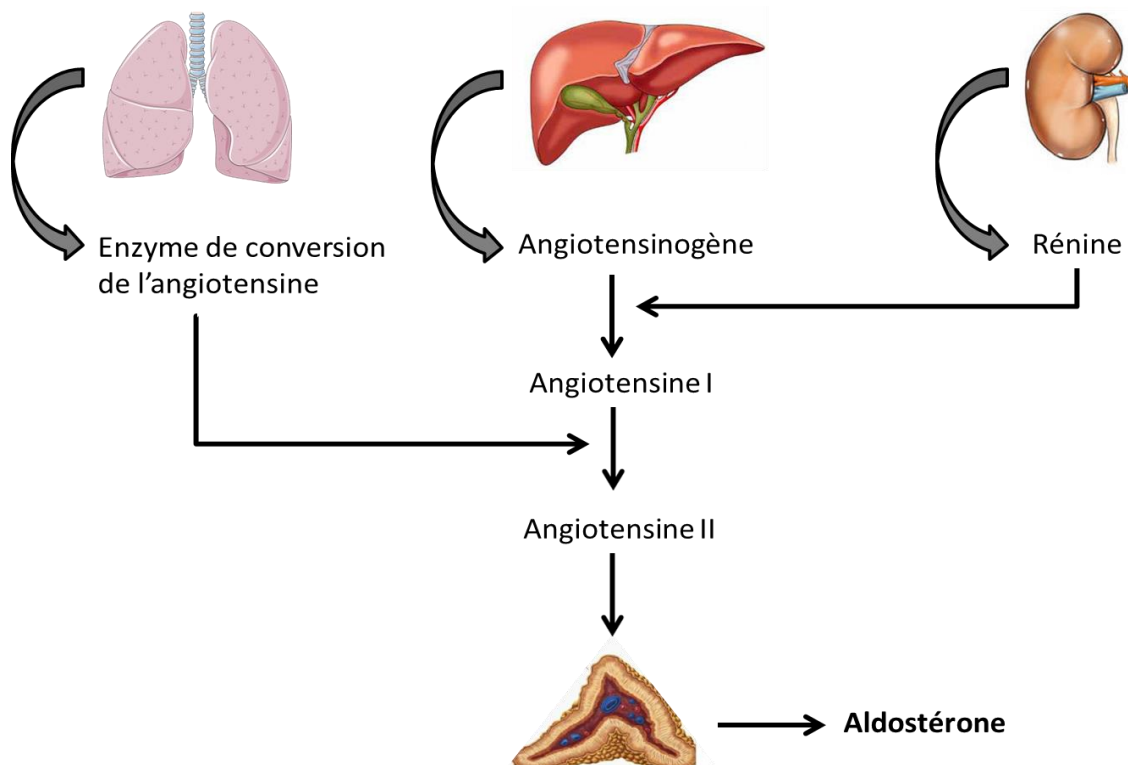


Schéma 2 : Représentation schématique du système rénine-angiotensine-aldostérone

La concentration en potassium plasmatique est également un facteur régulateur de la sécrétion d'aldostérone par rétrocontrôle. En effet, une hypokaliémie aura une action frénatrice alors qu'une hyperkaliémie stimulera sa synthèse.

C. Régulation autocrine/paracrine de la surrénale

i. Système rénine-angiotensine intra-surrénalien

Les facteurs circulants, incluant les hormones hypothalamo-hypophysaires (ACTH), l'angiotensine II et le potassium, sont les acteurs principaux de la régulation surrénalienne mais ne sont pas suffisants dans certaines situations.

De nombreuses études suggèrent qu'il peut exister une sécrétion d'aldostérone indépendante du système rénine-angiotensine et du potassium (Bayard F et coll, 1971 ; Ehrhart-Bornstein M et coll, 1998 ; Oda N et coll, 2006 ; Peters J et coll, 2012). Cette production d'aldostérone a longtemps été considérée comme étant autonome. On sait

maintenant qu'elle est régulée par des facteurs libérés dans la glande surrénale elle-même, agissant selon des mécanismes autocrines/paracrines (**schéma 3**).

La surrénale possède son propre système rénine-angiotensine. En effet, les ARNm codant pour la rénine, l'enzyme de conversion de l'angiotensine, et l'angiotensinogène sont exprimés dans la corticosurrénale et dans la médulla (Peters J et coll, 2012). Ainsi, l'angiotensinogène est synthétisé dans les cellules des zones glomérulée, fasciculée et dans la médullosurrénale. Cette protéine n'est cependant pas stockée et est donc difficile à mesurer. L'angiotensine II est synthétisée dans la zone glomérulée, où elle exerce une régulation autocrine sur la sécrétion d'aldostérone. Une activité rénine-like a été initialement démontrée chez l'animal par Ryan JW et coll en 1967. Cette enzyme serait formée principalement dans la zone glomérulée, et minoritairement dans la médullosurrénale. Son expression apparaît stimulée par la néphrectomie.

Chez l'homme, de faibles taux de rénine et d'aldostérone sont retrouvés chez des patients néphrectomisés (Bayard F. et coll, 1971). En l'absence de reins fonctionnels la sécrétion d'aldostérone n'est plus régulée par l'expansion volémique. Elle serait préférentiellement contrôlée par la concentration de potassium, et de sodium.

Il existe très peu de preuves laissant penser que le système rénine-angiotensine surrénalien ait un rôle spécifique fonctionnellement identique au système rénine-angiotensine systémique. Malgré tout il est possible que l'angiotensine II synthétisée localement soit plus efficace que l'hormone circulante. Le système intra-surrénalien permettrait une réponse plus rapide à une hypovolémie ou son maintien sur le long terme.

ii. Système CRH/ACTH intra-surrénalien

L'existence d'un système CRH/ACTH intra-surrénalien a été également démontrée. De fortes doses de CRH ont un effet trophique sur le cortex surrénalien des souris hypophysectomisées. Il pourrait agir indirectement via la médullosurrénale en libérant des sécrétagogues stimulant le cortex. (Ehrhart-Bornstein M. et coll, 1998). L'équipe d'Ehrhart-Bornstein a montré que, chez l'homme, des fragments surrénaliens contenant des cellules

chromaffines pouvaient libérer de l'ACTH, en réponse à de forte concentration de CRH et que des récepteurs de la CRH étaient exprimés. Les cellules chromaffines paraissent capables d'exprimer les gènes codant pour la CRH et le précurseur de l'ACTH, la proopiomelanocortine (POMC) (Ehrhart-Bornstein M et coll 2000 ; Lefebvre H. et coll, 2015). La médullosurrénale serait une source d'ACTH extra-hypophysaire, indépendante de la concentration de cortisol, mais contrôlée par la CRH produite localement.

Dans certains cas d'hyperplasie surrénalienne, une expression anormale de la POMC ainsi que de la protéase permettant sa maturation en ACTH (proconvertase 1) ont été retrouvés dans les cellules corticales.

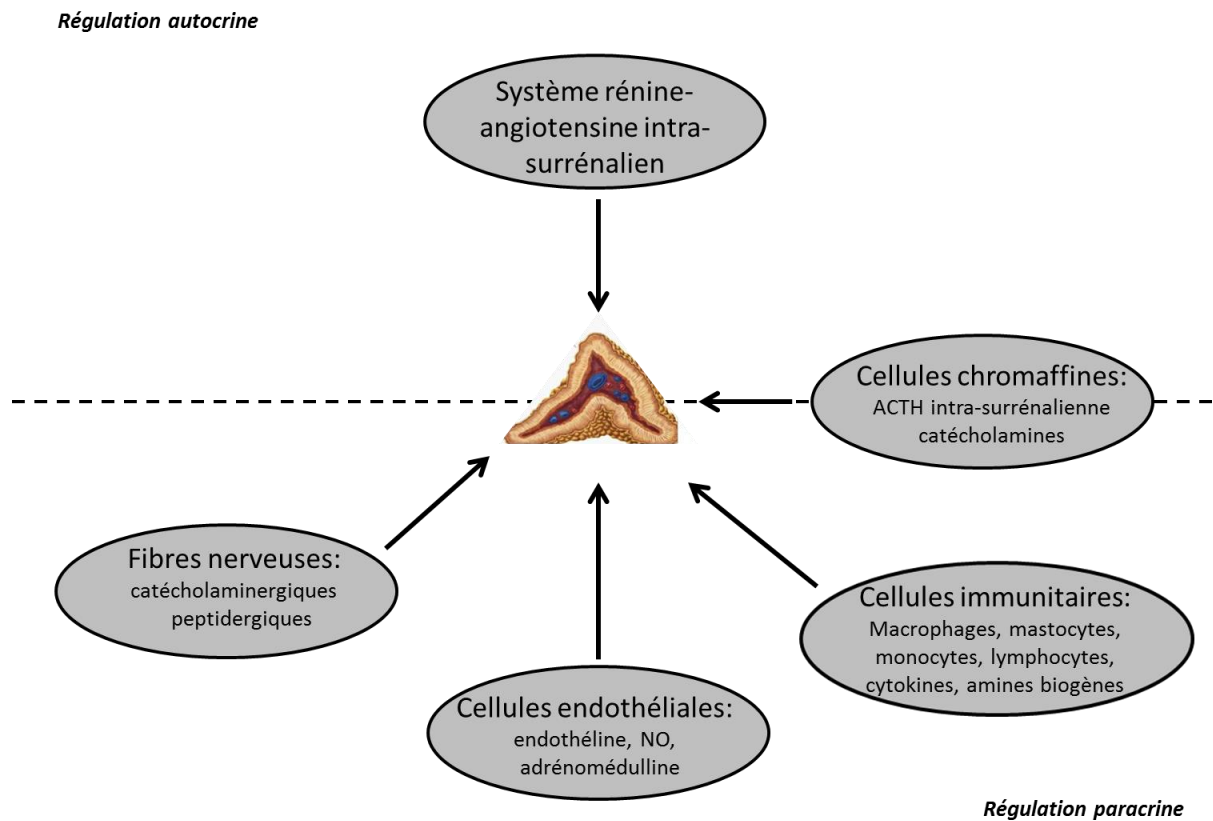


Schéma 3 : Représentation schématique de la régulation autocrine/paracrine de la sécrétion d'aldostérone.

iii. Cellules nerveuses

La régulation neuroendocrine de l'activité corticosurrénalienne s'effectue par le biais de neurotransmetteurs libérés par les terminaisons nerveuses dans le cortex surrénalien ou par les cellules chromaffines. Ces dernières sont des cellules neuroendocrines spécialisées dans la synthèse, le stockage et la libération des catécholamines. Les catécholamines sont sécrétées par exocytose des cellules chromaffines, en réponse à une stimulation exercée par les fibres cholinergiques du nerf splanchnique.

L'innervation du cortex surrénalien a été découverte en 1931 chez le porc. Il est maintenant bien reconnu qu'il existe un riche réseau de terminaisons nerveuses en contact direct avec les cellules stéroïdogènes.

L'innervation afférente du cortex surrénalien dérive de deux sources :

- La médullosurrénale dont les neurones post-ganglionnaires projettent des fibres vers la couche externe du cortex.
- La seconde source est moins bien définie. Les corps cellulaires du système sympathique originaires du ganglion cœliaque et suprarénal paraissent être à l'origine de fibres qui pénètrent dans la partie superficielle de la glande avec les vaisseaux sanguins.

Bien que leur localisation soit principalement intra-médullaire, les cellules chromaffines peuvent être retrouvées dans toutes les couches du cortex sous forme de petits îlots. En effet, au cours de l'embryogenèse, les cellules précurseur des cellules chromaffines envahissent la surrénale primitive de l'extérieur vers l'intérieur à partir de la 6e semaine. Certaines cellules migrent plus profondément que d'autres.

Les fibres splanchniques traversent le cortex pour rejoindre la médulla. Pendant leur traversée de la partie superficielle de la glande, elles émettent des collatérales capables d'établir des contacts fonctionnels avec les cellules stéroïdogènes. Ces fibres sont principalement catécholaminergiques et peptidergiques.

Leur stimulation provoque la libération de neuropeptides dans les veines surrénaliennes efférentes. Ceux-ci favorisent la croissance surrénalienne lorsqu'il existe un dommage

controlatéral, en augmentant la sensibilité de la corticosurrénale à l'ACTH. Ils participent également au cycle nyctéméral du cortisol (Delarue C et coll, 2001).

➤ Les neurotransmetteurs conventionnels

La **noradrénaline** et l'**adrénaline** font partie de la famille des catécholamines. La noradrénaline est produite par les cellules chromaffines et par les fibres sympathiques post-ganglionnaires. L'adrénaline, quant à elle, est uniquement sécrétée par les cellules chromaffines. La surrénale humaine présente une riche innervation noradrénergique au niveau de la capsule, de la zone glomérulée et de la zone fasciculée. Leur effet stimulant sur la sécrétion minéralocorticoïde est relayé par les récepteurs β -adrénergiques couplés à l'adénylate cyclase (Cortez V. et coll, 2012).

La **dopamine** est seulement produite par les cellules chromaffines et exerce un effet inhibiteur sur la sécrétion d'aldostérone. Son action est médiée par plusieurs récepteurs (D1-D5) et sont subdivisés en deux familles (D1-like : D1 et D5 ; D2-like : D2,D3,D4). Ces récepteurs ont des rôles et une distribution différents dans les organes. Les récepteurs D1-like sont exprimés au niveau de l'appareil juxta-glomérulaire rénal et stimulent la sécrétion de rénine. Les récepteurs D2-like sont principalement localisés dans les zones glomérulée et réticulée des surrénales. Dans la médullosurrénale, on retrouve tous ces types de récepteurs, favorisant la sécrétion des catécholamines.

L'**acétylcholine** est présente dans les fibres cholinergiques, et a été retrouvée dans le cortex surrénalien. L'innervation cholinergique est constituée d'épaisses fibres pré-ganglionnaires (originaires du système nerveux splanchnique) et de fines fibres post-ganglionnaires parasympathiques (originaires du plexus subcapsulaire). Les fibres pré-ganglionnaires innervent principalement la médulla, alors que les post-ganglionnaires agissent sur la corticale. L'acétylcholine stimule la sécrétion d'aldostérone par les cellules glomérulées.

➤ Les neuropeptides :

L'**arginine-vasopressine** (AVP) est exprimée dans les cellules chromaffines du cortex et de la médulla. Sa production est stimulée par le CRH. L'AVP exerce un effet stimulant direct sur les minéralocorticoïdes notamment via le récepteur V1a localisé dans la zone glomérulée. Cependant, le rôle physiologique de l'AVP intra-surrénalienne est mal connu (Delarue C. et coll, 2001 ; Perraudin V. et coll, 2006).

Le **VIP** (Vasoactive Intestinal Polypeptide) est présent dans les fibres innervant les cellules chromaffines. Il stimule la sécrétion de minéralocorticoïdes indirectement en favorisant la libération de catécholamines (Delarue C. et coll, 2001 ; Conconi MT. et coll, 2006).

Le **PACAP** (Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide) présente la même action indirecte que le VIP en plus puissante (Delarue C. et coll, 2001 ; Conconi MT. et coll, 2006).

Le **CGRP** (Calcitonine gene-related peptide) est détectée dans les cellules chromaffines du cortex et de la médulla (Delarue C. et coll, 2001). Son rôle est encore mal connu. Il n'a aucun effet sur la production d'aldostérone ou de cortisol de base. En revanche, il inhibe la stimulation de sécrétion d'aldostérone induite par l'angiotensine II.

L'**adrénomédulline** est un peptide originellement décrit dans les phéochromocytomes. Elle est présente dans la médullosurrénale. Ce peptide exerce 2 fonctions opposées au niveau des cellules de la zone glomérulée. L'une d'elle inhibe la stimulation de l'aldostérone induite par l'angiotensine II in vivo par son action directe sur le blocage des canaux calciques (fonction mineure). L'autre favorise la sécrétion d'aldostérone par un effet indirect (fonction majeure) via de la libération de catécholamines par la médullo-surrénale (Andreis PG et coll, 1997).

La **galanine** est exprimée dans les cellules chromaffines et induit une stimulation dose-dépendante des corticostéroïdes dans la zone fasciculée (Delarue C. et coll, 2001).

La **neurotensine** a été visualisée en analyse chromatographique combinée avec une quantification radioimmunologique dans les fibres innervant la médullosurrénale. In vivo, elle exerce un tonus inhibiteur direct sur le cortisol et l'aldostérone chez le rat (Delarue C. et coll, 2001).

Les **tachykinines** désignent une famille de peptides régulateurs tels que la substance P, et les neurokinines A et B. Ces fibres proviennent du système splanchnique. Elles stimulent la

sécrétion de cortisol chez l'homme en induisant la libération de catécholamines par la médullosurrénale (Delarue C. et coll, 2001).

iv. Cellules endothéliales

Les surrénales sont des glandes richement vascularisées, notamment grâce à 3 artères principales : l'artère surrénalienne supérieure, moyenne et inférieure. Elles dérivent des artères phréniques inférieures et rénales et se rassemblent en périphérie de la capsule pour former le plexus sous-capsulaire. L'intérieur du parenchyme est drainé par un réseau de capillaires.

Lors de son passage dans la surrénale, le flux sanguin délivre des stimulants, nutriments et oxygène aux cellules stéroïdiennes ; puis exporte les produits sécrétés dans la circulation générale. L'augmentation du flux sanguin stimule la stéroïdogénèse. Les mécanismes de régulation de celui-ci sont mal connus. Il s'agirait de mécanismes faisant intervenir des médiateurs nerveux, humoraux et locaux.

La stimulation du système splanchnique provoque une libération de neuropeptides tels que le VIP et la Met-enképhaline. Certains provoquent une vasodilatation, d'autres une vasoconstriction.

L'ACTH est connue pour augmenter le flux sanguin en dilatant les vaisseaux. Cependant, elle ne modifie pas le tonus musculaire des artères surrénaliennes in vitro. Elle agirait de manière indirecte par la libération d'histamine et de sérotonine des mastocytes péri-vasculaires.

Les produits de sécrétion de l'endothélium vasculaire (oxyde nitrique, endothéline, adrénomedulline) sont également impliqués dans la régulation locale du flux artériel surrénalien. L'oxyde nitrique provoque une vasodilatation, alors que l'endothéline assure une vasoconstriction (Andreis PG. et coll, 2002).

L'endothéline 1 stimule la synthèse d'aldostérone en se fixant sur ses récepteurs (ET1 A et B) situées sur les cellules de la zone glomérulée. Elle provient du clivage de la big-

endotheline par l'enzyme ECE (Endotheline Converting Enzyme) et la chymase. Son action est médiée par la phospholipase C.

v. Cellules immunitaires

L'intégrité du système immunitaire est indispensable pour le maintien d'une stéroïdogénèse adaptée.

Le système immunitaire influence l'axe hypothalamo-hypophysaire en stimulant la sécrétion de CRH et d'ACTH. Il existe deux principales sources de cytokines : les cellules immunocompétentes locales (macrophages, mastocytes, monocytes, lymphocytes) et les cellules surrénaliennes elles-mêmes (Bornstein SR et coll, 2004).

Le cortex surrénalien est fortement infiltré par des macrophages. Ces derniers sont retrouvés en priorité dans la zone réticulée, proche de la médulla. En plus de leur fonction de phagocytose, ils sont capables de sécréter des cytokines (IL6, IL1, TNF α) et des peptides (VIP, TGF β) lorsque qu'ils sont activés. Certaines cytokines vont avoir une action stimulante, d'autres une action inhibitrice. Les lymphocytes sont connus pour produire de l'ACTH mais les quantités libérées sont probablement trop faibles pour influencer la stéroïdogénèse, sauf en cas d'infection virale.

Les cytokines peuvent également être produites par les cellules surrénaliennes elles-mêmes. L'ARNm de l'**IL1** est prédominant dans les cellules de la zone réticulée. La synthèse de cette cytokine est modulée par le CRH et l'ACTH intra-surréniens, ainsi que par les catécholamines provenant de la médulla. Son action est de favoriser la libération de glucocorticoïdes et d'inhiber la stimulation provoquée par l'angiotensine II sur l'aldostérone. Elle est indépendante de l'ACTH systémique.

L'ARNm de l'**IL6** quant à lui, est exprimé à la fois dans la zone réticulée et dans la médulla. Cette cytokine favorise la libération de cortisol et d'androgènes par son action directe sur la surrénale ; et d'ACTH en stimulant l'axe hypothalamo-hypophysaire. Elle permet le maintien d'une sécrétion suffisante de cortisol au cours d'un stress.

Le **TNF α** inhibe la sécrétion d'aldostérone induite par la stimulation de l'ACTH et de l'angiotensine II chez le rat.

Le **TGFβ1** est reconnu comme un régulateur de la différenciation cellulaire, de la migration cellulaire, de la formation de matrice extracellulaire, de l'immunosuppression, de l'angiogenèse et de la stéroïdogénèse. Il apparaît comme un puissant inhibiteur de la sécrétion de stéroïdes. La diminution de production de cortisol serait due à une inhibition de la 11-βHydroxylase.

D. Sérotonine et surrénale.

i. En physiologie

La **sérotonine** (5-HT) est un peptide synthétisé à partir du tryptophane par la tryptophane hydroxylase dans les mastocytes périvasculaires. Ceux-ci sont localisés dans la région sous-capsulaire du cortex surrénalien. La régulation de sa libération reste encore à ce jour peu connue. Il semblerait qu'elle soit favorisée par l'activation du système nerveux sympathique au cours d'une réaction allergique ou d'une inflammation (Lefebvre H et coll, 2014 et 2015). Elle peut être associée à la libération de l'histamine et des cytokines. Elle est ensuite métabolisée via une désamination oxydative par la monoamine oxydase A (MAO A) en composés inactifs tels que l'acide 5-Hydroxyindolacétique (5-HIAA) et le 5-hydroxytryptophol (5-HTOL). La MAO-A est principalement exprimée dans les cellules chromaffines.

La sérotonine agit également en périphérie à différents niveaux. Dans le tube digestif, elle est sécrétée par les cellules entérochromaffines en réponse à la stimulation des fibres nerveuses. En se fixant sur son récepteur (5-HT₄), elle déclenche le réflexe péristaltique et accélère le transit intestinal (Bharucha AE et coll, 2000). Des récepteurs 5-HT₄ sont également localisés dans le muscle vésical, et favorisent la contraction musculaire induite par l'activation des fibres cholinergiques. Sur le myocarde, la sérotonine induit via ce même récepteur, une tachycardie et un effet inotrope positif. Enfin, elle régule le tonus des muscles lisses des vaisseaux (Hegde SS et coll, 1996).

La sérotonine régule la sécrétion de corticostéroïdes en agissant à plusieurs niveaux de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien. Elle favorise la sécrétion de CRH au niveau hypothalamique et d'ACTH au niveau hypophysaire. Le tonus sérotoninergique semble jouer un rôle physiologique important dans la régulation surrénalienne. Il a été montré que la 5-HT était impliquée dans la périodicité circadienne de la sécrétion d'ACTH (Contesse V. et coll, 2000) et dans la réponse des cellules corticotropes au stress (Chen GL. et coll, 2012). Sept grands types de récepteurs sérotoninergiques ont été décrits. Il s'agit de récepteurs transmembranaires couplés à une protéine G, à l'exception du 5-HT₃ qui est un récepteur canal. Le type de récepteur impliqué peut différer selon l'espèce étudiée.

Chez l'homme, les récepteurs mis en jeu au niveau hypophysaire sont les récepteurs 5-HT₁ et 5-HT₂.

La sérotonine est également capable de stimuler la sécrétion rénale de rénine et donc d'activer la sécrétion d'aldostérone via le système rénine-angiotensine. Ainsi, l'équipe d'Ahmed AH a montré que la sécrétion de rénine s'élevait in vivo chez des volontaires sains et des patients dépressifs après administration de sérotonine ou de ses précurseurs, ou après prise d'inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (Ahmed AH et coll, 2011). Les récepteurs sérotoninergiques localisés sur l'appareil juxta-glomérulaire ne sont pas connus chez l'homme. Ils appartiennent aux types 5-HT_{1b}, 5-HT_{2a}/5-HT_{2c} chez le rat.

En plus de ces actions indirectes, la 5-HT agit directement sur la surrénale par un mécanisme paracrine. La sérotonine est synthétisée localement par les mastocytes sous-capsulaires qui établissent des connexions avec les terminaisons nerveuses entrant dans la corticale. La libération de sérotonine est probablement liée à l'activation du système sympathique. Elle favorise la synthèse de glucocorticoïdes en activant la voie de l'AMPc/PKA. La sécrétion de corticostéroïdes est alors stimulée lorsque la sérotonine se fixe sur ses récepteurs 5-HT₄ surrénaliens, positivement couplés à l'adénylate cyclase et à l'influx calcique. Le récepteur 5-HT₄ est formé de 7 domaines transmembranaires couplés à la protéine G. Il est décliné en 5 isoformes ayant une longueur et une structure C-terminale différentes. L'ARNm des récepteurs 5-HT₄ est principalement localisé dans la zone glomérulée et plus faiblement exprimé dans les autres couches corticales. Une étude a montré en 1996 que l'administration d'un agoniste des récepteurs 5-HT₄ (zacopride)

induisait une stimulation dose-dépendante d'aldostérone alors que l'axe hypothalamo-hypophysaire était bloqué par la dexaméthasone (Lefebvre H et coll, 1996). Le zacopride n'influa pas non plus sur le système rénine-angiotensine. D'autres études ont montré que la prise d'autres agonistes des récepteurs 5-HT₄ (métoclopramide, cisapride) ou d'inhibiteur de recapture de la sérotonine stimulait la sécrétion d'aldostérone sans influencer celle de cortisol, de rénine ou d'ACTH chez des volontaires sains (Carey RM. et coll, 1980 ; Lefebvre H. et coll 2014). Ceci suggère que la réponse de la sécrétion d'aldostérone est liée à la stimulation directe des récepteurs 5-HT₄ surrénaliens sur les cellules de la zone glomérulée.

Il est possible que la 5-HT agisse également de manière indirecte en modulant le débit sanguin des artères surrénaliennes et/ou en activant la production de cytokines par les cellules corticosurrénaliennes elles-mêmes, comme cela a été démontré chez le rat (Ritchie PK et coll, 1996).

Néanmoins, le rôle physiologique de la sérotonine au niveau surrénalien est mal connu.

ii. En pathologie.

Depuis de nombreuses années, les hyperplasies surrénaliennes responsables d'hyperaldostéronisme et d'hypercorticisme étaient considérées comme autonomes du fait de la suppression des sécrétions de rénine et d'ACTH par l'excès de stéroïdes. Des progrès sur ce sujet ont été effectués depuis les années 1990s quand plusieurs études ont démontré que l'hypersecretion de corticostéroïdes pouvait être liée à l'expression anormale de récepteurs sur les cellules hyperplasiques (GIP, LH...), ces récepteurs étant normalement absents dans la surrénale saine. Ils étaient de ce fait qualifiés d'illicites ou d'illégitimes.

Des études récentes indiquent que la sérotonine pourrait avoir un rôle physiopathologique dans le développement des hyperplasies et tumeurs surrénaliennes. En effet, des observations ont indiqué que la production de sérotonine était accrue dans certains cas d'hyperplasie corticosurrénalienne ou de tumeur, provoquant une hypersecretion de cortisol et d'aldostérone.

Dans les d'adénomes surrénaliens producteurs d'aldostérone (APA) ou adénome de Conn, on observe une augmentation de la densité des mastocytes, en comparaison avec une surrénale normale, responsable d'une augmentation de sécrétion de sérotonine et donc d'aldostérone. Cette prolifération mastocytaire serait la conséquence d'une surexpression de certains facteurs de croissance (SCF) par les cellules adénomateuses. Alors que la sérotonine est uniquement sécrétée par les mastocytes dans la surrénale normale, on retrouve des sous-populations de cellules stéroïdogènes capables de synthétiser de la 5-HT dans les adénomes de Conn. Un mécanisme de régulation autocrine s'ajoute donc à la régulation paracrine.

Parmi les cas de syndrome de Cushing, 10% sont liés à une hyperplasie bilatérale des surrénales. Là encore, on retrouve des sous-populations de cellules stéroïdogènes capables de synthétiser de la 5-HT dans les hyperplasies macronodulaires bilatérales des surrénales (HMBS). De plus, l'ARNm du récepteur 5-HT₄ est surexprimé dans les HMBS (Cartier D et coll, 2005). L'équipe d'A. Lacroix a montré en 1999 que certains présentaient une élévation de la sécrétion de cortisol suite à l'administration de cisapride. Des récepteurs 5-HT₄ sont surexprimés dans toutes les couches de la corticale au niveau des tissus hyperplasiques, notamment dans la zone fasciculée (Mannelli et coll, 2003). Il semblerait que les récepteurs 5-HT₄ eutopiques soient également surreprésentés, ou acquièrent une fonction anormale dans les cellules de la zone glomérulée selon l'isoforme exprimé. Il en résulte une réponse exagérée de la sécrétion de cortisol lors de l'administration de métoprolol.

Les profils d'expression des isoformes du récepteur 5-HT₄ sont en outre différents entre la surrénale normale et les tissus d'HMBS en lien avec un probable défaut d'épissage de l'ARNm. Ces anomalies moléculaires pourraient être en partie responsables des réponses anormales observées chez les patients lors des tests de stimulation par les agonistes 5-HT₄.

Les hypertrophies macronodulaires des surrénales sont aussi caractérisées par la présence de récepteurs illicites sur les cellules corticosurrénaliennes (GIP, V1-vasopressine, LH-HCG).

D'autres récepteurs ectopiques, notamment le 5-HT₇ visibles habituellement dans les parois artérielles surrénaliennes, ont été retrouvés dans les HMBS. Ces récepteurs participent à l'hyperstimulation de sécrétion de cortisol.

Il semblerait donc que le récepteur 5-HT₄ ne soit pas le seul responsable de la stimulation de sécrétion des corticostéroïdes.

Plus rarement, la sérotonine agit de façon paradoxale en inhibant la sécrétion de cortisol dans certains cas de tumeurs bénignes corticosurréaliennes (Louiset E et coll, 2004). Le mécanisme physiopathologique impliqué dans ce cas serait une expression d'un récepteur ectopique de la 5-HT négativement couplé à l'adénylate cyclase, comme le 5-HT₁, ou un couplage anormal du récepteur eutopique 5-HT₄.

L'activation du tonus sérotoninergique intra-surrénalien ne parait pas résulter exclusivement d'un processus tumoral. En effet, chez le rat, il a été montré qu'un stress prolongé pouvait provoquer une surexpression du récepteur sérotoninergique surrénalien eutopique (dans le cas présent : 5-HT₇) ainsi qu'une synthèse anormale de 5-HT dans le cortex. La régulation paracrine de la surrénale par la sérotonine a également été décrite chez des invertébrés indiquant que ce processus a été conservé au cours de l'évolution.

iii. Implications thérapeutiques

Au vu de ces données, les mastocytes semblent avoir un rôle important dans la physiopathologie de l'hyperaldostéronisme primaire via la libération de sérotonine.

Bien qu'il s'agisse d'un enjeu important de santé publique, le traitement médical de l'hyperaldostéronisme par les anti-aldostérones est peu efficace et présente de nombreux effets indésirables chez l'homme. En effet, la spironolactone n'est pas spécifique des récepteurs aux minéralocorticoïdes et se fixe également sur les récepteurs aux androgènes. Elle provoque ainsi des gynécomasties et des troubles de libido (Pitt B. et coll, 1999). L'éplérenone, qui est le traitement de seconde intention, est moins efficace sur le contrôle de la pression artérielle et les complications cardio-vasculaires mais présente moins d'effets indésirables. Elle n'a cependant pas l'AMM pour le traitement de l'hyperaldostéronisme primaire. Enfin, l'amiloride est le traitement alternatif en cas d'impossibilité d'utiliser les deux précédents. Il s'agit d'un inhibiteur du canal sodique du tubule rénal. Il permet la

réduction de la pression artérielle et la correction de l'hypokaliémie mais ne prévient pas de la toxicité directe de l'aldostérone sur le cœur, les vaisseaux et les reins.

A l'heure actuelle, le traitement proposé en cas d'inefficacité du traitement médical ou de sa mauvaise tolérance est la surrénalectomie unilatérale. Cependant, elle pose le problème du risque opératoire.

Parmi les complications de l'hyperaldostéronisme primaire, on retrouve le syndrome métabolique, non lié au degré d'hypertension. Il est défini par une pression artérielle élevée, une élévation du périmètre abdominal (reflet de l'adiposité abdominale), un faible taux de HDL-cholestérol, une élévation du LDL-cholestérol et de la glycémie. L'élément du syndrome métabolique le plus influencé par l'hyperaldostéronisme est la régulation de la glycémie (Fallo F. et coll, 2006). De nombreuses études avaient déjà mis en évidence une intolérance au glucose liée à un défaut d'insulinosécrétion et à une insulino-résistance lors d'une sécrétion excessive de minéralocorticoïdes. Cette insulino-résistance était initialement attribuée à l'hypokaliémie, perturbant la liaison de l'insuline sur ses récepteurs. Cependant, ce mécanisme n'est pas clair dans l'hyperaldostéronisme primaire. Ainsi, dans une étude expérimentale, il a été démontré que le potassium extracellulaire stimulait la synthèse d'insuline sur les cellules β pancréatiques. La concentration plasmatique de potassium serait donc impliquée dans la régulation de synthèse d'insuline.

Les complications cardio-vasculaires peuvent également être la conséquence d'un effet direct de l'aldostérone sur le cœur et les vaisseaux. L'hyperaldostéronisme primaire a une prévalence plus élevée d'hypertrophie ventriculaire gauche. La sécrétion excessive d'aldostérone provoque des modifications structurelles et fonctionnelles sur le plan cardiaque même en l'absence d'hypertension artérielle (Stowasser M. et coll, 2005). L'hypertrophie ventriculaire gauche est environ deux fois plus fréquente que dans l'hypertension essentielle (Savard S. et coll, 2013). L'excès de risque serait lié aux effets proinflammatoire, prothrombotique, et profibrotique de l'aldostérone. Il en résulterait un stress oxydatif, une dysfonction endothéliale, une inflammation locale, un remodelage du myocarde avec hypertrophie et fibrose indépendamment de la sévérité de l'hypertension. L'action de l'aldostérone sur le tissu myocardique favoriserait également des troubles du rythme tels que la fibrillation atriale (prévalence 12 fois plus importante ; Freel EM et coll,

2012). L'élévation du risque de mortalité résulterait du remodelage et de la fibrose du myocarde.

Les reins sont également exposés aux dommages provoqués par l'excès de sécrétion d'aldostérone (Séchi AL. et coll, 2009). Ainsi, l'aldostérone contribue à un remodelage vasculaire intra-rénal et provoque une augmentation du flux sanguin intra-parenchymateux. Les minéralocorticoïdes ont un effet direct sur les vaisseaux en favorisant la vasodilatation des artérioles afférentes et efférentes du glomérule rénal ayant pour conséquence une diminution de la résistance vasculaire intra-rénale. La microalbuminurie en est un marqueur précoce. Il n'existe cependant pas d'hyperfiltration, probablement du fait d'une perte de néphrons.

Enfin, les accidents vasculaires cérébraux montrent une prévalence quatre fois supérieure dans les cas d'hyperaldostéronisme primaire par rapport aux hypertensions simples. Il s'agit autant d'accidents vasculaires hémorragiques qu'ischémiques. Le mécanisme physiopathologique le plus probable serait une atteinte vasculaire induite par l'aldostérone. En effet, l'aldostérone provoque une dysfonction endothéliale indépendante du degré d'hypertension artérielle, qui a pour conséquence une inflammation microvasculaire au niveau cérébral (Milliez P. et coll ; 2005).

De nouvelles thérapeutiques sont en cours d'élaboration dans le but de contrôler l'excès de sécrétion d'aldostérone. Dans ce cadre, les systèmes paracrines intra-surréniens constituent des cibles pertinentes.

Des antagonistes des récepteurs du TNF α (etanercept, infliximab) ont été testés dans l'insuffisance cardiaque afin de réduire l'aldostérone plasmatique, sans preuve de leur efficacité pour le moment (Sata Y et coll, 2010). Il en est de même pour les antagonistes non sélectifs des récepteurs de l'endothéline ou les antagonistes de la vasopressine dans l'hyperaldostéronisme primaire (Perraudin V et coll, 2006). Comme les lésions surréniennes sécrétant du cortisol expriment fréquemment les récepteurs de la 5-HT, la stratégie logique serait de diminuer le tonus sérotoninergique.

Ainsi, les inhibiteurs de la tryptophane hydroxylase ou les antagonistes spécifiques des récepteurs 5-HT $_4$ pourraient représenter une alternative à la chirurgie. Un inhibiteur de la

tryptophane hydroxylase (nommé LX-1031), déjà utilisé dans des essais thérapeutiques sur des patients atteints de syndrome carcinoïde, pourrait notamment être testé chez des patients atteints d'hyperaldostéronisme primaire (Camilleri M et coll, 2011).

2. La L-Lysine

A. Généralités

La L-Lysine est un acide aminé essentiel retrouvé dans l'alimentation, en particulier dans le blé, le maïs, et les haricots. Elle ne peut être synthétisée de façon endogène par l'organisme. Son métabolisme s'effectue principalement dans le cerveau et le foie. La L-Lysine circulante est transportée à travers la barrière hémato-encéphalique et est métabolisée en acide α -aminoadipique.

Dans le cerveau, la L-Lysine et ses métabolites peuvent interagir avec de nombreux récepteurs neuronaux incluant les récepteurs aux benzodiazépines et les récepteurs couplés aux protéines G (Tsurugizawa T. et coll, 2013).

Un déficit en L-Lysine provoque une augmentation du tonus sérotoninergique et une dysrégulation de la libération circadienne de la noradrénaline au niveau de l'hypothalamus. Sur le plan clinique, il induit des signes non-spécifiques de carence en protéines tels qu'une diminution de résistance aux maladies et un retard de croissance chez l'enfant. Le risque d'apport inadéquat en L-Lysine est plus élevé dans les groupes de faible niveau socio-économique.

B. Effets de la L-Lysine mis en évidence

i. Sur le tractus digestif

Le stress peut induire des désordres intestinaux par le biais de la sérotonine, comme c'est le cas dans le syndrome de l'intestin irritable. Des récepteurs 5-HT₄ ont été retrouvés dans le tractus digestif. L'utilisation d'agonistes de ces récepteurs provoque une contraction excessive du muscle lisse intestinal, alors que les antagonistes ralentissent le transit.

La L-Lysine aurait tendance à réduire les manifestations digestives induites par le stress chez la souris et diminuerait la sévérité des diarrhées. Son action semble donc similaire à celle des antagonistes des récepteurs 5-HT₄.

Ghosh et coll. ont montré qu'une supplémentation en L-Lysine dans une population du Ghana diminuait l'incidence des diarrhées, leur durée, et allongeait le temps entre deux crises (Ghosh et coll. 2010). La diminution de l'incidence des diarrhées pourrait être liée à la réparation plus rapide des parois du tube digestif en cas d'agression par le rotavirus.

L'étude de Baruffol et coll. a révélé que l'apport en L-Lysine retardait la vidange gastrique mais induisait une augmentation de la sécrétion de liquide par l'estomac, une augmentation de sécrétion biliaire et pancréatique, et une réduction d'absorption intestinale. Ces observations seraient dépendantes de la dose d'acide aminé administrée (Baruffol C. et coll, 2014). Le mécanisme de cette modulation reste encore inconnu. La L-Lysine agirait par l'intermédiaire du système nerveux sympathique.

ii. Sur l'anxiété

L'élévation des hormones du stress contribue au développement de pathologies périphériques. Le stress est dépendant de facteurs génétiques mais aussi de paramètres exogènes comme le type d'alimentation (consommation de micronutriments essentiels agissant comme des neurotransmetteurs : L-tryptophane, L-tyrosine, L-Lysine). L'anxiété induite par un stress est secondaire à une réponse inappropriée de la sérotonine centrale ou périphérique (SMRIGA et coll, 2003). En effet, les récepteurs 5-HT₄, situés dans le tractus digestif et le système limbique, jouent un rôle pro-stress afin de mobiliser l'énergie

nécessaire en réponse à un stimulus. L'utilisation d'agonistes des récepteurs 5-HT₄ a montré une augmentation de la transmission cholinergique. A l'inverse, l'application d'antagonistes des récepteurs 5-HT₄ prévient les désagréments liés au stress. Ils bloqueraient la sécrétion de cortisol par la surrénale, et diminueraient la tachycardie induite par la sérotonine en cas d'anxiété.

Chez la souris, la L-Lysine émousserait l'anxiété tandis qu'un régime pauvre en L-Lysine l'augmenterait. L'hypothèse est donc que la L-Lysine pourrait agir comme un antagoniste partiel des récepteurs 5-HT₄. Son effet est dose-dépendante et ne serait efficace qu'à des doses supra-physiologiques.

Ghosh et coll. ont pu mettre en évidence un effet indirect de la L-Lysine sur la réduction du stress au long terme dans une population du Ghana ayant bénéficié d'une supplémentation en L-Lysine.

iii. Sur le système nerveux central

La L-Lysine a démontré des propriétés anticonvulsivantes lors de convulsions induites par le pentylentetrazol (PTZ) chez la souris (Chang YF et coll, 1995). Ceci est corrélé à l'amélioration de la fixation d'une benzodiazépine (le flunitrazepam) sur son récepteur. Cette action est dépendante de la concentration locale d'ions chlorures. Cette propriété s'additionne à l'effet du système GABAergique, lui-même stimulé par le système nerveux central, mais n'est que partiellement freiné par les antagonistes GABA. La L-Lysine serait donc un agoniste partiel des récepteurs aux benzodiazépines.

iv. Sur la surrénale

Smriga M et coll. ont étudié l'effet de la L-Lysine sur la sécrétion des hormones de stress, notamment le cortisol (Smriga et coll, 2007). Une diminution du taux basal de cortisol salivaire et du taux de chromogranine A (représentatif de l'activation des neurones adrénergiques) ont été observés chez l'homme et non chez la femme. Il semblerait que la

L-Lysine permette de réduire la réponse surrénalienne au stress en diminuant la sécrétion basale de cortisol et de chromogranine A. Elle agirait comme un antagoniste partiel des récepteurs 5-HT₄ et un agoniste partiel des benzodiazépines. La différence entre les genres est encore mal expliquée à ce jour : valeurs inférieures de cortisol salivaire de base chez la femme ? Influence du cycle menstruel ?

v. Implication en physiopathologie

L'utilisation de la L-Lysine est sûre. Elle est fréquemment utilisée comme complément alimentaire et n'a pas montré d'effet indésirable, même à forte dose.

Elle pourrait être utilisée pour réduire les symptômes liés au stress, contrôler la sécrétion basale de cortisol, améliorer la symptomatologie digestive dans le syndrome de l'intestin irritable et agir en complément des traitements anticonvulsivants.

3. But de l'étude

A l'heure actuelle, il n'existe pas d'antagoniste synthétique du récepteur 5-HT₄ utilisable dans les études cliniques.

Le but de ce travail est d'évaluer l'action d'un acide aminé essentiel (la L-Lysine) sur la sécrétion surrénalienne de corticostéroïdes en utilisant ses propriétés antagonistes des récepteurs de type 4 de la sérotonine (5-HT₄).

Cette étude de type « preuve de concept » nous permettra :

1/ de vérifier que la L-Lysine est bien capable de bloquer in vivo le récepteur 5-HT₄ corticosurrénalien, en évaluant l'impact de la L-Lysine sur la réponse de l'aldostérone à un agoniste 5-HT₄ synthétique, le métoclopramide.

2/ de vérifier que les sécrétions de corticostéroïdes sont bien soumises in vivo à un tonus sérotoninergique stimulant

3/ de déterminer dans quelle(s) situation(s) physiologique(s) le contrôle sérotoninergique des sécrétions corticosurréaliennes est mis en jeu. Dans ce cadre, nous avons notamment évalué l'implication de la sérotonine dans la réponse de l'aldostérone à l'orthostatisme et au régime désodé.

Selon notre hypothèse de travail, l'augmentation de l'apport en L-Lysine devrait logiquement favoriser une baisse de concentration de corticostéroïdes. Une telle observation ouvrirait des perspectives thérapeutiques intéressantes, notamment dans la prise en charge des pathologies cardiovasculaires impliquant l'aldostérone et de certains hypercortisolismes.

MATERIEL ET METHODES

1. Caractéristiques de l'étude

Il s'agit d'une étude pilote, prospective, monocentrique, randomisée menée chez des volontaires sains, en double insu, et en cross over contre placebo. Son but est de préciser l'impact de la L-Lysine sur la fonction corticosurrénalienne par la sérotonine.

La L-Lysine a été administrée à la dose de 4.95g/j *per os* pendant 11 jours chez 20 volontaires sains sous couvert de dosages répétés de cortisol et d'aldostérone. Les patients ont reçu successivement et dans un ordre aléatoire de la L-Lysine ou un placebo. Un wash out de une à trois semaines a été respecté entre les deux épreuves.

2. Traitement de l'étude

A. Substance test

La L-Lysine est un acide aminé basique essentiel. Elle a été isolée pour la première fois en 1889 à partir de la caséine (protéine du lait). L'organisme humain ne peut la produire, elle doit donc être apportée dans l'alimentation (viande, poisson, œuf, produits laitiers, certaines céréales). La carence en L-Lysine est extrêmement rare dans les pays industrialisés. Les apports recommandés sont d'environ 1g par jour, en prévention notamment des récurrences des infections à virus herpès simplex.

Le monohydrate de L-Lysine est commercialisé sous forme de gélules dosées à 500mg, sans prescription médicale. La L-Lysine se comporte *in vitro* et *in vivo* comme un antagoniste partiel du récepteur 5-HT₄ de la sérotonine. Des doses allant jusqu'à 10g/j ont été testées et n'ont pas montré d'effet adverse particulier.

Dans cette étude, la L-Lysine a été administrée par voie orale à la dose de 4,95g/j, sous forme de gélules dosées à 0,55g, réparties en 3 prises au moment du repas (soit 3 comprimés matin, midi et soir). Ces gélules ont été fabriquées de façon magistrale par la pharmacie hospitalière du CHU Charles Nicole (ROUEN) sous la responsabilité du Dr Coquard, et conditionnées en lots thérapeutiques sous la responsabilité du Dr Donnadiou.

La poudre de monochlorhydrate de L-Lysine a été achetée auprès de la société COOPER (Paris, France) en flacons de 250g. Les gélules de placebo (à base de lactose) ont également été fabriquées par la pharmacie hospitalière pour être indiscernables des gélules de L-Lysine.

B. Médicaments interdits pendant l'étude.

Pendant toute la durée de l'étude, il a été demandé aux sujets de ne prendre aucun médicaments susceptibles de modifier les critères de jugements : corticostéroïdes, diurétiques, anti-aldostérone, alpha et bêta-bloquants, antihypertenseurs centraux, anticalciques, inhibiteurs de l'enzyme de conversion, antagonistes du récepteur AT1 de l'angiotensine.

C. Suivi de l'observance du traitement.

L'observance du traitement a été vérifiée par l'investigateur par le biais de l'interrogatoire et de la comptabilité des gélules au retour des unités thérapeutiques.

3. Patients étudiés

A. Taille de l'échantillon

Le nombre de volontaires à inclure dans l'étude a fait l'objet d'une réflexion concertée. Compte tenu du type d'étude (essai pilote de type « preuve de concept ») et de l'absence de données cliniques antérieures sur ce thème, il est apparu qu'aucune modélisation statistique ne pouvait permettre de fixer rigoureusement le nombre de sujets à explorer.

Malgré tout, un essai similaire utilisant un autre antagoniste de la sérotonine (le pilosero) a montré que des variations significatives de l'aldostéronémie pouvaient être observées au sein d'un échantillon de 18 volontaires (Bharucha et coll., 2000).

Le nombre de sujets retenus pour la présente étude a donc été fixé à 20. Chaque volontaire a reçu la L-Lysine et le placebo dans un ordre aléatoire.

Les sujets ont été recrutés à partir du fichier des volontaires sains du CIC-CRB 1204 et n'ont donc eu aucun bénéfice médical à participer à cette étude.

B. Critères d'inclusion

- sujets de sexe masculin
- âgés de 18 à 45 ans,
- ayant donné par écrit leur consentement libre et éclairé pour participer à l'essai,
- ayant un index pondéral [poids (kg) /taille² (m)] inférieur à 27,
- n'ayant pas reçu de traitement susceptible d'influencer l'axe rénine-angiotensine-aldostérone (diurétique, β -bloquant, anti-aldostérone, IEC et inhibiteurs de la rénine) au cours des 6 semaines précédant l'inclusion,
 - sans perturbation du cycle nyctéméral (n'effectuant pas de travail de nuit)
 - sans affection cliniquement décelable après mesure de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle, examen clinique complet, et enregistrement électrocardiographique,
 - Pression artérielle normale (au MAPA, Mesure Ambulatoire de la Pression Artérielle, PAS jour moyenne < 135 mm Hg et PAD jour moyenne < 85 mm Hg)
- Ne présentant pas de perturbation des examens biologiques suivants: NFS, ionogramme sanguin (natrémie, kaliémie, chlorémie et réserve alcaline), urée, créatinine, rénine et aldostérone ; et urinaires (créatinine, aldostérone et cortisol libre urinaires).
- ayant des sérologies HIV et hépatites B et C négatives,
- n'ayant pas participé à un essai thérapeutique au cours des trois mois précédant l'étude.

C. Critères d'exclusion

- antécédents médicaux ou chirurgicaux sévères en particulier endocriniens,
- insuffisance hépatique ou rénale,
- syndrome néphrotique,
- syndrome œdémateux,
- hypertension ou hypotension artérielle orthostatique,
- troubles du rythme ou de la conduction cardiaque,
- insuffisance cardiaque,
- affection psychiatrique grave,
- antécédent allergique sévère, allergie au primpéran[®] ou au synacthène[®]
- acidose hyperchlorémique
- impossibilité de participer à la totalité de l'étude (déménagement, ...).
- patients ayant des problèmes héréditaires d'intolérance au fructose, de malabsorption du glucose-galactose, ou de déficit en sucrase-isomaltase,
 - personnes ayant une intolérance au lactose
 - syndromes de malabsorption intestinale
 - diarrhée chronique

4. Critères de jugement.

L'effet de la L-Lysine sur les sécrétions corticosurréaliennes a été évalué en mesurant les concentrations d'aldostérone (critère principal), de rénine, d'électrolytes et cortisol (critères secondaires) plasmatiques à l'état basal et après stimulation, par comparaison avec l'épreuve placebo. La mesure de la cortisolémie a eu l'intérêt de permettre le calcul du rapport aldostéronémie/cortisolémie. Cet index facilite en effet l'interprétation des données concernant la fonction minéralocorticoïde en excluant les variations d'aldostéronémie liées au cycle nycthéral de l'ACTH.

Un dosage de l'aldostéronurie et du cortisol libre urinaire sur les urines des 24 heures (critères secondaires) a également été pratiqué dans chaque groupe après 3 jours

d'administration du traitement et avant la pratique des tests de stimulation. Le dosage de la créatininurie a été associé afin de vérifier la qualité du recueil urinaire.

Le retentissement de l'administration de la L-Lysine sur le métabolisme hydro-sodé et l'axe rénine-angiotensine a été apprécié par un monitoring tensionnel (critère secondaire). Toute variation du critère principal ou des critères secondaires supérieure ou égale à 20% par comparaison avec les taux mesurés au cours de l'épreuve placebo a été considérée comme significative.

5. Déroulement de l'essai

Notre étude a été entièrement réalisée dans les locaux du Centre d'Investigation Clinique (CIC-CRB 1204) du CHU de ROUEN sur une durée de 8 mois.

Elle s'est composée de plusieurs séquences :

- Visite de pré-inclusion, 14 jours (plus ou moins 5 jours) avant le début du traitement.
- Visite d'inclusion, programmation de la date de début du traitement dans les 7 jours.
- Première période de traitement : administration journalière au cours des repas de 4,95g de L-Lysine (sous forme de 3 gélules de 0,55g matin, midi et soir) ou placebo pour une durée de 11 jours.
- Période de wash-out de une à trois semaines.
- Deuxième période de traitement : administration de L-Lysine ou placebo pendant 11 jours.

A. Organisation des visites (Figure 4)

Visite de pré-inclusion (V1) : J-14

- Vérification de la couverture Sécurité Sociale, inscription au fichier des volontaires sains
- Information et signature du consentement éclairé
- Interrogatoire (antécédents, traitements concomitants, ...)
- Examen clinique complet
- Taille, poids, fréquence cardiaque, ECG

- Mesure ambulatoire de la pression artérielle sur 24 heures
- Questionnaire alimentaire sur 3 jours consécutifs pour évaluation de la consommation quotidienne de sodium et de L-Lysine.
- Prélèvements biologiques :
 - Sanguins : NFS, ionogramme sanguin (natrémie, kaliémie, chlorémie et réserve alcalines), urémie, créatininémie, sérologies HIV et hépatites B et C, rénine et aldostérone.
 - Urinaires (urines des 24 heures) : créatinine, aldostérone et cortisol libre urinaire (CLU), sodium.
- Vérification des critères d'inclusion et de non inclusion

Visite d'inclusion (V2) : J0

- Information sur les résultats des examens biologiques et paracliniques
- Vérification des critères d'inclusion et de non inclusion au vu de l'ensemble des résultats
- Décision d'inclusion ou de non inclusion
- Prescription du traitement si inclusion
- Attribution de l'ordre des traitements par tirage au sort à la pharmacie hospitalière, délivrance du traitement pour la 1ère période.
- Prélèvement sanguin de 5ml sur tube sec et 5ml sur héparine pour vérification des données biologiques de base, si nécessaire.
- Programmation de la date de début du traitement (à débiter dans les 7 jours suivants à midi), et des visites suivantes.
- Consultation diététique : dispense des conseils pour le maintien d'une alimentation normosodée pendant l'étude, explication des modalités du régime désodé sur 3 jours

Visite 3 (V3) : J4

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants.

- Pose d'un appareil de mesure ambulatoire de la pression artérielle jusqu'au lendemain matin

Visite 4 (V4) : après 5 jours de traitement (J5)

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants.
- Vérification de l'observance (comptage des gélules)
- Récupération du recueil des urines des 24 heures débuté la veille pour dosage de l'aldostérone, du cortisol libre, du sodium et de la créatinine.
- Test d'orthostatisme : prélèvements sanguins après 2 heures d'orthostatisme et après 2 heures supplémentaires de décubitus strict pour dosage de l'aldostéronémie, réninémie, électrolytes plasmatiques et cortisolémie.

Visite 5 (V5) : après 6 jours de traitement (J6)

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants.
- Vérification de l'observance (comptage des gélules)
- Recueil d'un échantillon d'urines à conserver à -20°C en vue d'un éventuel contrôle du rapport sodium/créatinine (vérification éventuelle du suivi du régime alimentaire normosodé)
- Test au métoclopramide : injection IV de 10mg de métoclopramide, prélèvements sanguins pratiqués à T0, T30, T60, T90 et T120 pour mesure ultérieure de l'aldostérone, rénine, électrolytes et cortisol plasmatiques.

Visite 6 (V6) : après 7 jours de traitement (J7)

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants.
- Vérification de l'observance (comptage des gélules)
- Recueil d'un échantillon d'urines à conserver à -20°C en vue d'un éventuel contrôle du rapport sodium/créatinine (vérification éventuelle du suivi du régime alimentaire normosodé)

- Test au synacthène : injection IV de 0,25mg de synacthène, prélèvements sanguins à T0, T30, et T60 pour mesure ultérieure de l'aldostérone, rénine, électrolytes et cortisol plasmatiques

Visite 7 (V7) : après 8 jours de traitement (J8)

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants
- Recueil d'un échantillon d'urines à conserver à -20°C en vue d'un éventuel contrôle du rapport sodium/créatinine (vérification éventuelle du suivi du régime alimentaire normosodé)
- Test du régime hyposodé : les patients devront suivre un régime sans sel strict (10 mmol de Na/j) à partir de J8 au matin. Des prélèvements sanguins ont été pratiqués à J8 pour la mesure de l'aldostérone, rénine, électrolytes et cortisol plasmatiques. Le volontaire repart avec une glacière contenant des repas (choisis à V2) pour les 3 jours suivants.

Visite 8 (V8) : après 11 jours de traitement (J11)

- Evaluation de la tolérance du traitement, recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants
- Vérification de l'observance (comptage des gélules)
- Récupération du recueil des urines des 24 heures effectué depuis la veille au matin, dosage du sodium et de la créatinine.
- Prélèvements sanguins pour mesure ultérieure des concentrations d'aldostérone, rénine, électrolytes et cortisol plasmatiques.
- Un régime normosodé peut être repris après le bilan de J11

Un wash-out de 7 à 21 jours est prévu avant permutation des groupes.

Visite 9 (V9) : après la période de wash-out

- Recueil des effets indésirables et de la prise de traitements concomitants
- Prescription et délivrance du traitement pour la seconde période

- Recueil d'un échantillon d'urines à conserver à -20°C en vue d'un éventuel contrôle du rapport sodium/créatinine (vérification éventuelle du suivi du régime alimentaire normosodé)
- Programmation de la date de début du traitement (dans les 7 jours suivants à midi): J'O

Visite 10 (V10) : Déroulement identique à V3

Visite 11 (V11) : Déroulement identique à V4

Visite 12 (V12) : Déroulement identique à V5

Visite 13 (V13) : Déroulement identique à V6

Visite 14 (V14) : Déroulement identique à V7

Visite 15 (V15) : Déroulement identique à V8

Visite 16 (V16) : Visite de fin d'étude en cas d'arrêt prématuré

- Recueil des effets indésirables et prise de traitements concomitants
- Vérification de l'observance (comptage des gélules)
- Examen clinique orienté en fonction de la raison de la sortie prématurée de l'essai
- Prélèvement sanguin pour mesure ultérieure de l'aldostérone, rénine, électrolytes et cortisol plasmatiques.
- Recueil d'un échantillon d'urines conservé à -20°C en vue d'un éventuel contrôle du rapport sodium/créatinine (vérification éventuelle du suivi du régime alimentaire normosodé)

B. Identification et conditionnement des prélèvements veineux et urinaires.

Chaque tube ou flacon a été identifié par une étiquette mentionnant les initiales du sujet, l'épreuve concernée, la date et l'heure de prélèvement. Les prélèvements veineux ont été immédiatement centrifugés et le plasma conservé à -80°C au CIC-CRB 1204, CHU de

ROUEN. Tous les dosages hormonaux ont été effectués en même temps pour chaque paramètre mesuré au laboratoire de biochimie du CHU de ROUEN.

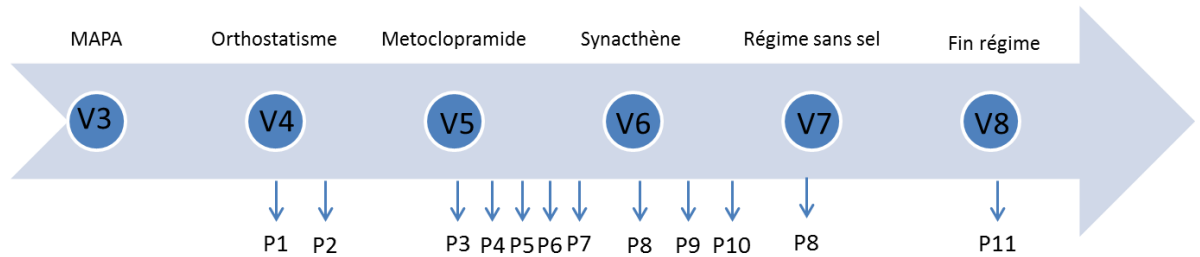
Pour l'ensemble de la période d'étude le volume sanguin total prélevé a été estimé à 310ml.

C. Sortie d'essai.

Les sorties d'études ont été réalisées dans les cas suivants :

- sujet perdu de vue
- retrait de consentement
- évènement indésirable grave entraînant une impossibilité de suivre l'essai
- absence de compliance du volontaire sain à suivre le déroulement de l'étude
- affection intercurrente sévère susceptibles d'interférer avec l'étude ou entraînant une impossibilité de la suivre.

Période 1



Période 2

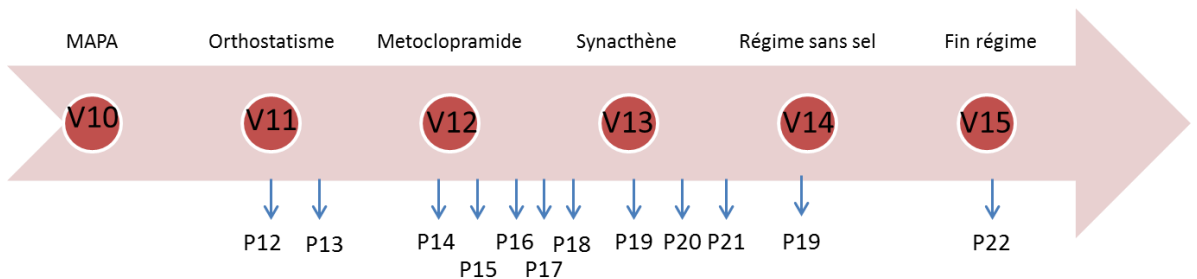


Figure 4 : Représentation schématique du déroulement des prélèvements biologiques (Pn)

6. Analyse statistique

Les données analysées ont comporté :

- Les concentrations plasmatiques d'aldostérone (critère de jugement principal),
- De rénine, des électrolytes et de cortisol (critères de jugements secondaires) à l'état basal et après stimulation (orthostatisme, métoclopramide, synacthène, régime sans sel)

La médiane des valeurs retrouvées à l'état basal des tests d'orthostatisme, métopropramide et synacthène a été calculée pour les patients sous lysine et sous placebo dans chaque période.

Pour chaque test de stimulation, les paramètres utilisés sur les données de l'aldostérone, rénine et cortisol sont :

- Le **pic** : calcul du maximum du pic entre P3 et P7 rapporté la valeur de P3 pour la première période, et maximum du pic entre P14 et P18 rapporté à la valeur de P14 pour la deuxième période.
- La **surface r0** : Valeurs de P3 à P7 préalablement rapportées à la valeur de P3 avant de calculer l'aire sous la courbe pour un temps équivalent à 1 minute pour la première période. Même principe pour la deuxième période.
- La **surface d0** : Valeurs de P3 à P7 préalablement diminuées de la valeur P3 avant de calculer l'aire sous la courbe pour un temps équivalent à 1 minute pour la première période. Même principe pour la deuxième période.

L'interprétation des données a utilisé une analyse non paramétrique de Wilcoxon avec un degré de signification inférieur à 0,05 ; permettant dans le cas d'un essai en crossover de tester les effets suivants :

- **Carryover** (ou effet de suite) : Il ne doit pas y avoir de différence significative en fin d'essai entre les sujets du groupe Lysine-Placebo (LP) et du groupe Placebo-Lysine (PL). Si cet effet est significatif, il faut comparer les groupes Placebo et Lysine uniquement à la période 1 (sur deux groupes de 10 sujets non appariés).
- **Effet période** : différence entre la période 1 et la période 2.
- **Effet traitement** : différence entre Placebo et Lysine.

Au vu des effectifs, il a été choisi un test non paramétrique plutôt qu'une analyse classique de type ANOVA qui serait équivalent au test de Student. De ce fait, les données ont été exprimées sous la forme de médiane et de déviation standard pour les valeurs obtenues à partir des dosages hormonaux.

RESULTATS

Entre le 18 Février 2011 et le 31 Janvier 2013, 20 volontaires sains de sexe masculin ont été inclus dans notre protocole. Dans cette population, l'âge moyen était de $24,8 \pm 4,16$ ans ; l'indice de masse corporel (IMC) moyen de $22,25 \pm 1,71$; la pression artérielle moyenne systolique (PAS) de $127,5 \text{ mmHg} \pm 9,55$ et la pression artérielle moyenne diastolique (PAD) de $72,9 \text{ mmHg} \pm 7,75$ (**Tableau 1**).

8 personnes se sont présentées mais n'ont pas été incluses du fait de d'un IMC limite ou d'un travail de nuit.

N° patient	Age (années)	Poids (kg)	Taille (cm)	IMC	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	FC (bpm)
Moyenne	24,8	73,39	181	22,25	127,5	72,9	68,8
Ecart-type	4,16	7,59	6,20	1,71	9,55	7,75	9,48
Minimum	20	59,9	168	19,9	108	59	47
Maximum	35	92	198	25,8	143	86	84

Tableau 1 : Caractéristiques cliniques des 20 volontaires sains au moment de l'inclusion

Sur le plan biologique, tous les patients inclus présentaient des valeurs d'aldostérone et de rénine plasmatiques normales ainsi que des ionogrammes sanguins et urinaires satisfaisants lors de la visite de pré-inclusion.

Tous les volontaires répondant aux critères d'inclusion, ont signé un formulaire de consentement éclairé, et ont respecté un régime normo-sodé (entre 5 et 6g de NaCl par jour). L'application de ce régime a été vérifiée au cours de l'essai grâce au dosage du ionogramme sanguin et urinaire.

1. Tolérance

Aucun effet indésirable grave n'a été mis en évidence dans la population étudiée durant l'étude. Aucune sortie d'étude prématurée n'a été constatée.

2. Evolution des paramètres cliniques

Les principaux paramètres cliniques de surveillance, et notamment les pressions artérielles systoliques et diastoliques n'ont pas varié de manière significative pendant l'étude (**Tableau 2**)

	Lysine		Placebo	
	PAs	PAd	PAs	PAd
Moyenne	116	66,2	115	66,1
Ecart-type	6,23	4,89	4,98	4,51
Minimum	105	59	105	59
Maximum	127,5	73	125	77,5

Tableau 2 : Pressions artérielles moyennes (mmHg) des volontaires, mesurés au quatrième jour de chaque période.

3. Evolution des paramètres hormonaux

A. Impact de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone (Tableau 4)

Les taux d'aldostérone plasmatiques ont été mesurés à l'état de base (T0), ainsi qu'après un test à la métoclopramide, un test d'orthostatisme, un test au synacthène et après régime sans sel.

A l'état basal, la L-Lysine n'a démontré aucun effet significatif sur la sécrétion d'aldostérone (**Tableau 3**)

	Orthostatisme		Métoclopramide		Synacthène	
	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo
Médiane	180,5	206,5	220,5	298	219	247
Déviation standard	143	93,6	145,7	118,4	110,1	124,7
p	0,89		0,12		0,28	

Tableau 3 : Valeurs d'aldostéronémie de base (pmol/L) au premier temps de chaque test.

Au cours du test d'orthostatisme, effectué au 5^e jour de chaque période, la lysine n'a montré aucune différence significative sur la sécrétion d'aldostérone comparativement au placebo. En effet, la médiane était de 180,5 pmol/L en position de décubitus et 613,5 pmol/L en orthostatisme pour le groupe lysine ; et de 206,5 pmol/L en décubitus, et de 536 pmol/L en orthostatisme pour le groupe Placebo. La médiane de l'aldostérone rapportée à la valeur de base était de 1 en décubitus pour les deux groupes (Déviation standard : 0) ; et de 3,021 pour le groupe Lysine (Déviation standard : 0,288) VS 2,961 pour le groupe placebo (Déviation standard : 0,312) en orthostatisme (p : 0,39)

En revanche, après administration de 10mg intraveineux de métoclopramide au 6^e jour, la lysine permet une diminution significative de la sécrétion d'aldostérone par rapport au placebo. En effet, la variation de l'aldostérone rapportée à la valeur de base dans le groupe Lysine était de 1,924 (Ecart type : 0,216) VS 2,471 dans le groupe placebo (Ecart type : 0,227) au temps 60 minutes (prélèvement P5 et P16) (p=0,035) (**Figures 5 a et b**).

Aldostérone (pmol/L)

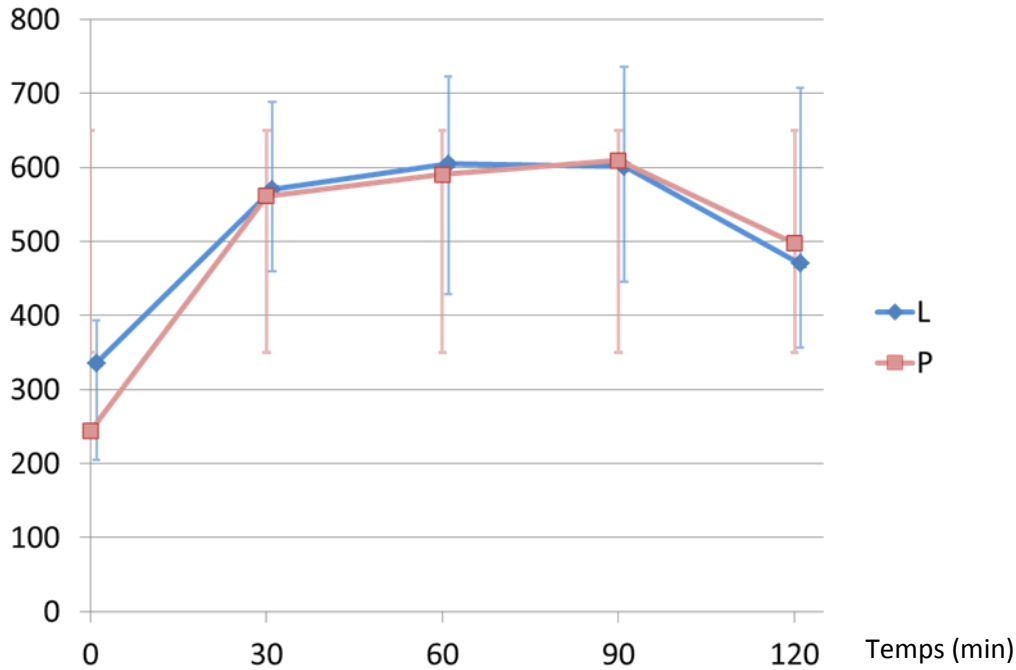


Figure 5a : Courbe représentant les médianes des valeurs d'aldostérone plasmatique (en pmol/L) au cours du test au métoclopramide en présence de L-Lysine ou de placebo.

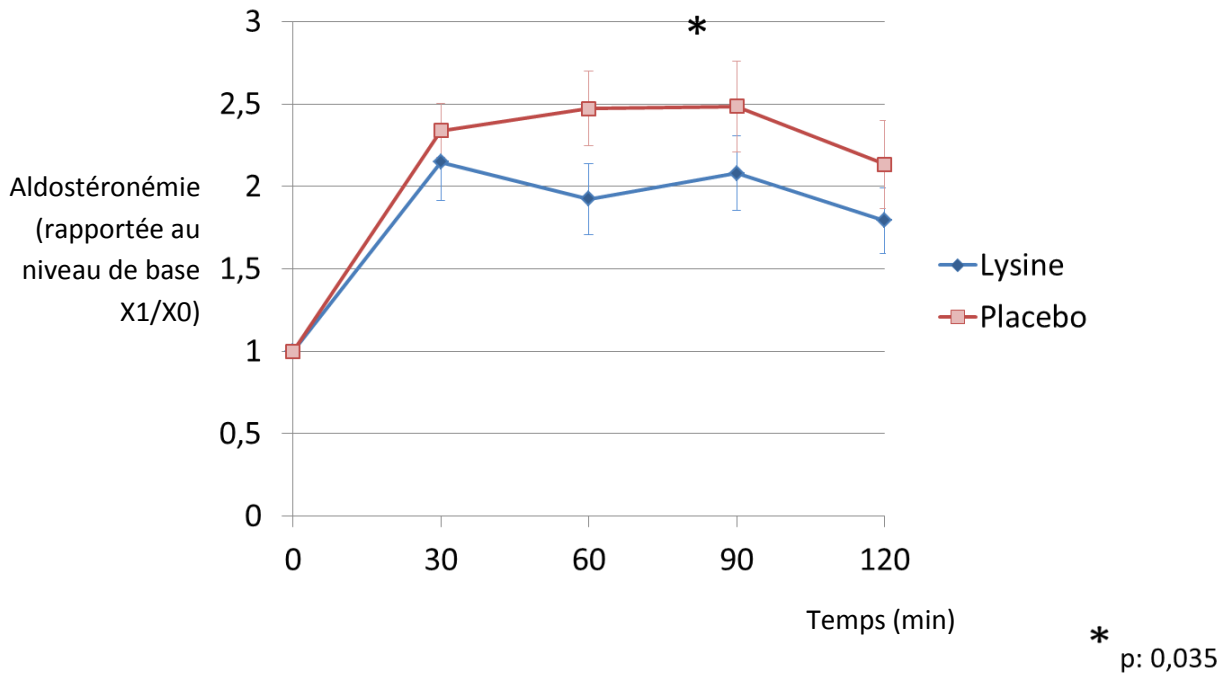


Figure 5b : Courbe représentant les variations de l'aldostéronémie après avoir été rapportée au niveau de base (X1/X0) au cours du test au métoclopramide en présence de L-Lysine ou de placebo.

Le troisième test a été réalisé après injection intraveineuse de 0,25mg de synacthène le 7^e jour. Il n'existe pas de différence significative entre la lysine et le placebo aux temps 0 minute, 30 minutes, ni 60 minutes.

Le régime désodé a été demandé au 8^e jour après l'inclusion, avec une consommation n'excédant pas 10 mmol Na par jour pendant trois jours. Aucune différence significative n'a été observée au troisième jour de ce test (prélèvements P11 et P22) sur la sécrétion d'aldostérone.

	Groupe Lysine	Groupe Placebo
Test d'orthostatisme : - Prélèvements P1, P12 - Prélèvements P2, P13	180,5 613,5	206,5 536
Test au métoclopramide : - Prélèvements P3, P14 - Prélèvements P4, P15 - Prélèvements P5, P16 - Prélèvements P6, P17 - Prélèvements P7, P18	220,5 570 604,5 601 470	298 561 594,5 609 496,5
Test au Synacthène : - Prélèvements P8, P19 - Prélèvements P9, P20 - Prélèvements P10, P21	219 708,5 621,5	247 612 633
Régime sans sel : - Début : P8 - Fin du 3 ^e jour : P11, P22	219 1022,5	247 773

Tableau 4 : Evolution de l'aldostéronémie (en pmol/L) au cours des différents tests de stimulation.

B. Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de rénine

A l'état basal, la L-Lysine n'a montré aucun effet significatif sur la sécrétion de rénine (**Tableau 5**).

	Orthostatisme		Métoclopramide		Synacthene	
	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo
Médiane	10,9	9,7	13,55	13,35	11,8	11,9
Déviaton standard	5,5	7,03	7,538	7,37	4,96	8,33
P	0,7		0,83		0,32	

Tableau 5 : Valeurs de réninémie de base (ng/L) au premier temps de chaque test.

La L-Lysine n'a pas non plus entraîné de modification sur la sécrétion de rénine, comparativement au placebo, au cours des tests d'orthostatisme, au métoclopramide, au synacthène ou après un régime sans sel.

A noter que du fait d'un effet de suite (interaction), les valeurs de la rénine n'ont pu être analysées que sur la première période.

C. Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de cortisol

A l'état basal, la L-Lysine n'a pas montré d'effet significatif sur la sécrétion basale de cortisol (**Tableau 6**).

	Orthostatisme		Métoclopramide		Synacthène	
	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo	L-Lysine	Placebo
Médiane	313	320,5	370,9	461	316	360,4
Déviations standard	75,9	101,9	96,8	111,48	120,1	106,7
P	0,74		0,73		0,17	

Tableau 6 : Valeurs de cortisolémie de base (mmol/L) au premier temps de chaque test.

La sécrétion de cortisol ne paraît pas être influencée non plus par la L-Lysine au cours des tests d'orthostatisme, synacthène et régime sans sel.

En revanche, le test au métoclopramide montre une diminution de la sécrétion de cortisol à la limite de la significativité ($p : 0,053$) au cours du traitement par L-Lysine en comparaison au placebo (**Figures 6a et 6b**). En effet, la variation de cortisolémie rapportée à la valeur de base dans le groupe Lysine était de 1,099 (Ecart-type : 0,056) VS 1,142 (Ecart type : 0,07) dans le groupe placebo.

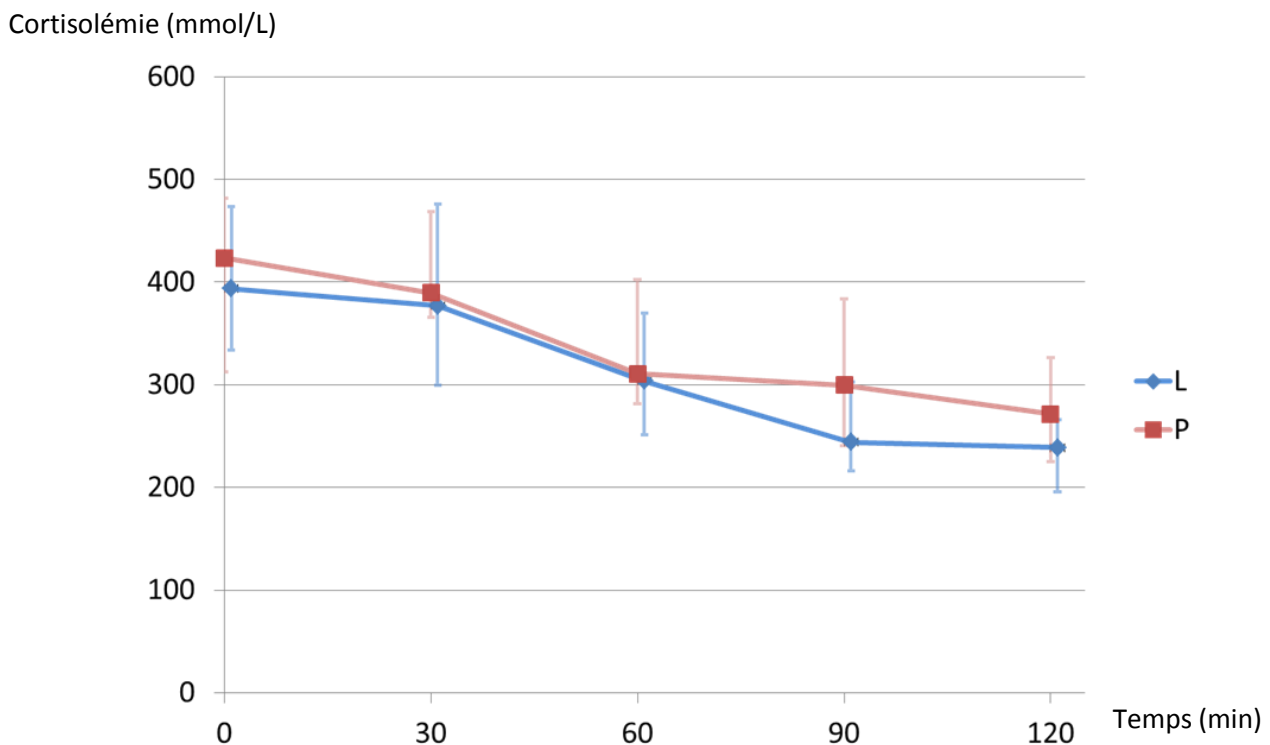


Figure 6a : Impact de la L-Lysine sur la cortisolémie au cours du test au métoclopramide. Les points représentent les médianes des cortisolémies (\pm DS) à chaque temps du test.

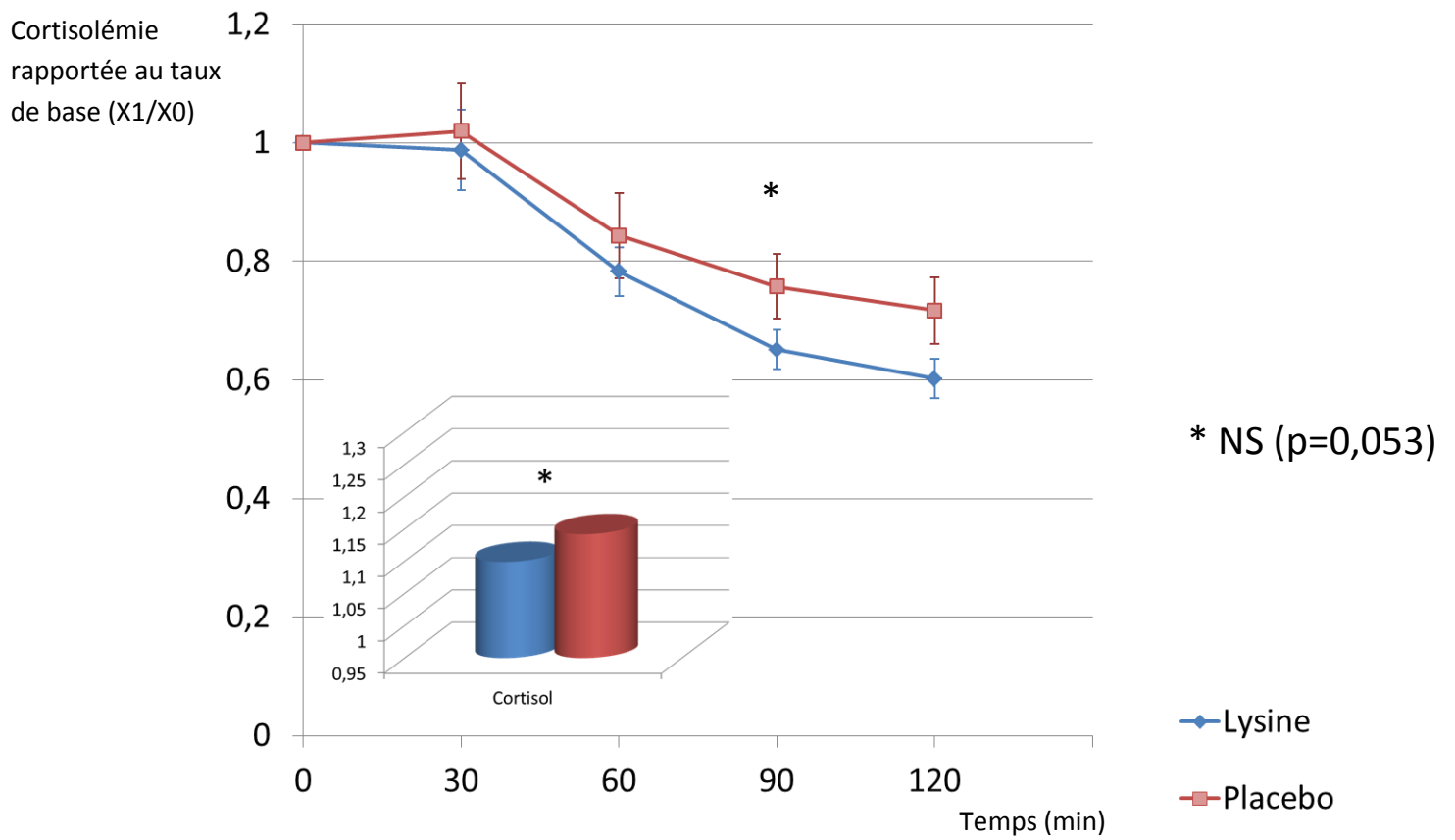


Figure 6b : Variation de la cortisolémie ramenée au taux de base (X1/X0) au cours du test au métoprolol en présence de L-Lysine et de placebo (médiane \pm DS).

DISCUSSION

Chez le rat, il a été démontré in vivo, qu'un acide aminé essentiel, la L-Lysine, était capable de réduire la réponse motrice du tube digestif au stress induit par l'administration d'un agoniste sérotoninergique de type 4. Ceci suggère que cet acide aminé serait capable d'interférer avec le récepteur 5-HT₄. L'équipe de Smriga a confirmé cette hypothèse en montrant in vitro que la L-Lysine agit comme un antagoniste partiel des récepteurs 5-HT₄ (Smriga M et coll 2003, 2004, 2007).

Chez le rat, la sérotonine est sécrétée par les cellules chromaffines et les mastocytes en réponse à une stimulation du système sympathique. Elle exerce alors une régulation paracrine positive sur la sécrétion d'aldostérone par le biais d'une action directe sur les cellules de la zone glomérulée, impliquant le récepteur 5-HT₇.

Chez l'homme, la sérotonine est exclusivement libérée par les mastocytes intra-surréaliens. Elle stimule la sécrétion d'aldostérone par l'intermédiaire de l'activation des récepteurs 5-HT₄ exprimés par les cellules de la zone glomérulée. Le rôle physiologique du mécanisme de régulation paracrine dans le contrôle de la stéroïdogénèse n'est cependant pas connu. La preuve la plus rigoureuse de l'existence d'un tonus sérotoninergique intra-surrénalien est de démontrer qu'un antagoniste spécifique des récepteurs de la 5-HT est effectivement capable de réduire la sécrétion de corticostéroïdes in vivo. Malheureusement, il n'existe pas d'antagoniste du récepteur 5-HT₄ utilisable pour un usage clinique.

Nous avons donc choisi de tester l'impact de la L-Lysine sur les sécrétions d'aldostérone et de cortisol chez un groupe de volontaires sains à l'état de base et après stimulation.

1. Impact de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone et de rénine.

D'après nos résultats, le taux d'aldostérone plasmatique de base n'est pas modifié de manière significative par la prise de L-Lysine. Il en est de même pour la sécrétion de rénine plasmatique.

L'absence d'effet significatif pourrait être liée à une mauvaise biodisponibilité de la L-Lysine dans la surrénale, ou à une puissance antagoniste insuffisante (antagoniste partiel). Il est également possible que l'absence de modification de sécrétion d'aldostérone et de rénine soit le reflet d'une absence de contrôle sérotoninergique à l'état physiologique sur ces hormones.

Afin de vérifier si ce résultat négatif était lié aux propriétés pharmacologiques de la L-Lysine, nous avons évalué l'impact de celle-ci sur la réponse de l'aldostérone au métoclopramide. Le métoclopramide (aussi connu sous le nom de Primperan®) est actuellement utilisé comme un agent antiémétique et gastroprokinétique. Des données de la littérature ont montré qu'il possède également une action stimulante sur la sécrétion d'aldostérone (Sommers K. et coll 1988), indépendamment de la sécrétion de rénine. Cette élévation d'aldostérone a

longtemps été attribuée à ses propriétés antagonistes dopaminergiques D2/D3. L'expression des récepteurs dopaminergiques, D1 like (incluant D1 et D5) et D2 like (incluant D2, D3, D4), a en effet été retrouvée dans la glande surrénale humaine, en particulier dans la zone glomérulée. Les récepteurs les plus représentés sont les D2 et D4 (Wu KD et coll, 2001). Les récepteurs D2 like sont également présents dans la medulla.

Les récepteurs D1 like sont exprimés au niveau juxta-glomérulaire sur les reins, et favoriseraient la sécrétion de rénine (Pivonello R. et coll, 2004).

Au cours d'une ancienne étude, l'infusion de métoclopramide directement dans l'artère surrénalienne de requin n'avait montré aucune efficacité sur la sécrétion d'aldostérone, ce qui suggère qu'il agit par un mécanisme indirect sur le système nerveux autonome (Sommers DK et coll, 1988). L'équipe de Pivonello R. a suggéré que la glomérulée était sous contrôle freinateur dopaminergique. En effet, de fortes concentrations de certains agonistes dopaminergiques inhibaient de façon significative le taux basal d'aldostérone (Pivonello R. et coll, 2004). Cependant, ni la bromocriptine, ni la cabergoline (agonistes dopaminergiques D2) n'influençaient la sécrétion de minéralocorticoïdes. Une autre étude a montré que la dopamine elle-même n'avait pas d'effet sur la sécrétion basale d'aldostérone mais atténuait la stimulation du métoclopramide (Carey RM et coll, 1980).

Enfin, bien que le métoclopramide active la sécrétion d'aldostérone, la domperidone (qui possède les mêmes propriétés antagonistes dopaminergiques) n'a montré aucune influence sur la production de minéralocorticoïdes (D'Arienzo A et coll, 1985). Il apparaît donc que l'effet antidopaminergique du métoclopramide n'est probablement pas le principal mécanisme impliqué dans l'action de ce dernier sur la sécrétion de l'aldostérone.

En revanche, il est bien montré que le métoclopramide se comporte comme un agoniste partiel du récepteur 5-HT₄. Cette action de type sérotoninergique est d'ailleurs impliquée dans son effet stimulant sur la production de catécholamines par les cellules chromaffines de la médullosurrénale (Guillermot J et coll, 2009). Le métoclopramide est également capable d'activer la sécrétion de cortisol par les lésions surrénaliennes, adénomes et hyperplasies macronodulaires, surexprimant le récepteur 5-HT₄. Son action corticotrope peut être inhibée in vitro par les antagonistes 5-HT₄. L'ensemble de ces données indique que l'effet du métoclopramide sur la sécrétion d'aldostérone est relayé par les récepteurs 5-HT₄ exprimés par les cellules de la zone glomérulée.

Dans notre étude, nous avons observé que la L-Lysine réduisait de façon significative la stimulation de la sécrétion d'aldostérone liée à l'administration de métoclopramide sans modifier la sécrétion de rénine.

Cette réponse a un intérêt majeur car elle nous permet de confirmer que la L-Lysine exerce bien in vivo une action antagoniste au niveau des récepteurs 5-HT₄ surrénaliens. Il est donc probable que la sérotonine n'intervienne pas dans le contrôle de la sécrétion d'aldostérone et de rénine à l'état de base.

Comme décrit dans l'introduction, les mastocytes représentent la source principale de sérotonine au niveau surrénalien. Ils sont localisés sous la capsule, en contact étroit avec les cellules de la zone glomérulée. La libération de sérotonine est sous le contrôle du système nerveux sympathique. En effet, de nombreuses fibres nerveuses viennent innervier les mastocytes.

Ces notions nous ont incités à évaluer le rôle de la 5-HT dans la réponse de la sécrétion d'aldostérone et de rénine lors de l'orthostatisme. En effet, au cours du passage en orthostatisme, une élévation physiologique de la concentration plasmatique d'aldostérone apparaît, en lien avec l'activation du système rénine-angiotensine par la stimulation du système nerveux sympathique. Or, l'équipe de Bayard F. a montré qu'il persistait une sécrétion d'aldostérone minime lors du passage en orthostatisme chez des patients anéphriques (Bayard F. et coll, 1971). Cette étude suggère que les sécrétions de la zone glomérulée au moment de la verticalisation sont également dépendantes de la libération d'autres signaux biologiques, tels que les catécholamines ou les neuropeptides, lors de l'activation du système nerveux sympathique.

Dans notre étude, aucune différence n'a été mise en évidence sur la sécrétion d'aldostérone ou de rénine entre le placebo et la L-Lysine. Nous en avons donc déduit que la sérotonine n'est pas impliquée dans la stimulation de la sécrétion d'aldostérone au cours du passage à l'orthostatisme. Cependant, notre analyse statistique devra être complétée par le calcul du rapport aldostéronémie/réninémie afin de s'assurer qu'il n'existe pas un effet minime sur la sécrétion d'aldostérone qui serait masqué par l'activation du système rénine-angiotensine. Il sera également important d'évaluer l'évolution du rapport aldostérone/cortisol pour s'affranchir des fluctuations des taux d'aldostérone en lien avec les variations de la sécrétion d'ACTH au cours du test.

Il est possible que le contrôle sérotoninergique de la fonction minéralocorticoïde puisse être impliqué dans la réponse de la zone glomérulée au régime sans sel par le biais de son action surrénalienne directe mais aussi via la sécrétion de rénine. L'administration de sérotonine (Mantero F et coll, 1982) et d'inhibiteurs de sa recapture (Ahmed et coll, 2011) entraîne en effet une élévation des taux plasmatiques de rénine et d'aldostérone.

Nos résultats ne montrent cependant aucune différence entre les épreuves sous L-Lysine et placebo sur les concentrations de ces deux marqueurs lors du régime désodé. Ce résultat négatif n'exclut cependant pas une éventuelle implication de la sérotonine au niveau surrénalien possiblement masquée par l'activation du système rénine-angiotensine systémique. Il semble en effet que l'action de la 5-HT sur la sécrétion de rénine soit indépendante du récepteur 5-HT₄ et donc non antagonisable par la L-Lysine. Là encore, il sera donc intéressant d'évaluer l'évolution du rapport aldostérone/rénine, en réponse à la restriction sodée sous L-Lysine par comparaison avec l'épreuve sous placebo.

2. Impact de la L-Lysine sur la sécrétion de cortisol.

D'après nos résultats, la sérotonine n'exerce aucune influence sur la sécrétion de cortisol en condition physiologique. Cependant, l'équipe de Smriga avait montré qu'en situation de stress la L-Lysine permettait une diminution significative du cortisol salivaire chez des sujets de sexe masculin (Smriga M et coll, 2007). L'équipe de Garcia-Iglesias avait également montré que chez le rat, le stress favorisait une augmentation de sécrétion de sérotonine et une augmentation de la densité des récepteurs 5-HT₇ dans les surrénales (Garcia-Iglesias BB et coll, 2013).

Notre étude n'a pas pu montrer cette différence sur la sécrétion de cortisol plasmatique de base probablement du fait d'une perte de puissance. En effet, une interaction (effet de suite ou effet Carry over) est survenue lors de l'analyse sur le cortisol plasmatique de base ($p=0,04$). Les sujets de la seconde période n'ont donc pas pu être analysés.

Il est bien connu que la sécrétion de cortisol évolue selon un cycle nyctéméral. Ceci explique qu'au cours de notre test au métopropramide, la sécrétion de cortisol diminue, le métopropramide n'ayant aucun effet sur la sécrétion de cortisol en conditions physiologiques. Cependant, la sécrétion de cortisol au cours de ce test a tendance à être réduite chez les sujets ayant pris de la L-Lysine, sans pourtant être significative ($p : 0,053$). Aussi, nos résultats suggèrent que la L-Lysine pourrait agir sur l'axe corticotrope ou directement sur les cellules de la zone fasciculée. Cette distinction ne pourra pas être effectuée car l'ACTH n'a pas été dosée dans notre protocole.

Des études antérieures ont montré que les agonistes 5-HT₄ n'exerçaient aucun effet sur la sécrétion d'ACTH (Lefebvre H et coll, 1996). Il semble donc probable que la baisse de la cortisolémie induite par la L-Lysine résulte plutôt d'un effet surrénalien direct. On ne peut néanmoins exclure formellement une action de l'acide aminé au niveau du complexe hypothalamo-hypophysaire faisant intervenir les récepteurs aux benzodiazépines.

Enfin un test au Synacthène a été effectué afin d'évaluer le rôle de la sérotonine dans la réponse de la sécrétion de cortisol à l'ACTH. En effet, chez le rat, il a été montré que les mastocytes surrénaux étaient sensibles à l'ACTH (Hinson JP et coll, 1989). Dans notre étude, aucune modification significative de sécrétion de cortisol n'a été mise en évidence entre les sujets recevant la L-Lysine et le placebo lors du test au Synacthène. La sérotonine n'interviendrait donc pas dans la réponse du cortisol à l'ACTH.

3. Points forts et points faibles de l'étude.

A ce jour, aucune autre étude n'a été effectuée chez l'homme évaluant l'impact de la L-Lysine sur la sécrétion d'aldostérone.

Notre étude a bien été conduite et ne présente pas de biais évident. Son point fort est la comparaison intra-sujet. Chaque sujet étant son propre témoin, il n'existe pas de différence de caractéristiques entre les sujets des périodes 1 et 2.

Cependant, notre analyse statistique a souffert d'un effet carry-over sur plusieurs de nos tests (notamment pour la rénine). Ceci est probablement lié à un effet tardif de la substance active malgré la période de wash out. Pour cela, certains résultats en deuxième période n'ont pas pu être utilisés. Cet effet carry-over a pu être la cause d'une perte de puissance pour notre étude.

4. Perspectives

Notre étude sera complétée par des travaux in vitro afin de préciser le mécanisme d'action de la L-Lysine sur les sécrétions corticosurréaliennes. L'ajout de ces données aux résultats présentés permettrait de mieux connaître le mode de régulation de la surrénale par la voie sérotoninergique et d'ouvrir ainsi des perspectives d'études en physiopathologie.

Concernant les adénomes de Conn ou les syndromes de Cushing ACTH-indépendant liés à des HMBS, un test au métoclopramide pourrait être envisagé afin de vérifier si les récepteurs 5-HT₄ sont surexprimés. Si ce test s'avérait positif, la L-Lysine pourrait être envisagée comme traitement de choix en alternative à la chirurgie.

Un traitement médicamenteux efficace, en remplacement ou en association avec le traitement de référence (spironolactone) pourrait permettre un meilleur contrôle de la sécrétion d'aldostérone et donc prévenir ses complications cardiovasculaires, métaboliques et rénales.

En périphérie, la L-Lysine a déjà montré des bénéfices sur les symptômes digestifs à type de diarrhées (atténue les symptômes du syndrome de l'intestin irritable), sur l'anxiété (effet anxiolytique), sur le système nerveux central (effet anticonvulsivant).

La L-Lysine est simple d'utilisation (voie orale), peu coûteuse, sans effet indésirable et est présente dans l'alimentation.

L'ensemble de ces données nous incite donc à élargir ce travail par des essais cliniques menés chez des patients atteints d'hyperaldostéronisme lié à un adénome de Conn ; et chez

des patients présentant un hypercorticisme secondaire à une hypertrophie macronodulaire bilatérale des surrénales ou à un adénome surexprimant le récepteur 5-HT₄.

5. Conclusion

En conclusion, nous avons montré qu'un acide aminé essentiel, la L-Lysine, agissait comme un antagoniste des récepteurs sérotoninergiques 5-HT₄ surrénaux, notamment au niveau de la zone glomérulée. La L-Lysine s'est cependant montrée incapable de réduire la sécrétion d'aldostérone en réponse à l'orthostatisme et au régime désodé. Il est cependant possible que l'évaluation des rapports aldostérone/rénine et aldostérone/cortisol plasmatiques au cours des tests apporte des données statistiquement significatives. Par ailleurs, notre étude semble confirmer un effet inhibiteur de la L-Lysine sur la sécrétion de cortisol dont le niveau ne peut malgré tout être précisé dans l'immédiat.

Enfin, notre étude suggère que la L-Lysine pourrait trouver sa place dans la prise en charge thérapeutique de l'hyperaldostéronisme primaire ou de l'hypercorticisme lié à des lésions surrénales surexprimant les récepteurs 5-HT₄.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- **Ahmed AH, Calvird M, Gordon RD, Taylor PJ, Ward G, Pimenta E, Young R, Stowasser M.** Effects of two selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants, sertraline and escitalopram, on aldosterone/renin ratio in normotensive depressed male patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011 Apr;96(4):1039-45. doi: 10.1210/jc.2010-2603.
- **Amar L, Lorthioir A, Azizi M, Plouin PF.** Progress in primary aldosteronism: Mineralocorticoid antagonist treatment for aldosterone-producing adenoma. *Eur J Endocrinol.* 2015 Mar;172(3):R125-R129.
- **Andreis PG, Neri G, Prayer-Galetti T, Rossi GP, Gottardo G, Malendowicz LK, Nussdorfer GG.** Effects of adrenomedullin on the human adrenal glands: an in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Apr;82(4):1167-70
- **Andreis PG, Neri G, Tortorella C, Aragona F, Rossi GP, Nussdorfer GG.** Mechanisms transducing the aldosterone secretagogue signal of endothelins in the human adrenal cortex. *Peptides.* 2002 Mar;23(3):561-6
- **Baruffol C, Jordi J, Camargo S, Radovic T, Herzog B, Fried M, Schwizer W, Verrey F, Lutz TA, Steingoetter A.** L-lysine dose dependently delays gastric emptying and increases intestinal fluid volume in humans and rats. *Neurogastroenterol Motil.* 2014 Jul;26(7):999-1009. doi: 10.1111/nmo.12354.
- **Bayard F, Cooke CR, Tiller DJ, Beitins IZ, Kowarski A, Walker WG, Migeon CJ.** The regulation of aldosterone secretion in anephric man. *J Clin Invest.* 1971 Aug;50(8):1585-95.
- **Bharucha E, Camilleri M, Haydock S, Ferber I, Burton D, Cooper S, Tompson D, Fitzpatrick K, Higgins R, Zinsmeister A.,** Effects of a serotonin 5-HT₄ receptor antagonist SB-207266 on gastrointestinal motor and sensory function in humans. *Gut* 47:667-74 2014.
- **Bierwolf C, Burgemeister A, Lüthke K, Born J, Fehm HL.** Influence of exogenous atrial natriuretic peptide on the pituitary-adrenal response to corticotropin-releasing hormone and vasopressin in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Apr;83(4):1151-7
- **Bornstein SR, Chrousos GP.** Clinical review 104: Adrenocorticotropin (ACTH)- and non-ACTH-mediated regulation of the adrenal cortex: neural and immune inputs. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999 May;84(5):1729-36
- **Bornstein SR, H. Rutkowski, I. Vrezas.** Cytokines and steroidogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology* 215 (2004) 135–141
- **Boukroun S, Samson-Couterie B, Dzib JF, Lefebvre H, Louiset E, Amar L, Plouin PF, Lalli E, Jeunemaitre X, Benecke A, Meatchi T, Zennaro MC.** Adrenal cortex remodeling and functional zona glomerulosa hyperplasia in primary aldosteronism. *Hypertension.* 2010 Nov;56(5):885-92. doi: 10.1161
- **Brent M. Egan, MD.** Insulin Resistance and the Sympathetic Nervous System. *Current Hypertension Reports* 2003, 5:247–254 Current Science Inc. ISSN 1522-6417

- **Camilleri M.** LX-1031, a tryptophan 5-hydroxylase inhibitor, and its potential in chronic diarrhea associated with increased serotonin. *Neurogastroenterol Motil.* 2011 Mar;23(3):193-200. doi: 10.1111/j.1365-2982.2010.01643.x.
- **Carey RM, Thorner MO, Ortt EM.** Dopaminergic inhibition of metoclopramide-induced aldosterone secretion in man. Dissociation of responses to dopamine and bromocriptine. *J Clin Invest.* 1980 Jul;66(1):10-8
- **Cartier D, Lihmann I, Parmentier F, Bastard C, Bertherat J, Caron P, Kuhn JM, Lacroix A, Tabarin A, Young J, Vaudry H, Lefebvre H.** Overexpression of serotonin₄ receptors in cisapride-responsive adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jan;88(1):248-54
- **Cartier D, Jégou S, Parmentier F, Lihmann I, Louiset E, Kuhn JM, Bastard C, Plouin PF, Godin M, Vaudry H, Lefebvre H.** Expression profile of serotonin₄ (5-HT₄) receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas, *Eur J Endocrinol* 2005 Dec;153(6):939-47
- **Chang YF, Gao XM.** L-lysine is a barbiturate-like anticonvulsant and modulator of the benzodiazepine receptor. *Neurochem Res.* 1995 Aug;20(8):931-7
- **Chao CT, Wu VC, Kuo CC, Lin YH, Chang CC, Chueh SJ, Wu KD, Pimenta E, Stowasser M.** Diagnosis and management of primary aldosteronism: an updated review. *Ann Med.* 2013 Jun;45(4):375-83. doi: 10.3109/07853890.2013.785234.
- **Chen GL, Miller GM.** Advances in tryptophan hydroxylase-2 gene expression regulation: new insights into serotonin-stress interaction and clinical implications. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2012 Mar;159B(2):152-71. doi: 10.1002/ajmg.b.32023 (résumé)
- **Chrousos GP.** The role of stress and the hypothalamic ± pituitary ± adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome: neuro-endocrine and target tissue-related causes. *International Journal of Obesity (2000)* 24, Suppl 2, Macmillan Publishers Ltd
- **Conconi MT, Spinazzi R, Gastone G. Nussdorfer.** Endogenous Ligands of PACAP/VIP receptors in the Autocrine–Paracrine Regulation of the Adrenal Gland. *International Review of Cytology*, Vol. 249 ; 0074-7696/06. 2006 Elsevier Inc.
- **Contesse V, Hamel C, Delarue C, Lefebvre H, Vaudry H,** Effect of a series of 5-HT₄ receptor agonists and antagonists on steroid secretion by the adrenal gland in vitro. *Eur J Pharmacol.* 1994 Nov 14;265(1-2):27-33
- **Contesse V, Vaudry H, Lefebvre H, Hamel C, Delarue C,** Neuroendocrine control of adrenocortical cells by serotonin in amphibians and mammals. *Ann NY Acad Sci* 839:270-4, 1998.
- **Contesse V, Lefebvre H, Lenglet S, Kuhn JM, Delarue C, Vaudry H.** Role of 5-HT in the regulation of the brain-pituitary-adrenal axis: effects of 5-HT on adrenocortical cells. *Can J Physiol Pharmacol.* 2000 Dec;78(12):967-83. (résumé)

- **Contesse V, Reznik Y, Duparc C, Perraudin V, Vaudry H, Kuhn JM, Lefebvre H.** Effects of serotonin and vasopressin on cortisol production from an adrenocortical tumor causing subclinical Cushing's syndrome. *Endocr Res.* 2002 Nov;28(4):787-91
- **Contesse V, Reznik Y, Louiset E, Duparc C, Cartier D, Sicard F, Laquerriere A, Parmentier F, Kuhn JM, Vaudry H, Lefebvre H.** Abnormal sensitivity of cortisol-producing adrenocortical adenomas to serotonin: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 May;90(5):2843-50.
- **Cortez V, Santana M, Marques AP, Mota A, Rosmaninho-Salgado J, Cavadas C.** Regulation of catecholamine release in human adrenal chromaffin cells by β -adrenoceptors. *Neurochem Int.* 2012 Mar;60(4):387-93. doi: 10.1016/j.neuint.2011.12.018. Epub 2012 Jan 12.
- **Côté M, Guillon G, Payet MD, Gallo-Payet N.** Expression and regulation of adenylyl cyclase isoforms in the human adrenal gland. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4495-503.
- **D'Arienzo A, Ambrogio G, Di Siervi P, Perna E, Squame G, Mazzacca G.** A randomized comparison of metoclopramide and domperidone on plasma aldosterone concentration and on spironolactone-induced diuresis in ascitic cirrhotic patients. *Hepatology.* 1985 Sep-Oct;5(5):854-7 (Résumé)
- **Delarue C, Becquet D, Idres S, Hery F, Vaudry H.** Serotonin synthesis in adrenochromaffin cells. *Neuroscience.* 1992;46(2):495-500
- **Delarue C, Contesse V, Lenglet S, Sicard F, Perraudin V, Lefebvre H, Kodjo M, Leboulenger F, Yon L, Gallo-Payet N, Vaudry H.** Role of neurotransmitters and neuropeptides in the regulation of the adrenal cortex. *Rev Endocr Metab Disord.* 2001 Aug;2(3):253-67
- **Delarue C, Conlon JM, Remy-Jouet I, Fournier A, Vaudry H ;** Endothelins as local activators of adrenocortical cells. *J Mol Endocrinol.* 2004 Feb;32(1):1-7
- **Ehrhart-Bornstein M, Hinson JP, Bornstein SR, Scherbaum WA, Vinson GP.** Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr Rev.* 1998 Apr;19(2):101-43.
- **Ehrhart-Bornstein M, Haidan A, Alesci S, Bornstein SR.** Neurotransmitters and neuropeptides in the differential regulation of steroidogenesis in adrenocortical-chromaffin co-cultures. *Endocr Res.* 2000 Nov;26(4):833-42.
- **Evrard A, Hober C, Racadot A, Lefebvre J, Vantghem MC.** Hormone natriurétique auriculaire et fonctions endocrines. *Ann Biol Clin (Paris).* 1999 Mar-Apr;57(2):149-55.
- **Fallo F, Veglio F, Bertello C, Sonino N, Della Mea P, Ermani M, Rabbia F, Federspil G, Mulatero P.** Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Feb;91(2):454-9.
- **Freel EM, Mark PB, Weir RA, McQuarrie EP, Allan K, Dargie HJ, McClure JD, Jardine AG, Davies E, Connell JM.** Demonstration of blood pressure-independent noninfarct myocardial fibrosis in primary aldosteronism: a cardiac magnetic resonance imaging

study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2012 Nov;5(6):740-7. doi: 10.1161/CIRCIMAGING.112.974576.

- **García-Iglesias BB, Mendoza-Garrido ME, Gutiérrez-Ospina G, Rangel-Barajas C, Noyola-Díaz M, Terrón JA.** Sensitization of restraint-induced corticosterone secretion after chronic restraint in rats: involvement of 5-HT₇ receptors. *Neuropharmacology*. 2013 Aug;71:216-27. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.03.013.
- **Geller DS, Zhang J, Wisgerhof MV, Shackleton C, Kashgarian M, Lifton RP.** A novel form of human mendelian hypertension featuring nonglucocorticoid-remediable aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Aug;93(8):3117-23. doi: 10.1210/jc.2008-0594.
- **Ghosh S, Smriga M, Vuvor F, Suri D, Mohammed H, Armah SM, Scrimshaw NS.** Effect of lysine supplementation on health and morbidity in subjects belonging to poor peri-urban households in Accra, Ghana. *Am J Clin Nutr*. 2010 Oct;92(4):928-39. doi: 10.3945/ajcn.2009.28834.
- **Guillemot J, Compagnon P, Cartier D, Thouennon E, Bastard C, Lihmann C, Pichon P, Thuillez C, Plouin P, Bertherat J, Anouar Y, Kuhn JM, Yon L, Lefebvre H.** Metoclopramide stimulates catecholamine and granin-derived peptide secretion from pheochromocytoma cells through activation of serotonin type 4 (5-HT₄) receptors. *Endocrine-Related Cancer* (2009) 16 281–290
- **Hegde SS, Eglén RM.** Peripheral 5-HT₄ receptors. *FASEB J*. 1996 Oct;10(12):1398-407
- **Hinson JP, Vinson GP, Pudney J, Whitehouse BJ.** Adrenal mast cells modulate vascular and secretory responses in the intact adrenal gland of the rat. *J Endocrinol*. 1989 May;121(2):253-60.
- **Kidambi S, Kotchen JM, Grim CE, Raff H, Mao J, Singh RJ, Kotchen TA.** Association of adrenal steroids with hypertension and the metabolic syndrome in blacks. *Hypertension*. 2007 Mar;49(3):704-11.
- **Lampron A, Bourdeau I, Oble S, Godbout A, Schürch W, Arjane P, Hamet P, Lacroix A.** Regulation of aldosterone secretion by several aberrant receptors including for glucose-dependent insulinotropic peptide in a patient with an aldosteronoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Mar;94(3):750-6. doi: 10.1210/jc.2008-1340.
- **Leboulenger F, Benyamina M, Delarue C, Netchitaïlo P, Saint-Pierre S, Vaudry H.** Neuronal and paracrine regulation of adrenal steroidogenesis: interactions between acetylcholine, serotonin and vasoactive intestinal peptide (VIP) on corticosteroid production by frog interrenal tissue. *Brain Res*. 1988 Jun 21;453(1-2):103-9
- **Lefebvre H, Contesse V, Delarue C, Feuilloley M, Hery F, Grise P, Raynaud G, Verhofstad AA, Wolf LM, Vaudry H.** Sérotonin-induced stimulation of cortisol secretion from human adrenocortical tissue is mediated through activation of a serotonin-4-receptor subtype. *Neuroscience*. 1992;47(4):999-1007
- **Lefebvre H, Contesse V, Delarue C, Kuhn JM, Vaudry H, Wolf LM.** Lack of effect of the serotonin₄ receptor agonist zacopride on ACTH secretion in normal men. *Eur J Clin Pharmacol*. 1996;51(1):49-51

- **Lefebvre H, Gonzalez KN, Contesse V, Delarue C, Vaudry H, Kuhn JM.** Effect of prolonged administration of the serotonin₄ (5-HT₄) receptor agonist cisapride on aldosterone secretion in healthy volunteers. *Endocr Res.* 1998 Aug-Nov;24(3-4):749-52.
- **Lefebvre H, Compagnon P, Contesse V, Delarue C, Thuillez C, Vaudry H, Kuhn JM.** Production and metabolism of serotonin (5-HT) by the human adrenal cortex: paracrine stimulation of aldosterone secretion by 5-HT. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Oct;86(10):5001-7.
- **Lefebvre H, Cartier D, Duparc C, Lihmann I, Contesse V, Delarue C, Godin M, Fischmeister R, Vaudry H, Kuhn JM.** Characterization of serotonin₄ receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Mar;87(3):1211-6
- **Lefebvre H, Prévost G, Louiset E.** Autocrine/paracrine regulatory mechanisms in adrenocortical neoplasms responsible for primary adrenal hypercorticism. *Eur J Endocrinol.* 2013 Oct 4;169(5):R115-38. doi: 10.1530/EJE-13-0308
- **Lefebvre H, Duparc C, Prévost G, Zennaro MC, Bertherat J, Louiset E.** Paracrine control of steroidogenesis by serotonin in adrenocortical neoplasms. *Mol Cell Endocrinol.* 2014 Nov 26. pii: S0303-7207(14)00369-4. doi: 10.1016/j.mce.2014.11.013
- **Lefebvre H, Duparc C, Young J, Bertherat J, Louiset E,** la communication intercellulaire dans les hyperplasies bilatérales des surrénales, *MCED* 2015 janv; vol 74
- **Lefebvre H, Duparc C, Prévost G, Bertherat J, Louiset E.** Cell-to-cell communication in bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing hypercortisolism. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2015 Apr 20;6:34. doi: 10.3389/fendo.2015.00034. eCollection 2015.
- **Lethielleux G, Amar L, Raynaud A, Plouin PF, Steichen O.** Influence of diagnostic criteria on the interpretation of adrenal vein sampling. *Hypertension.* 2015 Apr;65(4):849-54. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04812.
- **Liakos P, Lenz D, Bernhardt R, Feige JJ, Defaye G.** Transforming growth factor beta1 inhibits aldosterone and cortisol production in the human adrenocortical cell line NCI-H295R through inhibition of CYP11B1 and CYP11B2 expression. *J Endocrinol.* 2003 Jan;176(1):69-82.
- **Louiset E, Cartier D, Contesse V, Duparc C, Lihmann I, Young J, Bertherat J, Reznik Y, Kuhn JM, Laquerrière A, Vaudry H, Lefebvre H.** Paradoxical inhibitory effect of serotonin on cortisol production from adrenocortical lesions causing Cushing's syndrome. *Endocr Res.* 2004 Nov;30(4):951-4. (résumé)
- **Mannelli M, Ferruzzi P, Luciani P, Crescioli C, Buci L, Corona G, Serio M, Peri A.** Cushing's syndrome in a patient with bilateral macronodular adrenal hyperplasia responding to cisapride: an in vivo and in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Oct;88(10):4616-22

- **Mantero F, Opocher G, Boscaro M, Armanini D.** Effect of serotonin on plasma aldosterone in man. *J Endocrinol Invest.* 1982 Mar-Apr;5(2):97-9. (résumé)
- **Mazzuco TL, Chaffanjon P, Martinie M, Sturm N, Chabre O.** Adrenal Cushing's syndrome due to bilateral macronodular adrenal hyperplasia: prediction of the efficacy of beta-blockade therapy and interest of unilateral adrenalectomy. *Endocr J.* 2009;56(7):867-77. Epub 2009 Jun 30. (résumé)
- **Mc Namara BC, Boyd GS.** The role of lysine-rich proteins in the acute steroidogenic response of rat adrenal cells to ACTH. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984 Jan 30;118(2):400-4.
- **McKelvie RS, Yusuf S, Pericak D, Avezum A, Burns RJ, Probstfield J, Tsuyuki RT, White M, Rouleau J, Latini R, Maggioni A, Young J, Pogue J.** Comparison of candesartan, enalapril, and their combination in congestive heart failure: randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction (RESOLVD) pilot study. The RESOLVD Pilot Study Investigators. *Circulation.* 1999 Sep 7;100(10):1056-64
- **Milliez P, Girerd X, Plouin PF, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ.** Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Apr 19;45(8):1243-8.
- **Mulatero P, Bertello C, Rossato D, Mengozzi G, Milan A, Garrone C, Giraudo G, Passarino G, Garabello D, Verhovez A, Rabbia F, Veglio F.** Roles of clinical criteria, computed tomography scan, and adrenal vein sampling in differential diagnosis of primary aldosteronism subtypes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Apr;93(4):1366-71. doi: 10.1210/jc.2007-2055. Epub 2008 Jan 15.
- **Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Veglio F, Young WF Jr.** Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Mar;89(3):1045-50.
- **Nishimura M, Uzu T, Fujii T, Kuroda S, Nakamura S, Inenaga T, Kimura G.** Cardiovascular complications in patients with primary aldosteronism. *Am J Kidney Dis.* 1999 Feb;33(2):261-6
- **Nussdorfer GG.** Paracrine control of adrenal cortical function by medullary chromaffin cells. *Pharmacol Rev.* 1996 Dec;48(4):495-530
- **Oda N, Takeda Y, Zhu A, Usukura M, Yoneda T, Takata H, Mabuchi H.** Pathophysiological roles of the adrenal renin-angiotensin system in patients with primary aldosteronism. *Hypertens Res.* 2006 Jan;29(1):9-14.
- **Perraudin V, Delarue C, Lefebvre H, Do Rego JL, Vaudry H, Kuhn JM.** Evidence for a role of vasopressin in the control of aldosterone secretion in primary aldosteronism: in vitro and in vivo studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Apr;91(4):1566-72.
- **Peters J.** Local renin-angiotensin systems in the adrenal gland. *Peptides.* 2012 Apr;34(2):427-32. doi: 10.1016/j.peptides.2012.01.023.
- **Pitt B, Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensky J, Wittes J** (1999) The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with

severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 341:709-17

- **Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, Bittman R, Hurley S, Kleiman J, Gatlin M**, (2003) Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med* 348:1309-21
- **Pitt B, Remme W, Zannad F, Neaton J, Martinez F, Roniker B, Bittman R, Hurley S, Kleiman J, Gatlin M**; Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study Investigators. Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2003 Apr 3;348(14):1309-21. Epub 2003 Mar 31
- **Pivonello R, Ferone D, de Herder WW, de Krijger RR, Waaijers M, Mooij DM, van Koetsveld PM, Barreca A, De Caro ML, Lombardi G, Colao A, Lamberts SW, Hofland LJ**. Dopamine receptor expression and function in human normal adrenal gland and adrenal tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Sep;89(9):4493-502.
- **Plouin PF, Amar L, Chatellier G**. Trends in the prevalence of primary aldosteronism, aldosterone-producing adenomas, and surgically correctable aldosterone-dependent hypertension. *Nephrol Dial Transplant*. 2004 Apr;19(4):774-7.
- **Pompei P, Riftina F, McEwen BS**. Effect of adrenal steroids on preproneurokinin-A gene expression in discrete regions of the rat brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 1995 Nov;33(2):209-16
- **Pouleur AC, Uno H, Prescott MF, Desai A, Appelbaum E, Lukashevich V, Smith BA, Dahlöf B, Solomon SD; ALLAY Investigators**. Suppression of aldosterone mediates regression of left ventricular hypertrophy in patients with hypertension. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2011 Dec;12(4):483-90. doi: 10.1177/1470320311414453.
- **Reznik Y, Lefebvre H, Rohmer V, Charbonnel B, Tabarin A, Rodien P, Lecomte P, Bardet S, Coffin C, Mahoudeau J; REHOS study group**. Aberrant adrenal sensitivity to multiple ligands in unilateral incidentaloma with subclinical autonomous cortisol hypersecretion: a prospective clinical study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004 Sep;61(3):311-9.
- **Ritchie PK, Knight HH, Ashby M, Judd AM**. Serotonin increases interleukin-6 release and decreases tumor necrosis factor release from rat adrenal zona glomerulosa cells in vitro. *Endocrine*. 1996 Dec;5(3):291-7. doi: 10.1007/BF02739062 (résumé)
- **Rizzi CA, Mierau J, Ladinsky H**. Regulation of plasma aldosterone levels by metoclopramide: a reappraisal of its mechanism from dopaminergic antagonism to serotonergic agonism. *Neuropharmacology*. 1997 Jun;36(6):763-8.
- **Rossi GP, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mannelli M, Matterello MJ, Montemurro D, Palumbo G, Rizzoni D, Rossi E, Pessina**

- AC, Mantero F; PAPY Study Participants.** Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study. *Hypertension*. 2006 Aug;48(2):232-8.
- **Rossi GP, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Ganzaroli C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Mattarello MJ, Moretti A, Palumbo G, Parenti G, Porteri E, Semplicini A, Rizzoni D, Rossi E, Boscaro M, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Investigators.** A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Dec 5;48(11):2293-300.
 - **Rossi GP, Bolognesi M, Rizzoni D, Seccia TM, Piva A, Porteri E, Tiberio GA, Giulini SM, Agabiti-Rosei E, Pessina AC.** Vascular remodeling and duration of hypertension predict outcome of adrenalectomy in primary aldosteronism patients. *Hypertension*. 2008 May;51(5):1366-71. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.111369.
 - **Rossi GP, Auchus RJ, Brown M, Lenders JW, Naruse M, Plouin PF, Satoh F, Young WF Jr.** An expert consensus statement on use of adrenal vein sampling for the subtyping of primary aldosteronism. *Hypertension*. 2014 Jan;63(1):151-60. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.02097.
 - **Rucinski M, Ziolkowska A, Tyczewska M, Malendowicz LK.** Expression of prepro-ghrelin and related receptor genes in the rat adrenal gland and evidences that ghrelin exerts a potent stimulating effect on corticosterone secretion by cultured rat adrenocortical cells. *Peptides*. 2009 Aug;30(8):1448-55. doi: 10.1016/j.peptides.2009.04.016.
 - **Sata Y1, Krum H.** The future of pharmacological therapy for heart failure. *Circ J*. 2010 May;74(5):809-17.
 - **Savard S, Amar L, Plouin PF, Steichen O.** Cardiovascular complications associated with primary aldosteronism: a controlled cross-sectional study. *Hypertension*. 2013 Aug;62(2):331-6. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.01060.
 - **Sechi LA, Di Fabio A, Bazzocchi M, Uzzau A, Catena C.** Intrarenal hemodynamics in primary aldosteronism before and after treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Apr;94(4):1191-7. doi: 10.1210/jc.2008-2245.
 - **Smriga M, Torii K.** L-Lysine acts like a partial serotonin receptor 4 antagonist and inhibits serotonin-mediated intestinal pathologies and anxiety in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Dec 23;100(26):15370-5.
 - **Smriga M, Ghosh S, Mouneimne Y, Pellett P, Scrimshaw N.** Lysine fortification reduces anxiety and lessens stress in family members in economically weak communities in Northwest Syria. 2004 *Proc Natl Acad Sci* 101:8285-8.
 - **Smriga M, Ando T, Akutsu M, Furukawa Y, Miwa K, Morinaga Y.** Oral treatment with L-lysine and L-arginine reduces anxiety and basal cortisol levels in healthy humans. *Biomed Res*. 2007 Apr;28(2):85-90
 - **Sommers DK, Meyer EC, van Wyk M, de Villiers LS.** Aldosterone response to metoclopramide is mediated through the autonomic nervous system in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1988;33(6):609-12.

- **Stowasser M, Gordon RD, Rutherford JC, Nikwan NZ, Daunt N, Slater GJ.** Diagnosis and management of primary aldosteronism. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2001 Sep;2(3):156-69
- **Stowasser M, Sharman J, Leano R, Gordon RD, Ward G, Cowley D, Marwick TH.** Evidence for abnormal left ventricular structure and function in normotensive individuals with familial hyperaldosteronism type I. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Sep;90(9):5070-6.
- **Suzuki T, Abe H, Nagata S, Saitoh F, Iwata S, Ashizawa A, Kuramochi M, Omae T.** Left ventricular structural characteristics in unilateral renovascular hypertension and primary aldosteronism. *Am J Cardiol.* 1988 Dec 1;62(17):1224-7
- **Tsurugizawa T, Uematsu A, Uneyama H, Torii K.** Reversible brain response to an intragastric load of L-lysine under L-lysine depletion in conscious rats. *Br J Nutr.* 2013 Apr 14;109(7):1323-9. doi: 10.1017/S0007114512003078.
- **Vasan RS, Evans JC, Larson MG, Wilson PW, Meigs JB, Rifai N, Benjamin EJ, Levy D** (2004) Serum aldosterone and the incidence of hypertension in nonhypertensive persons. *N Engl J Med* 351:33-41
- **Vezzosi D, Cartier D, Régnier C, Otal P, Bennet A, Parmentier F, Plantavid M, Lacroix A, Lefebvre H, Caron P.** Familial adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia with aberrant serotonin and vasopressin adrenal receptors. *Eur J Endocrinol.* 2007 Jan;156(1):21-31
- **Wu KD, Chen YM, Chu TS, Chueh SC, Wu MH, Bor-Shen H.** Expression and localization of human dopamine D2 and D4 receptor mRNA in the adrenal gland, aldosterone-producing adenoma, and pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Sep;86(9):4460-7.
- **Yoshida T, Mio M, Tasaka K.** Cortisol secretion induced by substance P from bovine adrenocortical cells and its inhibition by calmodulin inhibitors. *Biochem Pharmacol.* 1992 Feb 4;43(3):513-7.
- **Young Jr WF.** Primary aldosteronism-treatment options. *Growth Horm IGF Res.* 2003 Aug;13 Suppl A:S102-8.
- **Young WF.** Primary aldosteronism: renaissance of a syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007 May;66(5):607-18
- **Zennaro MC, Boulkroun S, Fernandes-Rosa F.** An update on novel mechanisms of primary aldosteronism. *J Endocrinol.* 2015 Feb;224(2):R63-77. doi: 10.1530/JOE-14-0597.
- **Zhang DX, Gauthier KM, Falck JR, Siddam A, Campbell WB.** Steroid-producing cells regulate arterial tone of adrenal cortical arteries. *Endocrinology.* 2007 Aug;148(8):3569-76.

RESUME

Les cellules corticosurréaliennes sont soumises à un contrôle complexe impliquant, outre les facteurs circulants comme l'ACTH, l'angiotensine II et le potassium, des facteurs régulateurs libérés au sein du cortex surréalien par les cellules chromaffines, les cellules endothéliales, les cellules du système immunitaire et les fibres nerveuses. Ces signaux bioactifs, qui incluent des neurotransmetteurs conventionnels-peptidiques et des cytokines influencent la sécrétion de corticostéroïdes par le biais de mécanismes autocrines et paracrines. Ainsi, la sérotonine (5-HT), produite par les mastocytes intra-surréaliens, stimule la sécrétion d'aldostérone et à un moindre degré de cortisol par l'intermédiaire des récepteurs 5-HT₄. Le rôle physiologique du contrôle sérotoninergique de la corticostéroïdogénèse reste imprécis chez l'homme en raison notamment de l'absence d'antagonistes 5-HT₄ synthétiques utilisables pour un usage clinique. Pour contourner cette difficulté, nous avons choisi d'utiliser la L-Lysine, acide aminé essentiel, qui se comporte in vivo et in vitro comme un antagoniste 5-HT₄, pour étudier l'implication du récepteur 5-HT₄ dans la régulation des sécrétions d'aldostérone et de cortisol.

L'effet d'une prise orale de 4,95g de L-Lysine sur les sécrétions surréaliennes a ainsi été évalué chez 20 volontaires sains de sexe masculin au cours d'une étude pilote, en cross-over, menée en double aveugle contre placebo.

Nos résultats montrent que l'administration de L-Lysine chez des volontaires sains n'a aucun impact sur les sécrétions basales d'aldostérone, de cortisol et de rénine. De même, la L-Lysine n'a aucune influence sur les sécrétions d'aldostérone et de cortisol stimulés respectivement par les épreuves d'orthostatisme, le régime sans sel et le synacthène. En revanche, la L-Lysine a significativement réduit la réponse de l'aldostérone à un agoniste du récepteur 5-HT₄, le métoclopramide. Ces données indiquent que la L-Lysine est effectivement capable d'antagoniser in vivo le récepteur 5-HT₄ corticosurréalien. Elles ne permettent cependant pas de préciser le rôle physiologique de la 5-HT surréalienne. Elles suggèrent malgré tout que la L-Lysine pourrait représenter un traitement potentiel des hypercorticismes associés à une augmentation du tonus sérotoninergique intra-surréalien comme l'hyperaldostéronisme primaire ou les syndromes de Cushing secondaires à des lésions surréaliennes surexprimant le récepteur 5-HT₄, telles que les hyperplasies macronodulaires bilatérales des surrénales.

Mots clés : aldostérone, glande surrénale, régulation paracrine, sérotonine, antagoniste 5-HT₄.