

**IMPACT DU NIVEAU D'APPORT PROTÉINO-GLUCIDIQUE SUR
L'HOMÉOSTASIE ET LE CONTRÔLE DE L'INGESTION DES PROTÉINES
ET DE L'ÉNERGIE**

***IMPACT OF PROTEIN-CARBOHYDRATE INTAKE LEVEL ON HOMEOSTASIS
AND CONTROL OF PROTEIN AND ENERGY INTAKE***

Thèse de Joséphine **GEHRING**¹

Analysée par Frédéric **TESSIER**²

Directrice de thèse : Dalila **AZZOUT-MARNICHE**, Professeur, AgroParisTech

Co-encadrant de thèse : Patrick **C. EVEN**, Chargé de Recherche, INRAE Centre de Jouy-en-Josas

Cette thèse aborde un aspect important, et très débattu, du contrôle de l'ingestion des protéines et de l'énergie.

Ce sujet de thèse est tout à fait pertinent dans un contexte démographique, sanitaire, nutritionnel et environnemental où la question de la quantité de protéines animales à consommer est posée. Une nouvelle transition alimentaire et nutritionnelle qui fait évoluer la quantité, l'origine et la qualité des protéines est déjà recommandée par plusieurs instances nationales et internationales.

L'hypothèse que l'obtention d'un bilan azoté équilibré conditionnerait à elle seule le niveau d'apport protéique à atteindre (niveau cible) est aujourd'hui remise en cause. Le contrôle de l'ingestion des protéines ne serait donc pas uniquement dépendant des mécanismes de la régulation de l'homéostasie protéique mais pourrait se faire, de manière plus complexe, en coordination avec les mécanismes de contrôle de l'apport en macronutriments énergétiques.

L'objectif de cette thèse était donc de mieux comprendre les mécanismes de contrôle de l'ingestion des protéines et leurs interactions avec le contrôle de l'apport énergétique. Il est important de préciser que l'ensemble des études réalisées par la doctorante l'ont été chez le rat (modèle qui a été justifié dans la thèse). Il est regrettable que cette information ne soit pas mentionnée explicitement dans le titre de cette thèse.

¹ Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay, École doctorale n°581, Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement et Santé (ABIES), Spécialité : Sciences de la nutrition, Unité de recherche : Université Paris-Saclay, AgroParisTech, INRAE, UMR PNCA, 75005, Paris, France, Référent : AgroParisTech, présentée et soutenue à Paris-Saclay, le 09/11/2021.

² Membre de l'Académie d'agriculture de France, section 8 « Alimentation humaine ».

Avant la présentation des résultats de ses études pré-cliniques chez le rat, Joséphine GEHRING a rappelé l'importance du métabolisme protéique dans le fonctionnement des organismes et a fait, entre autres, le point sur les concepts qui lient les apports protéiques à la prise alimentaire, aux apports et dépenses énergétiques, et à la régulation du poids.

Dans l'introduction bibliographique de cette thèse, un état de l'art sur les régimes hyper- et hypo-protéiques a été dressé. Pour ces deux conditions d'apports protéiques, considérées respectivement comme « élevées » (>25-30% d'énergie sous forme de protéines) et « restreintes » (<8% d'énergie), les conséquences sur la prise alimentaire, la dépense énergétique, le poids et la composition corporelle ont été listées.

Il est évident que les apports en protéines, glucides et lipides sont interdépendants. L'étude bibliographique présentée rappelle que toute variation de la consommation de protéine engendre des changements plus ou moins marqués des apports de glucides et de lipides (et donc d'énergie).

Il est intéressant d'observer que la plupart des études semble indiquer qu'aussi bien les régimes hyperprotéiques que ceux qui sont, à l'opposé, faibles en protéines, induiraient une augmentation de la dépense énergétique pas des mécanismes métaboliques encore très discutés.

Un point particulier a été fait sur l'hypothèse de « l'effet levier » des protéines, appelé « *protein leverage hypothesis* » en anglais. Selon cette hypothèse, une alimentation pauvre en protéine (ex. 5 à 7% de l'apport énergétique) conduirait à compenser cette baisse par une augmentation de la prise alimentaire (hyperphagie), prouvant ainsi une certaine domination du contrôle de l'apport protéique sur celui de l'apport énergétique. Indirectement, un régime pauvre en protéine entrainerait alors une perturbation du métabolisme énergétique, et une augmentation du poids corporel (si aucune compensation de dépense énergétique n'était mise en place). Il est intéressant de noter qu'un cercle vicieux pourrait alors s'installer entre une hyperphagie et une prise de poids excessive conduisant à l'obésité, et une obésité qui pourrait par la suite augmenter le besoin protéique et l'hyperphagie associée. Cette théorie de « l'effet levier » des protéines est une hypothèse controversée, parmi tant d'autres, pour expliquer l'épidémie d'obésité qui touche de nombreux pays.

Une dernière partie de l'étude bibliographique porte sur les modèles de choix alimentaires dans l'étude de la consommation protéique. Cette partie qui a fait l'objet d'une revue publiée en 2021 dans le journal *Obesity Reviews*, revient sur les études qui ont comparé les effets de différents apports protéiques (en conditions de choix) sur la variation de consommation des autres macronutriments, sur l'adiposité et le métabolisme glucidique. Ce chapitre permet aussi de faire un état de l'art critique sur les modèles animaux de choix alimentaire, dont ceux qui ont été utilisés dans cette thèse. Peut-on alors considérer que les mécanismes de contrôle de l'ingestion de protéine chez le rat de laboratoire sont les mêmes que ceux qui sont recherchés chez l'Homme ? Les changements d'alimentation qui sont testés chez le rat ont-ils les mêmes conséquences de comportement alimentaire, de métabolisme et de composition corporelle chez l'Homme ? Joséphine GEHRING rappelle que l'utilisation de modèles animaux est imposée dans ce contexte par des questions éthiques qui pourraient se poser chez l'Homme soumis à des régimes déséquilibrés en protéines et autres macronutriments. Mais il est important de garder à l'esprit les limites du modèle animal utilisé.

Parmi les limites, on peut noter que les cinq expérimentations animales n'ont été réalisées que sur des rats mâles. Les différents régimes alimentaires étaient composés de protéines de lait, de glucides issus d'amidon de maïs et de saccharose, de lipides d'huile de soja, de vitamines et minéraux. La seule source de fibre semble avoir été la cellulose ajoutée à la concentration constante de 50g/kg.

Les cinq études pré-cliniques de cette thèse ont été réalisées selon deux orientations :

La première, appelée DSS pour *Dietary Self-Selection*, auto-sélection alimentaire en français, consistait à donner le choix entre plusieurs aliments de composition variable en macronutriments, et ainsi de laisser les animaux choisir librement leur régime alimentaire (proportions variables en protéines, glucides et lipides). De plus, la mise à disposition d'un aliment purement protéique (appelé 100P) permettait aux animaux de consommer des protéines indépendamment de la consommation d'énergie, de glucides et de lipides. L'objectif de cette première stratégie expérimentale était d'identifier un niveau d'apport protéique CIBLE auquel les rats tendraient à s'adapter, et d'observer les facteurs de variation associés à la quantité des deux autres macronutriments.

La deuxième orientation consistait à comparer des régimes avec différentes combinaisons de macronutriments dont des teneurs variables en protéines (3 à 50%), avec pour objectif de mesurer leurs effets sur la prise alimentaire, la dépense énergétique et la composition corporelle.

Les résultats des cinq expérimentations animales ont été regroupés dans quatre articles.

Quels sont les principaux résultats de ces études ?

La première étude publiée dans le *Journal of Nutrition* (2021) a permis d'observer que l'apport optimal en protéines (30% de l'énergie) est supérieur au niveau nécessaire pour assurer l'homéostasie protéique chez le rat (équilibre azoté) et qu'il varie en fonction de la teneur en glucides du régime. Les auteurs ont mis en évidence qu'un ratio protéines/glucides était maintenu constant autour de 70% quel que soit le régime proposé en DSS, alors que le ratio protéines/énergie n'était pas constant. Cela semble indiquer que les rats réguleraient le rapport protéines/glucides plutôt que le rapport protéines/énergie.

Dans cette première étude, le dosage plasmatique de l'hormone *fibroblast growth factor 21* (FGF21) a aussi été réalisé et a révélé un lien inverse entre l'apport protéique et la concentration plasmatique de cette hormone. Les rats sous DSS ou avec un régime à 30% de protéines montraient une concentration de FGF21 trois fois plus faible que les rats soumis à un régime « classique » à 15% de protéines. Avec cette dernière observation et les données de la littérature, Joséphine GEHRING et ses collaborateurs suggèrent que l'hormone FGF21 jouerait un rôle dans l'orientation des choix alimentaires vers les protéines pour maintenir un ratio protéines/glucides élevé et réduire la dépendance du métabolisme énergétique à l'insuline.

La deuxième étude publiée dans l'*American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* (2021) a été réalisée sur 70 rats qui ont été répartis entre douze régimes alimentaires pendant trois semaines. Les régimes ont été définis selon quelques combinaisons de ratio protéines/énergie (de 3 à 50%) et de ratio glucides/(glucides+lipides) (de 30 à 75%). La plupart des paramètres étudiés (composition corporelle, dépense énergétique, concentrations plasmatiques de FGF21 et d'IGF-1, et rapport Pomc/Agp) ont répondu

principalement à la teneur en protéines et, dans une moindre mesure, à la teneur en glucides du régime alimentaire. On peut retenir, en particulier, qu'une réduction de la teneur en protéines du régime conduit à une réduction de la masse maigre, une augmentation de la consommation énergétique et une augmentation de la dépense énergétique. Une étude complémentaire comparant un régime faible en protéines (5% de l'énergie) à un régime normoprotéique (15% de l'énergie) confirme que le niveau plus élevé de la dépense énergétique induit par le manque de protéines dans le régime est dû à un coût plus élevé de la régulation thermique et de la thermogénèse postprandiale.

La troisième étude publiée dans l'*American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism* (2022) a été réalisée en reprenant des données de la deuxième étude (rats nourris avec des régimes à 8, 15, 30, 40 et 50% de protéines par énergie) et en y ajoutant une expérimentation dans laquelle des rats soumis à un régime à 15% de protéines ont été ensuite mis dans un environnement permettant le choix entre un régime purement protéique et un régime sans protéine. Cette étude a montré que bien qu'un régime à 15% de protéine semble entraîner une croissance similaire à celle observée avec un régime à 30%, le régime à 15% conduit à un dépôt adipeux plus important et une prise de poids maximale comparée au régime à 30%. Les auteurs concluent à une plus forte sensibilité à l'obésité des rats nourris avec un régime à 15% de protéines. Avec cette étude, ils tentent aussi de confirmer leur hypothèse selon laquelle un régime à 15% de protéines est suffisant pour atteindre l'homéostasie protéique mais ne l'est pas pour atteindre une homéostasie énergétique optimale.

A la lecture du protocole de cette troisième étude, un biais majeur de confirmation d'hypothèse ne peut être exclu. En effet le régime à 15% de protéines est aussi plus riche en glucides (52% glucides/énergie) et en lipides (33% lipides/énergie) que le régime à 30% de protéines (respectivement 43 et 27%). Ce biais est classique en étude nutritionnelle.

Les concentrations plasmatiques de l'hormone FGF21 étaient très variables parmi les rats nourris au régime 15% de protéines, et en moyenne plus élevées que celles mesurées chez les rats nourris au régime 30% de protéines, ce qui apparaît comme étant une confirmation de l'hypothèse de départ selon laquelle l'FGF21 signalerait un déficit d'apport en protéines. Cependant la deuxième partie de cette étude a montré que les rats qui présentaient des taux plasmatiques élevés de FGF21, lorsqu'ils étaient nourris avec un régime à 15 % de protéines, ne s'étaient pas mis à consommer plus de protéines lorsqu'ils ont ensuite eu le choix entre un régime protéiné pur et un régime sans protéine. Dans la partie discussion de cette thèse, il est aussi indiqué que la consommation excessive de glucides pouvait augmenter la concentration plasmatique de FGF21. Le rôle de l'hormone FGF21 reste donc à préciser.

La quatrième et dernière étude avait pour objectif de vérifier l'hypothèse selon laquelle les protéines sont en partie ingérées à la place du glucose pour un meilleur contrôle de la glycémie. Elle avait aussi pour objectif de vérifier si les ratios protéines/énergie et protéines/glucides consommés avec un protocole de sélection libre chez le rat, seraient plus faibles lorsque l'indice glycémique (IG) de la source glucidique est bas. Cette étude confirme qu'en conditions de choix alimentaire, les rats sélectionnent un apport en protéines jusqu'à 30% d'énergie (donc bien supérieur au pourcentage pour atteindre l'homéostasie protéique).

Cette étude semble confirmer l'hypothèse de départ. En effet, le choix du pourcentage de protéines varie en fonction de la qualité des glucides (niveau d'IG). Le pourcentage de protéines consommées apparaît plus élevé lorsque l'IG du régime est élevé. Joséphine GEHRING et ses collaborateurs concluent qu'un niveau élevé de protéines consommées

équilibrerait les effets de la consommation de glucides sur l'organisme en abaissant la glycémie et le pic d'oxydation du glucose.

Plusieurs conclusions peuvent être tirées à partir des travaux très conséquents de cette thèse. Dans un ordre décroissant d'importance et de significativité (avis subjectif), je listerais cinq points :

- L'apport optimal en protéines, qui a été mesuré grâce à des études pré-cliniques d'auto-sélection alimentaire chez le rat, est supérieur aux niveaux nécessaires à l'équilibre azoté. Cet apport optimal fluctue avec la quantité et la qualité (IG) des glucides dans le but d'optimiser les régulations énergétiques.
- Le contrôle de l'apport protéique est privilégié aux contrôles de la prise alimentaire et de l'apport énergétique.
- La diminution des protéines dans le régime induit une augmentation de la prise alimentaire et de la dépense énergétique chez le rat. Cependant, les travaux de cette thèse ne permettent pas de conclure si l'augmentation de la prise alimentaire induit une augmentation adaptative de la dépense énergétique ou si c'est l'inverse.
- Contrairement à d'autres études qui rapportent un effet des glucides sur la concentration plasmatique de FGF21, les travaux de cette thèse indiquent, qu'à long terme chez le rat, seules les protéines ont un effet sur la concentration de cette hormone.
- Les études d'auto-sélection des aliments offrent la possibilité aux rats non seulement de sélectionner les bonnes proportions en macronutriments (et les bons ratios protéines/énergie, et protéines/glucides), mais aussi d'ordonner leur ingestion au cours du cycle circadien (sélectionner le moment et l'ordre de consommation des trois macronutriments). Ce libre choix de l'ordonnance des macronutriments semblerait avoir des effets bénéfiques sur le métabolisme glucidique et énergétique.

Joséphine GEHRING conclue que *ses résultats suggèrent que les protéines alimentaires ont un rôle qui va bien au-delà de la simple préservation du bilan azoté et que la quantité et la qualité des glucides de l'alimentation pourraient jouer un rôle important dans la régulation des apports protéiques.*

Cependant on peut regretter que le parallèle entre la nutrition humaine et celle des rats de laboratoire n'ait pas été discutée et que des limites des expérimentations n'aient pas été présentées en fin de manuscrit. Il est bien sûr admis que les études qui sont présentées ne pourraient être réalisées chez l'Homme pour des raisons éthiques, mais n'existe-t-il pas d'autres études épidémiologiques ou cliniques pour enrichir le débat ?

Est-ce que l'appétit d'un rat, son comportement alimentaire, ses préférences alimentaires, son ordonnance des macronutriments sont comparables à ceux de l'Homme. Ces paramètres ont-ils les mêmes effets sur le métabolisme de l'Homme ?

Joséphine GEHRING décrit par exemple qu'en situation d'apport protéique faible, une hausse de la dépense énergétique servirait à palier l'augmentation de la prise alimentaire (ou inversement) pour maintenir une composition corporelle optimale et éviter la prise de masse grasse. Cela est-il observé chez l'Homme ou uniquement chez le rat ?

Il est aussi conclu que *la contribution des protéines alimentaires au métabolisme énergétique, au même titre que les glucides et les lipides, permet d'équilibrer et d'optimiser l'apport énergétique*. Devons-nous vraiment considérer que les acides aminés sont une source énergétique « au même titre » que le glucose et les acides gras ?

Sur ce même sujet, l'apport protéique n'est exprimé qu'en pourcentage d'apport énergétique total (ex. 15%) alors que sa première fonction est l'homéostasie protéique. Sur un modèle très homogène de rats mâles âgés de sept semaines il n'est sans doute pas utile d'ajuster l'apport protéique sur la composition corporelle, mais ne serait-il pas utile d'en faire tout de même référence.

Dans la discussion, le paragraphe suivant a suscité mon questionnement :

« L'apport adéquat en protéines a été déterminé à 15% de l'énergie, en fonction du bilan azoté (FAO/WHO/UNU Expert Consultation et al., 2007), et dans nos résultats, nous avons bien vu que les rats nourris avec cette teneur avaient le taux de croissance le plus élevé. Cependant, ils avaient aussi tendance à être plus gras que les rats nourris avec 30% de protéines, ce qui suggérait que 30% serait un meilleur niveau pour soutenir la croissance avec un rapport optimal entre la masse maigre et le dépôt de graisse. » (Page 199)

Doit-on considérer que des rats qui s'orientent volontairement vers un régime à 30% de protéines, s'orientent forcément vers un régime qui est favorable à leur santé ? Est-ce la preuve d'un régime plus adapté pour la bonne santé, la reproduction, et l'espérance de vie de ce rongeur ?

Comment le « *rapport optimal entre la masse maigre et le dépôt de graisse* » est-il défini chez le rat ? Dans les expérimentations de cette thèse, les rats n'ont jamais été en véritable obésité. Doit-on considérer que plus la masse grasse est faible, plus la composition corporelle du rongeur est optimale ?

Une autre phrase a provoqué mon interrogation :

« La volonté des rats sous auto-sélection alimentaire d'ingérer de grandes quantités de protéines, et la variation des ratios PE en fonction de la teneur en glucides des régimes, nous ont conduit à considérer que l'appétit pour les protéines est probablement soutenu par des effets métaboliques positifs sur la prise alimentaire ... et sur la composition corporelle ... ».

Cette volonté est-elle vraiment guidée par un désir inconscient d'effets métaboliques positifs ? Ne pourrait-elle pas être associée à la crainte innée d'une pénurie future en protéines et d'une attirance pour les protéines disponibles à l'instant ?

Enfin, ma dernière remarque sur cette thèse concerne les apports actuels de protéines dans la population des pays industrialisés. Il aurait été intéressant de présenter et de discuter ces apports, soit dans l'introduction, soit dans la discussion. Il est admis que dans la population adulte des pays occidentaux, l'apport protéique est de 1,2-1,4 g/kg/jour, soit environ 16% de l'apport énergétique total. Cet apport moyen est donc environ le double du besoin moyen estimé sur la base du bilan azoté (0,66 g/kg/jour). Finalement, l'homme n'aurait-il pas le même comportement que le rat face à la consommation des protéines (c'est-à-dire doubler son apport par rapport au besoin utile pour l'homéostasie protéique) ?

Au total, Joséphine GEHRING a réalisé un travail très important en quantité et en qualité. Ce travail a été valorisé par deux articles dans les cahiers de Nutrition et de Diététique, une

communication courte dans les *Archives of Diabetes & Obesity*, trois articles dans l'*American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, et un dans le *Journal of Nutrition*. Ce travail fondamental sur modèle murin contribue à la discussion sur la place des protéines dans l'alimentation humaine. Il est évident que les références en termes de besoin nutritionnel en protéines ne devraient plus être établies uniquement sur la base du calcul du bilan azoté neutre. La compréhension du rôle des protéines dans la régulation de la prise alimentaire et dans le métabolisme énergétique doit se poursuivre par l'utilisation des différentes méthodologies. Bien que limitée à de l'expérimentation animale, cette thèse fait véritablement progresser la connaissance dans ce domaine.

Pour toutes ces raisons, cette thèse mérite que son analyse figure sur le site de l'Académie d'agriculture de France, à titre de valorisation.