



**HAL**  
open science

## Acides aminés à chaîne ramifiée et insulino-sensibilité : amis ou ennemis ?

Sergio Polakof

► **To cite this version:**

Sergio Polakof. Acides aminés à chaîne ramifiée et insulino-sensibilité : amis ou ennemis ?. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 2019, 54 (3), pp.164-171. 10.1016/j.cnd.2019.01.003 . hal-02167522

**HAL Id: hal-02167522**

**<https://hal.science/hal-02167522>**

Submitted on 25 Oct 2021

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25

**Acides aminés à chaîne ramifiée et insulino-sensibilité : amis ou ennemis  
?☆**

*Branched-chained amino acids and insulin sensitivity: friend or foe?*

**Sergio Polakof\***

Université Clermont Auvergne, INRA, UNH, Unité de Nutrition Humaine, CRNH Auvergne,  
F-63000 Clermont-Ferrand, France

☆ Article ayant fait l'objet d'une conférence lors des Journées Francophones de Nutrition de  
2017

Dr. Sergio Polakof

INRA, UMR 1019, UNH, F-63000 CLERMONT-FERRAND

Tel: 33 (0) 473624895; Fax: 33 (0) 473624638; e-mail: [sergio.polakof@inra.fr](mailto:sergio.polakof@inra.fr)

26 **Résumé**

27 Les acides aminés à chaîne ramifiée (AACR) jouent un rôle primordial dans la  
28 régulation de l'homéostasie énergétique et du métabolisme nutritionnel. Mais les AACR ne  
29 sont pas seulement des substrats pour la synthèse protéique car ils servent également de  
30 molécules de signalisation régulant le métabolisme du glucose, des lipides et des protéines,  
31 *via* les voies PI3K/AKT/mTOR. Bien qu'il ait été montré que les AACR peuvent améliorer la  
32 santé métabolique, une augmentation de leur taux plasmatique a été également associée à un  
33 risque élevé de diabète de type 2 (DT2). L'une des explications proposées concerne la  
34 suractivation de mTORC1 par les AACR. Alternativement, un modèle de dysmétabolisme  
35 propose que l'accumulation des métabolites dérivés des AACR favoriserait le  
36 dysfonctionnement mitochondrial des cellules  $\beta$  et adipocytaires exprimées lors du DT2.  
37 Cette revue se concentre donc sur les découvertes récentes associées aux voies métaboliques  
38 et de régulation des AACR, et les mécanismes sous-jacents à la relation entre les AACR et  
39 les processus pathologiques associés.

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52 **Mots clés :** acides aminés à chaîne ramifiée, obésité, diabète de type 2, résistance à l'insuline,  
53 métabolisme

54 **Abstract**

55           Branched-chain amino acids (BCAA) are essential amino acids, and play a key role in  
56 the regulation of energy homeostasis and nutritional metabolism. However, BCAA are not  
57 only substrates for protein synthesis, as they also serve as signalling molecules regulating the  
58 metabolism of glucose, lipids and proteins, via the PI3K/AKT/mTOR signalling pathways.  
59 Although it has been shown that BCAA can improve metabolic health, an increase in their  
60 plasma levels has also been associated with a high risk of future type 2 diabetes (T2D). One  
61 of the proposed explanations for this phenotype concerns the overactivation of mTORC1 by  
62 BCAA, as it has been shown that could induce insulin resistance. Alternatively, a model of  
63 dysmetabolism also proposes that the accumulation of BCAA-derived metabolites would  
64 favour the mitochondrial dysfunction of  $\beta$  cells and adipocytes expressed during T2D. This  
65 review will therefore focus on recent insights associated with metabolic and regulatory  
66 pathways of BCAA, and the mechanisms underlying the relationship between BCAA and the  
67 associated pathological processes.

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80 **Key words:** branched-chain amino acids, obesity, type 2 diabetes, insulin resistance,  
81 biomarkers, metabolism

82

83	<b>Abréviations</b>
84	3-HIB, 3-hydroxyisobutyrate
85	AA, acides aminés
86	AACR, acides aminés à chaîne ramifiée
87	AKT, protéine kinase B
88	ATAACR, aminotransférase d'acides aminés à chaîne ramifiée
89	CIC, $\alpha$ -cétoisocaproate
90	CIV, $\alpha$ -kétoisovalérate
91	CMV, $\alpha$ -céto- $\beta$ -méthylvalérate
92	DHCACR, complexe enzymatique déshydrogénase des cétoacides à chaîne ramifiée
93	DHCACRK, kinase du complexe enzymatique déshydrogénase des cétoacides à chaîne
94	ramifiée
95	DHCACRP, phosphatase du complexe enzymatique déshydrogénase des cétoacides à chaîne
96	ramifiée
97	DT2, diabète de type 2
98	eIF4E-eIF4G, facteur eucaryotes d'initiation de la translation de type 4E et 4G
99	HOMA, index d'évaluation du modèle d'homéostasie de la résistance à l'insuline
100	IGF-1, facteur de croissance 1 ressemblant à l'insuline
101	IRS-1, IRS-2, récepteur substrat de l'insuline de type 1 et 2
102	mTOR, cible mammalienne de la rapamycine
103	PI3K, phosphoinositide 3-kinase
104	RI, résistance à l'insuline
105	S6K1, protéine ribosomale de type de S6 kinase
106	
107	
108	
109	
110	
111	
112	
113	

## 114 **Introduction**

115 Les acides aminés (AA) sont les unités de base de la composition d'une protéine. Chez  
116 l'homme en bonne santé, neuf AA sont considérés comme essentiels, car ils ne peuvent pas  
117 être synthétisés de manière endogène et doivent donc être ingérés par le biais de  
118 l'alimentation. Parmi les AA essentiels, les trois AA à chaîne ramifiée (AACR), à savoir la  
119 leucine, la valine et l'isoleucine, ont une concentration plasmatique moyenne de 120, 220 et  
120 63 mM respectivement et une concentration intramusculaire sous forme libre moyenne de  
121 133, 253 et 68 mM d'eau intracellulaire. Les AACR représentent environ 35% des AA  
122 essentiels des protéines musculaires et, comme la masse musculaire humaine représente  
123 environ 40 à 45% de la masse corporelle totale, il a été constaté qu'une grande quantité des  
124 AACR est présente dans les protéines musculaires [1]. Chez les adultes, les AACR sont  
125 importants pour le maintien des protéines corporelles en plus d'être une source d'azote pour  
126 la synthèse de l'alanine et de la glutamine. Il existe des preuves démontrant le rôle clé des  
127 AACR - en particulier de la leucine - dans la régulation des processus anaboliques impliquant  
128 à la fois la synthèse et la dégradation des protéines musculaires. De plus, les AACR ont des  
129 effets thérapeutiques potentiels, car ils peuvent atténuer la perte de masse maigre lors de la  
130 réduction de la masse corporelle, promouvoir le processus de guérison, améliorer l'équilibre  
131 musculaire des protéines chez les personnes âgées et avoir des effets bénéfiques dans le  
132 traitement des pathologies hépatiques et rénales [2, 3].

133 Bien que les AA soient surtout connus en tant que substrats pour la synthèse des  
134 protéines, ils peuvent également avoir des fonctions de molécules bioactives dans le  
135 métabolisme. Les AACR ne sont pas une exception et constituent des signaux nutritionnels  
136 importants ayant des effets majeurs sur la synthèse des protéines, l'homéostasie du glucose,  
137 le développement de l'obésité, notamment à travers des voies de signalisation « senseurs de  
138 nutriments », comme celle de la phosphoinositide 3-kinase -protéine kinase B (PI3K-AKT),  
139 et la cible mammalienne de la rapamycine (mTOR) [4].

140 Il a été démontré qu'il existe une association positive entre un régime alimentaire  
141 riche en AACR et la santé métabolique, notamment la régulation du poids corporel, la  
142 synthèse des protéines musculaires et l'homéostasie du glucose [5, 6]. Malgré ces effets  
143 positifs des AACR sur la santé métabolique, leur élévation au niveau circulant a été corrélée à  
144 un risque accru de résistance à l'insuline (RI) et de diabète de type 2 (DT2) chez l'homme et  
145 chez plusieurs modèles de rongeurs (rats Zucker, souris *db/db*, souris *high fat*) [7]. Ce rôle  
146 paradoxal des AACR dans le métabolisme soulève plusieurs interrogations, incluant un effet

147 bénéfique ou nocif possible sur la santé des régimes riches en AACR, le rôle positif ou  
148 négatif des AACR dans l'homéostasie de l'insuline et du glucose, ou le rôle  
149 cause/conséquence des AACR dans le contexte des maladies métaboliques.

150 Dans cet article, les résultats récents sur le métabolisme des AACR seront abordés,  
151 leurs fonctions physiologiques et les voies de signalisation, ainsi que les mécanismes sous-  
152 jacents potentiels de déclenchement des maladies métaboliques et leur utilisation comme des  
153 biomarqueurs de la RI et du DT2.

#### 154 **Métabolisme des acides aminés à chaîne ramifiée**

155 En ce qui concerne le métabolisme des AACR, il est important de souligner les voies  
156 biochimiques impliquées dans leur catabolisme. Contrairement aux autres AA, qui sont  
157 principalement oxydés dans le tissu hépatique, le système enzymatique le plus actif pour  
158 l'oxydation des AACR est situé de façon prédominante dans le muscle squelettique. Bien que  
159 le foie ne puisse cataboliser directement les AACR, il possède un système très actif pour la  
160 dégradation de leurs cétoacides. Cette distribution tissulaire spécifique du catabolisme des  
161 AACR découle de la distribution unique des deux premières enzymes impliquées dans leur  
162 catabolisme, c'est-à-dire l'aminotransférase d'acides aminés à chaîne ramifiée (ATAACR) -  
163 qui catalyse la transamination des AACR dans une réaction réversible - et du complexe  
164 enzymatique déshydrogénase des cétoacides à chaîne ramifiée (DHCACR) –qui catalyse la  
165 décarboxylation oxydative des cétoacides à chaîne ramifiée dans une réaction irréversible [2,  
166 8, 9] (**Figure 1**).

167 La première réaction impliquée dans le catabolisme des AACR est donc la  
168 transamination par les isoenzymes de l'ATAACR, qui sont des enzymes dépendantes du  
169 pyridoxal-phosphate (vitamine B6) et qui acceptent les trois AACR comme substrats. En ce  
170 qui concerne l'activité tissulaire de l'enzyme ATAACR, il existe une activité élevée dans le  
171 cœur et les reins, une activité intermédiaire dans le muscle squelettique et une activité plus  
172 faible dans le foie. Dans les cellules de mammifères, deux ATAACR sont présentes, l'une  
173 mitochondriale et l'autre cytosolique. À partir de la réaction catalysée par l'ATAACR, les  
174 AACR sont convertis en leurs cétoacides respectifs, c'est-à-dire que la leucine est convertie  
175 en  $\alpha$ -cétoisocaproate (CIC) ; l'isoleucine en  $\alpha$ -céto- $\beta$ -méthylvalérate (CMV) ; et la valine en  
176  $\alpha$ -kétoisovalérate (CIV). Parallèlement, il a été montré que dans la réaction catalysée par  
177 l'ATAACR, il existe une conversion de l' $\alpha$ -cétoglutarate - accepteur d'azote provenant de  
178 l'AACR - en glutamate. À partir du glutamate, d'autres AA, tels que l'alanine et la glutamine,

179 peuvent être synthétisés. Ainsi, la transamination des AACR est un mécanisme de transfert  
180 d'azote des AACR en fonction du besoin des tissus en glutamate et d'autres AA non  
181 essentiels. Notamment, il convient de noter que les isoenzymes d'ATAACR des mammifères  
182 sont très spécifiques pour les AACR et le glutamate, les affinités des substrats étant les  
183 suivantes : leucine, isoleucine > valine > glutamate [10, 11].

184 Après la réaction catalysée par l'enzyme ATAACR et la formation consécutive des  
185 cétoacides à chaîne ramifiée, ceux-ci peuvent subir une décarboxylation oxydative catalysée  
186 par le complexe enzymatique DHCACR - présent à la surface interne de la membrane  
187 mitochondriale (**Figure 1**). Au cours de cette réaction, les cétoacides CIC, CMV et CIV sont  
188 convertis en isovaléryl-CoA, 3-méthylbutyryl-CoA et isobutyryl-CoA, respectivement.  
189 L'activité du complexe DHCACR est plus élevée dans le foie, intermédiaire dans les reins et  
190 le cœur et comparativement plus faible dans les muscles, le tissu adipeux et le cerveau [12].

191 Le complexe DHCACR est la principale enzyme régulatrice de la voie catabolique  
192 des AACR, considérée comme l'étape limitante du flux du catabolisme des AACR. L'activité  
193 du complexe DHCACR - contrairement à l'ATAACR - est fortement régulée par un cycle de  
194 phosphorylation/déphosphorylation. L'enzyme DHCACR kinase (DHCACRK) favorise  
195 l'inactivation du DHCACR par phosphorylation de la sous-unité E1 $\alpha$ , tandis que la DHCACR  
196 phosphatase (DHCACRP) est responsable de l'activation du complexe par déphosphorylation  
197 de la sous-unité E1 $\alpha$  [10, 13].

198 L'activation du complexe DHCACR sur le court terme peut être réalisée par une  
199 inhibition de l'activité de l'enzyme DHCACRK par le CIC, qui résulte de la transamination de  
200 la leucine. Les analogues structuraux du CIC, notamment l'octanoate, le  $\alpha$ -chloro-isocaproate  
201 et l'acide clofibrique, favorisent également l'activation du complexe DHCACR par inhibition  
202 directe de la DHCACRK. Les mécanismes de contrôle sur le long terme comprennent : (i)  
203 une diminution de l'expression génique des sous-unités du DHCACR par un apport faible en  
204 protéines ; (ii) l'augmentation de l'expression de la DHCACRK induite par un régime pauvre  
205 en protéines et par les hormones thyroïdiennes ; et (iii) une diminution de l'expression de la  
206 DHCACRK en raison d'un apport élevé en protéines, par une situation de jeûne, ou par une  
207 augmentation des glucocorticoïdes ou du clofibrate. Par conséquent, il a été montré que  
208 l'activité du complexe DHCACR est significativement réduite chez des animaux nourris avec  
209 des régimes hypoprotéiques ou traités avec des hormones thyroïdiennes, mais que son activité  
210 augmente chez les animaux soumis au jeûne, au diabète, au sepsis, au cancer, à l'urémie, aux

211 infections et aux maladies inflammatoires causées par l'endotoxémie ou les cytokines [14,  
212 15].

213       Après la deuxième étape du catabolisme des AACR induite par le complexe  
214 DHCACR, les produits de cette réaction - les dérivés d'acyl-CoA à chaîne ramifiée -  
215 subissent une oxydation par le biais de deux déshydrogénases différentes. Après cette étape,  
216 les voies cataboliques de chacun des AACR commencent à diverger. La leucine est cétoène  
217 car elle produira de l'acétyl-CoA et de l'acétoacétate, tandis que la valine est glycoène, du  
218 fait qu'elle est convertie en succinyl-CoA - intermédiaire du cycle de Krebs. L'isoleucine et la  
219 valine sont toutes deux métabolisées en succinate *via* le méthylmalonyl-CoA. L'acétoacétate  
220 est l'autre produit du métabolisme de l'isoleucine et peut donc être considéré comme un acide  
221 aminé glycoène et cétoène [16].

## 222 **Processus affectant les niveaux circulants d'AACR**

223       Pour comprendre les résultats apparemment contradictoires concernant les niveaux  
224 circulants d'AACR et la santé, il est utile de comprendre les processus qui contribuent aux  
225 taux d'apparition et de disparition des AACR dans la circulation. Les processus contribuant à  
226 leur apparition comprennent l'alimentation et la dégradation des protéines tissulaires.  
227 Cependant, dans le cas de l'association rapportée entre les AACR et la RI, le phénotype n'est  
228 pas dû à une surnutrition récente (par exemple, quelques heures après le repas). De plus,  
229 presque toutes les études ont été conduites *a jeun*. Cela ne veut pas dire que la  
230 suralimentation n'est pas la cause de l'augmentation du taux des circulants des AACR, mais  
231 que d'autres processus influençant les échanges de ces AA modifient leurs concentrations  
232 plasmatiques chez les individus *a jeun*, y compris ceux souffrant d'obésité.

233       La dégradation des protéines peut être régulée par des modifications de l'autophagie  
234 ou de la dégradation induite par le protéasome. Les taux de dégradation des protéines dans les  
235 muscles et le foie peuvent être inhibés par l'insuline, le facteur de croissance analogue à  
236 l'insuline (IGF-1) et les AACR *via* une altération de l'autophagie induite par mTORC1 et  
237 AKT [17, 18] et de la voie protéasomique de l'ubiquitine [19-21]. Les AACR et l'insuline  
238 agissent généralement en complément ou en synergie pour activer mTORC1. Cet ajout, en  
239 plus de l'action plus spécifique de l'insuline sur la dégradation des protéines, pourrait  
240 expliquer le fait que les niveaux d'AACR et la dégradation des protéines sont fréquemment  
241 augmentés chez les individus *a jeun* souffrant d'obésité et de RI, ainsi que chez ceux  
242 présentant un DT2 mal contrôlé [22, 23].

243 Les principaux processus affectant la disparition des AACR du compartiment  
244 plasmatique incluent la synthèse des protéines, leur excrétion et leur catabolisme et/ou leur  
245 oxydation. En fait, l'insuline et les AA stimulent la synthèse protéique pendant la croissance  
246 [24]. Chez l'homme adulte dont le poids est stable, cet effet de l'insuline est soit moins  
247 important, soit non apparent (bien que la dégradation des protéines soit affectée), alors que  
248 les AA et l'IGF-1 stimulent la synthèse des protéines [25]. Paradoxalement, plusieurs études  
249 suggèrent qu'en cas d'obésité, de RI et de DT2, la synthèse des protéines musculaires reste  
250 soit inchangée, soit augmentée [22, 23]. L'excrétion des AACR pourrait également être  
251 affectée par l'obésité ou la RI, en raison de l'augmentation des taux d'AA circulants [26],  
252 mais il reste à déterminer dans quelle mesure ce processus est affecté chez l'homme.

### 253 **Les effets positifs des AACR sur la santé métabolique**

254 Bien que l'association entre les niveaux élevés des AACR et la RI ait été démontrée  
255 dans de nombreuses études chez l'homme et l'animal, une augmentation du niveau des  
256 AACR peut également entraîner des effets positifs, notamment une amélioration de certains  
257 paramètres métaboliques tels que la composition corporelle, les niveaux de glycémie et la  
258 satiété [27].

259 Les AACR contrôlent ainsi la libération d'hormones dans le tractus gastro-intestinal et  
260 dans le tissu adipeux. Par exemple, chez des souris obèses, la consommation de leucine  
261 pendant six semaines a entraîné une augmentation de l'adiponectine et une diminution du  
262 cholestérol au niveau plasmatique, sans aucune modification du poids corporel ni de la masse  
263 adipeuse [28]. Les AACR et les protéines alimentaires ont été aussi capables d'améliorer la  
264 libération du glucagon-like peptide-1 et de réduire les niveaux d'expression des gènes  
265 nécessaires à la synthèse et à l'absorption des acides gras dans une lignée cellulaire intestinale  
266 humaine (NCI-H716), suggérant un mécanisme intestinal pour l'effet bénéfique des AACR  
267 [29]. En outre, les taux élevés d'AACR sont capables d'induire des réponses insulinémiques  
268 et des effets insulinothropes chez la souris [30], ce qui peut se traduire par une amélioration de  
269 la glycémie.

270 Avec l'insuline, les AACR agissent également en tant que signaux anaboliques pour  
271 moduler la croissance des tissus consommateurs d'énergie tels que le muscle squelettique et  
272 le tissu adipeux. Les AA sont nécessaires à la synthèse des protéines et en particulier les  
273 AACR stimulent également la voie de signalisation de mTORC1 pour réguler la traduction  
274 des ARNm [31]. Ainsi l'activation de mTOR par la leucine résulte en une augmentation du

275 complexe eIF4E-eIF4G, en facilitant la disponibilité d'eIF4E et en phosphorylant eIF4G, ce  
276 qui entraîne une accélération de la synthèse protéique [31]. L'administration orale de leucine  
277 à des rats augmente la synthèse des protéines dans le tissu adipeux, le muscle gastrocnémien  
278 et les reins, mais pas dans le foie ou le cœur. À l'inverse, les repas riches en glucides  
279 n'altèrent la synthèse protéique dans aucun tissu, mais ils entraînent une augmentation  
280 robuste de l'insuline, suggérant que la leucine est un signal nutritionnel direct capable  
281 d'induire la synthèse de protéines [32]. De plus, la leucine inhibe partiellement l'atrophie  
282 musculaire en réduisant la protéolyse et l'autophagie [18]. La synthèse protéique induite par  
283 les AA montre aussi une corrélation positive avec la dépense énergétique [33]. Les  
284 suppléments en AACR peuvent avoir également un effet bénéfique sur certaines maladies  
285 hépatiques, en stimulant la synthèse protéique, la sécrétion du facteur de croissance hépatique  
286 et en inhibant la protéolyse [34]. L'augmentation de la leucinémie par le biais de sa  
287 consommation dans l'eau de boisson a été aussi démontré comme étant capable d'entraîner,  
288 chez des souris nourries avec un régime riche en lipides, une amélioration de la tolérance au  
289 glucose et de la sensibilité à l'insuline, ainsi qu'une diminution de la stéatose hépatique et de  
290 l'inflammation au niveau du tissu adipeux, sans affecter la prise alimentaire ni la prise de  
291 poids [35].

292 Dans l'ensemble, les régimes riches en AACR et la supplémentation en AACR  
293 semblent donc jouer un rôle positif dans le contrôle du poids et de l'homéostasie du glucose,  
294 ce qui corrobore la recommandation alimentaire de majorer les apports en protéines pour  
295 augmenter les niveaux d'AACR.

## 296 **Les effets négatifs des AACR sur le métabolisme**

297 Des études métaboliques récentes et des études approfondies de profilage  
298 métabolomique ont régulièrement montré une perturbation du métabolisme normal des AA et  
299 une augmentation de certains d'entre eux, souvent des AACR, dans des modèles d'obésité ou  
300 de DT2 chez les rongeurs, ainsi que chez les patients obèses ou DT2 (voir réf. 5 pour plus de  
301 détails). Compte-tenu des effets bénéfiques des AACR sur le métabolisme et la santé en  
302 général mentionnés ci-dessus, la corrélation entre les AACR circulants et la RI, l'obésité et le  
303 DT2 semble être contradictoire.

304 Newgard et al. ont montré que les niveaux d'AACR, d'AA aromatiques et de certains  
305 sous-produits des AACR étaient plus fortement corrélés à la sensibilité à l'insuline et à  
306 l'indice HOMA de RI que certaines espèces lipidiques (acides gras à chaîne longue, corps

307 cétoniques et acylcarnitines à chaîne moyenne) [36]. Ils ont ainsi mesuré la concentration de  
308 plus d'une centaine de métabolites chez des sujets obèses et RI et des sujets minces et  
309 sensibles à l'insuline. Les données ont été soumises à des analyses de composantes  
310 principales pour constituer la signature responsable de la RI (groupe de métabolites parmi  
311 ceux mesurés fortement associés à la RI). Par ailleurs, cette association préférentielle des  
312 AACR avec la RI a été démontrée chez des sujets sains et de poids normal [37]. La  
313 quantification de 191 métabolites par spectrométrie de masse a révélé que la diminution du  
314 taux des AACR, conjointement avec celle du glycérol, est un facteur fortement prédictif de la  
315 sensibilité à l'insuline. Conformément à ces résultats, Hattersley et al. ont montré que la  
316 signature métabolique composée de certains AA, et notamment des AACR était modulée par  
317 un régime pauvre en lipides en comparaison avec un régime normal et isoénergétique en  
318 absence de changement de poids, impliquant que ces signatures métaboliques pouvaient être  
319 utilisées pour évaluer un risque possible de diabète [38]. L'association entre la signature des  
320 AACR et la RI a été également corroborée par l'étude de Fiehn et al. qui montrait que parmi  
321 plus de 350 métabolites, la leucine et la valine présentaient des valeurs augmentées chez les  
322 femmes afro-américaines atteintes de DT2 [39]. Depuis, plusieurs études longitudinales dans  
323 différentes cohortes ont révélé que les AACR anticipaient la probabilité future de développer  
324 une RI ou un DT2 [6, 40].

325 Malgré les effets positifs des AACR sur le métabolisme, la forte association de leurs  
326 taux avec la RI et le syndrome métabolique suggère qu'une augmentation des niveaux des  
327 AACR pourrait entraîner une RI et *in fine* du DT2, bien que cela reste à démontrer, car le  
328 mécanisme sous-jacent à cette corrélation n'est pas encore complètement compris.

329

### 330 **Mécanismes possibles de résistance à l'insuline médiés par mTOR**

331 Plusieurs études ont montré qu'une activation persistante des voies de signalisation  
332 des nutriments pourrait entraîner une RI par le biais de l'activation de la voie de mTORC1 par  
333 les AACR [41, 42] (**Figure 2**). Ainsi une suractivation des sérine kinases S6K1 et mTORC1  
334 favoriserait la RI par le biais d'une phosphorylation sur la sérine des substrats du récepteur de  
335 l'insuline (IRS)-1 et de l'IRS-2, qui pourrait survenir en réponse à une hyperinsulinémie ou à  
336 une aminoacidémie chroniques. Cependant, bien que certaines preuves expérimentales  
337 appuient cette hypothèse, un certain nombre d'observations ne soutiennent pas le concept  
338 d'activation de mTORC1 par les AACR. Bien que les AACR soient associés à la signalisation

339 mTORC1 dans le muscle squelettique, cette voie est également activée par l'exercice, un  
340 facteur connu dans la prévention et la régression des phénotypes de DT2 insulino-résistants.  
341 Par ailleurs, comme expliqué plus haut, plusieurs études ont montré que des suppléments  
342 en AACR étaient capables d'induire des améliorations métaboliques tout en activant la voie  
343 de signalisation de mTORC1 [35]. De plus, dans une grande partie des études soutenant ce  
344 modèle, de fortes doses de leucine ont été administrées par voie orale [32], et de ce fait, il  
345 n'est pas clair si les changements faibles observés dans les taux d'AACR chez les patients  
346 atteints de RI ou d'obésité suffisent pour affecter de façon indépendante la phosphorylation  
347 de la sérine des IRS-1 et IRS-2.

### 348 **Dysmétabolisme des AACR**

349 Outre l'activation persistante de mTORC1, des altérations du métabolisme des AACR  
350 sont liées à la RI et au DT2 par l'accumulation dans la circulation d'intermédiaires  
351 éventuellement toxiques et de ces AA.

352 Comme expliqué plus haut, l'isoforme mitochondriale d'ATAACR catalyse la  
353 première étape du métabolisme des AACR dans la plupart des tissus périphériques. Ainsi, les  
354 concentrations des métabolites des AACR sont réduites dans les tissus périphériques des  
355 souris ATAACR2<sup>-/-</sup> [43]. Cependant, malgré l'activation persistante de mTORC1, les souris  
356 ATAACR2<sup>-/-</sup> ne présentent pas un phénotype de RI. Au lieu de cela, elles présentent une  
357 amélioration du contrôle de la glycémie et de la sensibilité à l'insuline avec une dépense  
358 énergétique élevée, probablement en raison de la perte de précurseurs gluconéogéniques.

359 L'étape suivante de la voie métabolique des AACR est catalysée par le complexe  
360 DHCACR. Dans le tissu adipeux des patients souffrant d'obésité et de DT2 présentant une RI,  
361 l'expression des gènes codant pour les enzymes du métabolisme des AACR est  
362 significativement diminuée, notamment ceux codant pour les enzymes catalysant les deux  
363 premières étapes conduisant à une augmentation du taux plasmatique (ATAACR/DHCACR)  
364 [44, 45]. Étant donné que le métabolisme des AACR au niveau du corps entier est fortement  
365 dépendant des échanges entre les organes, l'expression de ces mêmes enzymes dans d'autres  
366 organes, tels que le foie et les muscles, ne doit pas être négligée. Ainsi, l'expression des gènes  
367 codant pour les enzymes du métabolisme des AACR a été montrée comme étant réduite dans  
368 les tissus musculaires et hépatiques des patients atteints de DT2 [46]. En revanche, l'activité  
369 de la DHCACR dans le foie est effectivement accrue et pourrait compenser la diminution de  
370 l'activité dans le tissu adipeux [47].

## 371 **Les AACR comme biomarqueurs de maladies métaboliques**

372 La RI est définie comme une diminution de l'efficacité de l'insuline lors de  
373 l'absorption et de l'utilisation du glucose. Dans un contexte de surnutrition ou d'obésité, la  
374 dérégulation du métabolisme du glucose et des acides gras peut donc conduire à un  
375 dysfonctionnement mitochondrial entraînant une RI. Plus concrètement, une réduction de  
376 l'oxydation des acides gras dans le tissu adipeux chez l'obèse a été associée à un catabolisme  
377 élevé des AACR dans le muscle ainsi qu'à une accumulation d'intermédiaires lipidiques tels  
378 que l'acylcarnitine, capable d'altérer l'action de l'insuline [41]. Par conséquent, la  
379 concentration d'acylcarnitine circulante pourrait être considérée comme un biomarqueur  
380 d'une RI. Dans une autre étude, Allam-Ndoul et al. ont montré que les concentrations  
381 plasmatiques d'AACR avaient une meilleure performance comme biomarqueurs de la RI que  
382 les taux de glucose plasmatique chez les patients pré-diabétiques [48].

383 D'autres biomarqueurs candidats des défauts de métabolisme des AACR sont les  
384 intermédiaires de leur catabolisme, comme le 3-hydroxyisobutyrate (3-HIB), sécrété par les  
385 cellules musculaires et capable de réguler le transport des acides gras trans-endothéliaux et de  
386 favoriser l'accumulation de lipides dans le muscle chez la souris RI [49]. Par ailleurs, les taux  
387 de 3-HIB sont augmentés dans les muscles de souris et d'hommes diabétiques par rapport à  
388 leurs témoins respectifs [50]. Ces résultats suggèrent donc que le 3-HIB pourrait servir de  
389 biomarqueur de défaut métabolique associé aux AACR dans des maladies métaboliques  
390 comme le DT2 ou la RI.

391 Comme expliqué plus haut, des modifications du catabolisme des AACR chez les  
392 patients diabétiques ont déjà été rapportées il y a plusieurs décennies. Depuis, de nombreuses  
393 études ont essayé de mettre en évidence des associations entre les AACR et la maladie et  
394 d'utiliser les taux circulants de ces AA comme biomarqueurs d'un développement précoce du  
395 diabète. Ainsi, une étude d'association entre la consommation cumulée d'AACR et le risque  
396 de développer le DT2 suggère que des apports alimentaires élevés en AACR sont associés à  
397 un risque accru de DT2 dans trois cohortes prospectives [51]. Des associations similaires ont  
398 été observées dans une population asiatique [52]. Les sources de protéines alimentaires sont  
399 étroitement liées à l'adiposité corporelle et à la santé métabolique, notamment dans un  
400 contexte de diabète. Dans une étude explorant les conséquences d'un changement de régime  
401 vers une diète de type végétane a également montré que lors de cette transition, les taux  
402 d'AACR étaient significativement réduits, et associés à une diminution du risque de

403 développer du diabète. Ceci suggère donc que les AACR pourraient aussi fonctionner comme  
404 des biomarqueurs de transitions alimentaires associées au développement de certaines  
405 maladies métaboliques, comme le DT2 ou l'obésité [53].

406 De la même façon, de nombreuses études indiquent que les AACR ont un fort  
407 potentiel de prédire le développement du diabète sur le long terme. Les profils d'AA  
408 plasmatiques, en particulier les taux d'AACR, ont été montrés comme altérés bien avant  
409 l'installation du DT2 et sont associés de manière significative à un futur diagnostic positif de  
410 la maladie [6]. Ces altérations du profil des AA pourraient résulter principalement du  
411 changement métabolique provoqué par la pathogenèse précoce du diabète. Dans une étude  
412 récente, les profils des métabolites, y compris les AA, les AACR et d'autres métabolites  
413 polaires ont été déterminés chez 2 422 sujets normoglycémiques dont 201 avaient développé  
414 un diabète au cours des 12 années suivantes. Les résultats montrent que les trois AACR et  
415 deux AA aromatiques (tyrosine et phénylalanine) avaient des associations très significatives  
416 avec un diabète futur. Ces résultats soulignent l'importance potentielle des profils des AA  
417 dans l'évaluation du risque de diabète [54].

## 418 **Conclusions**

419 L'association entre les AACR, l'obésité, la RI et le DT2 a incité à considérer les taux  
420 circulants de ces AA comme prédicteurs d'une RI ou d'un DT2 à venir, malgré les effets  
421 bénéfiques de la supplémentation en AACR et d'un régime alimentaire riche en ces AA.

422 Deux mécanismes ont été proposés pour expliquer comment des niveaux élevés  
423 d'AACR pourraient être liés à certaines maladies métaboliques. Le premier concerne  
424 l'activation persistante du complexe de détection de nutriments, mTORC1. Des AACR élevés  
425 stimulent mTORC1, un complexe de détection des nutriments, et entraînent, après la  
426 phosphorylation de la sérine d'IRS-1, une RI et d'autres troubles métaboliques. Cependant,  
427 des travaux récents ont soulevé des questions concernant le fait que l'activation de mTOR par  
428 des changements physiologiques du niveau des AACR pourrait être suffisante ou insuffisante  
429 pour provoquer une RI et des troubles métaboliques ultérieurs. Alternativement, un  
430 dysmétabolisme des AACR ou une oxydation incomplète de ceux-ci pourraient favoriser  
431 l'installation d'un stress anaplérotique et d'un déséquilibre anaplérose-cataplérose  
432 contribuant à une fonction mitochondriale sous-optimale dans le cas d'un DT2. Bien que les  
433 modèles d'obésité chez les rongeurs et l'homme souffrant d'une RI présentent  
434 universellement des taux réduits d'enzymes catabolisant les AACR dans le tissu adipeux par

435 rapport à des témoins métaboliquement sains, il a été prouvé que ces réductions de la capacité  
436 métabolique dans le tissu adipeux pourraient s'étendre à d'autres tissus ou être compensées  
437 par l'augmentation de l'activité du complexe DHCACR dans le foie.

438 En résumé, des études récentes proposent une association étroite entre les AACR et la  
439 RI. Plusieurs mécanismes par lesquels une augmentation des AACR induit une RI ont été  
440 proposés. Les nouvelles découvertes relatives à la voie de signalisation des AACR et à leur  
441 métabolisme élargissent notre compréhension de la RI. Toutefois, il reste à déterminer si les  
442 AACR sont simplement des biomarqueurs de la RI ou s'ils contribuent directement à son  
443 installation. Cette question suscite un intérêt accru pour la recherche. Ainsi, bien que des  
444 mécanismes aient été proposés pour expliquer comment une augmentation des niveaux des  
445 AACR pourrait conduire à une RI ou à l'obésité, il convient de noter que des niveaux élevés  
446 d'AACR sont plus susceptibles de constituer un biomarqueur de la RI et non, en tant que tels,  
447 une cause.

448

#### 449 **Déclaration d'intérêts**

450 L'auteur déclare ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

451

#### 452 **Légendes**

453 **Figure 1.** Principale voie de catabolisme des acides aminés à chaîne ramifiée. Adapté de  
454 Brosnan et Brosnan, 2006 [16]

455 **Figure 2.** Relation entre la sur-activation de la voie de signalisation de mTOR et la résistance  
456 à l'insuline. AACR, acides aminés à chaîne ramifiée. Adapté de Lynch et Adams, 2014 [5].

457

#### 458 **Références**

- 459 [1] Wagenmakers AJ. Muscle amino acid metabolism at rest and during exercise: role in  
460 human physiology and metabolism. *Exerc Sport Sci Rev.* 1998;26:287-314.
- 461 [2] Shimomura Y, Harris RA. Metabolism and physiological function of branched-chain  
462 amino acids: discussion of session 1. *J Nutr.* 2006;136:232S-233S.

- 463 [3] Tom A, Nair KS. Assessment of branched-chain amino acid status and potential for  
464 biomarkers. *J Nutr.* 2006;136:324S-330S.
- 465 [4] Nakamura H, Jinzu H, Nagao K, Noguchi Y, Shimba N, Miyano H, et al. Plasma  
466 amino acid profiles are associated with insulin, C-peptide and adiponectin levels in  
467 type 2 diabetic patients. *Nutr Diabetes.* 2014;4:e133.
- 468 [5] Lynch CJ, Adams SH. Branched-chain amino acids in metabolic signalling and  
469 insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10:723-736.
- 470 [6] Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, et al. Metabolite  
471 profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med.* 2011;17:448-453.
- 472 [7] Giesbertz P, Daniel H. Branched-chain amino acids as biomarkers in diabetes. *Curr*  
473 *Opin Clin Nutr Metab Care.* 2016;19:48-54.
- 474 [8] Shimomura Y, Yamamoto Y, Bajotto G, Sato J, Murakami T, Shimomura N, et al.  
475 Nutraceutical effects of branched-chain amino acids on skeletal muscle. *J Nutr.*  
476 2006;136:529S-532S.
- 477 [9] Shimomura Y, Honda T, Shiraki M, Murakami T, Sato J, Kobayashi H, et al.  
478 Branched-chain amino acid catabolism in exercise and liver disease. *J Nutr.*  
479 2006;136:250S-253S.
- 480 [10] Harris RA, Joshi M, Jeoung NH. Mechanisms responsible for regulation of branched-  
481 chain amino acid catabolism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;313:391-396.
- 482 [11] Hutson SM, Sweatt AJ, LaNoue KF. Branched-chain amino acid metabolism:  
483 implications for establishing safe intakes. *The Journal of Nutrition.* 2005;135:1557S-  
484 1564S.
- 485 [12] Harper AE, Miller RH, Block KP. Branched-chain amino acid metabolism. *Annu Rev*  
486 *Nutr.* 1984;4:409-454.
- 487 [13] Shimomura Y, Murakami T, Nakai N, Nagasaki M, Harris RA. Exercise promotes  
488 BCAA catabolism: effects of BCAA supplementation on skeletal muscle during  
489 exercise. *J Nutr.* 2004;134:1583S-1587S.
- 490 [14] Shiraki M, Shimomura Y, Miwa Y, Fukushima H, Murakami T, Tamura T, et al.  
491 Activation of hepatic branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex by  
492 tumor necrosis factor-alpha in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;328:973-  
493 978.
- 494 [15] Torres N, Lopez G, De Santiago S, Hutson SM, Tovar AR. Dietary protein level  
495 regulates expression of the mitochondrial branched-chain aminotransferase in rats. *J*  
496 *Nutr.* 1998;128:1368-1375.

- 497 [16] Brosnan JT, Brosnan ME. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate  
498 regulation. *J Nutr.* 2006;136:207S-211S.
- 499 [17] May ME, Buse MG. Effects of branched-chain amino acids on protein turnover.  
500 *Diabetes Metab Rev.* 1989;5:227-245.
- 501 [18] Dodd KM, Tee AR. Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol*  
502 *Endocrinol Metab.* 2012;302:E1329-1342.
- 503 [19] Maki T, Yamamoto D, Nakanishi S, Iida K, Iguchi G, Takahashi Y, et al. Branched-  
504 chain amino acids reduce hindlimb suspension-induced muscle atrophy and protein  
505 levels of atrogin-1 and MuRF1 in rats. *Nutr Res.* 2012;32:676-683.
- 506 [20] Glass DJ. Signaling pathways perturbing muscle mass. *Curr Opin Clin Nutr Metab*  
507 *Care.* 2010;13:225-229.
- 508 [21] Greenhaff PL, Karagounis LG, Peirce N, Simpson EJ, Hazell M, Layfield R, et al.  
509 Disassociation between the effects of amino acids and insulin on signaling, ubiquitin  
510 ligases, and protein turnover in human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*  
511 2008;295:E595-604.
- 512 [22] Guillet C, Masgrau A, Boirie Y. Is protein metabolism changed with obesity? *Curr*  
513 *Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14:89-92.
- 514 [23] Nilsson MI, Dobson JP, Greene NP, Wiggs MP, Shimkus KL, Wudeck EV, et al.  
515 Abnormal protein turnover and anabolic resistance to exercise in sarcopenic obesity.  
516 *FASEB J.* 2013;27:3905-3916.
- 517 [24] O'Connor PM, Bush JA, Suryawan A, Nguyen HV, Davis TA. Insulin and amino  
518 acids independently stimulate skeletal muscle protein synthesis in neonatal pigs. *Am J*  
519 *Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284:E110-119.
- 520 [25] Fryburg DA, Jahn LA, Hill SA, Oliveras DM, Barrett EJ. Insulin and insulin-like  
521 growth factor-I enhance human skeletal muscle protein anabolism during  
522 hyperaminoacidemia by different mechanisms. *J Clin Invest.* 1995;96.
- 523 [26] She P, Olson KC, Kadota Y, Inukai A, Shimomura Y, Hoppel CL, et al. Leucine and  
524 protein metabolism in obese Zucker rats. *PLoS ONE.* 2013;8:e59443.
- 525 [27] Yoon MS. The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance  
526 and Metabolism. *Nutrients.* 2016;8.
- 527 [28] Torres-Leal FL, Fonseca-Alaniz MH, Teodoro GF, de Capitani MD, Vianna D,  
528 Pantaleao LC, et al. Leucine supplementation improves adiponectin and total  
529 cholesterol concentrations despite the lack of changes in adiposity or glucose

530 homeostasis in rats previously exposed to a high-fat diet. *Nutr Metab (Lond)*.  
531 2011;8:62.

532 [29] Chen Q, Reimer RA. Dairy protein and leucine alter GLP-1 release and mRNA of  
533 genes involved in intestinal lipid metabolism in vitro. *Nutrition*. 2009;25:340-349.

534 [30] Sener A, Malaisse WJ. The stimulus-secretion coupling of amino acid-induced insulin  
535 release: insulinotropic action of branched-chain amino acids at physiological  
536 concentrations of glucose and glutamine. *Eur J Clin Invest*. 1981;11:455-460.

537 [31] Vary TC, Lynch CJ. Nutrient signaling components controlling protein synthesis in  
538 striated muscle. *J Nutr*. 2007;137:1835-1843.

539 [32] Lynch CJ, Patson BJ, Anthony J, Vaval A, Jefferson LS, Vary TC. Leucine is a  
540 direct-acting nutrient signal that regulates protein synthesis in adipose tissue. *Am J*  
541 *Physiol Endocrinol Metab*. 2002;283:E503-513.

542 [33] Giordano M, Castellino P. Correlation between amino acid induced changes in energy  
543 expenditure and protein metabolism in humans. *Nutrition*. 1997;13:309-312.

544 [34] Tajiri K, Shimizu Y. Branched-chain amino acids in liver diseases. *Transl*  
545 *Gastroenterol Hepatol*. 2018;3:47.

546 [35] Macotela Y, Emanuelli B, Bang AM, Espinoza DO, Boucher J, Beebe K, et al.  
547 Dietary leucine: an environmental modifier of insulin resistance acting on multiple  
548 levels of metabolism. *PLoS One*. 2011;6:e21187.

549 [36] Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, et al. A  
550 branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and  
551 lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab*. 2009;9:311-326.

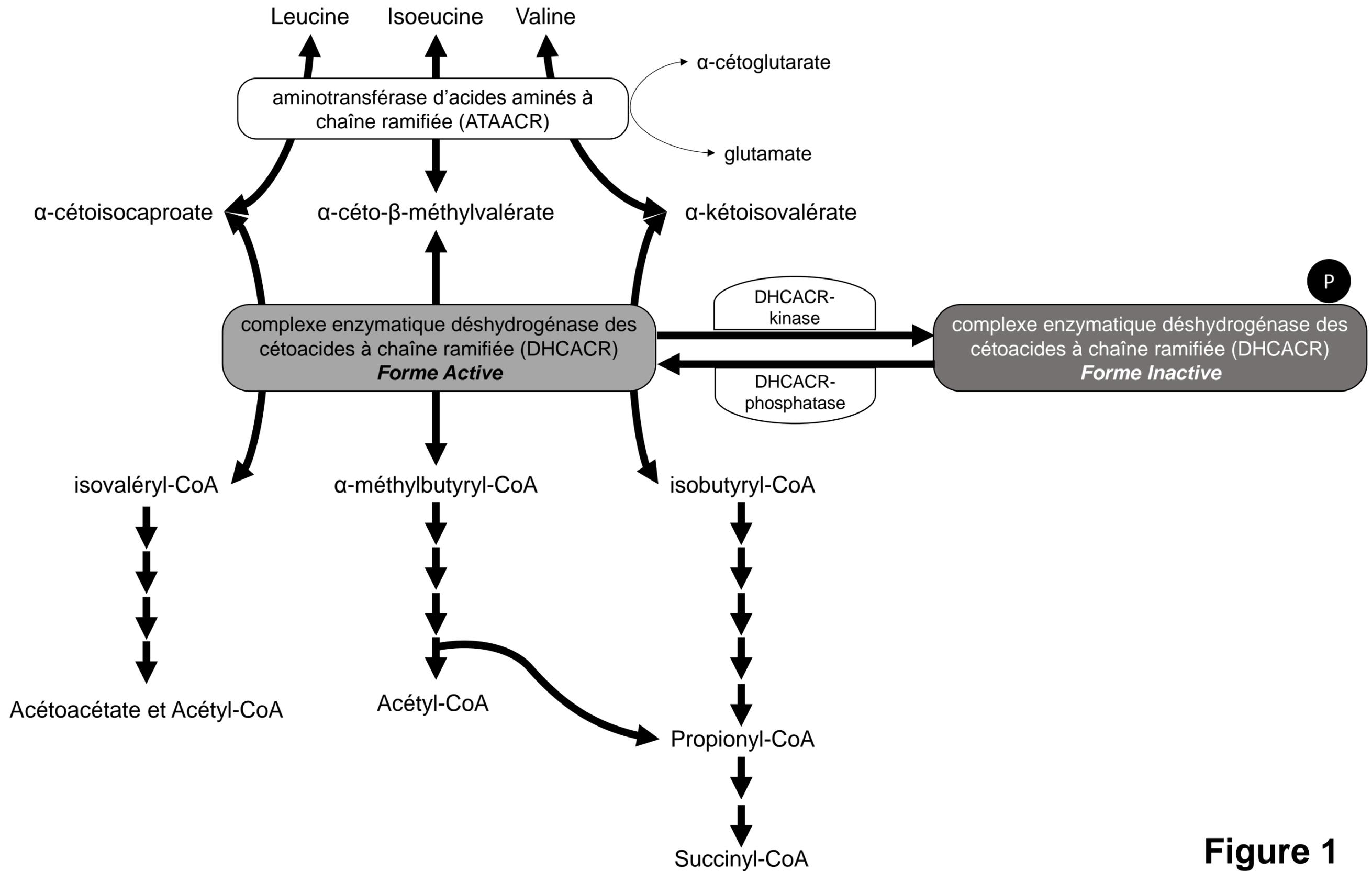
552 [37] Shaham O, Wei R, Wang TJ, Ricciardi C, Lewis GD, Vasam RS, et al. Metabolic  
553 profiling of the human response to a glucose challenge reveals distinct axes of insulin  
554 sensitivity. *Mol Syst Biol*. 2008;4:214.

555 [38] Hattersley JG, Pfeiffer AF, Roden M, Petzke KJ, Hoffmann D, Rudovich NN, et al.  
556 Modulation of amino acid metabolic signatures by supplemented isoenergetic diets  
557 differing in protein and cereal fiber content. *J Clin Endocrinol Metab*.  
558 2014;99:E2599-2609.

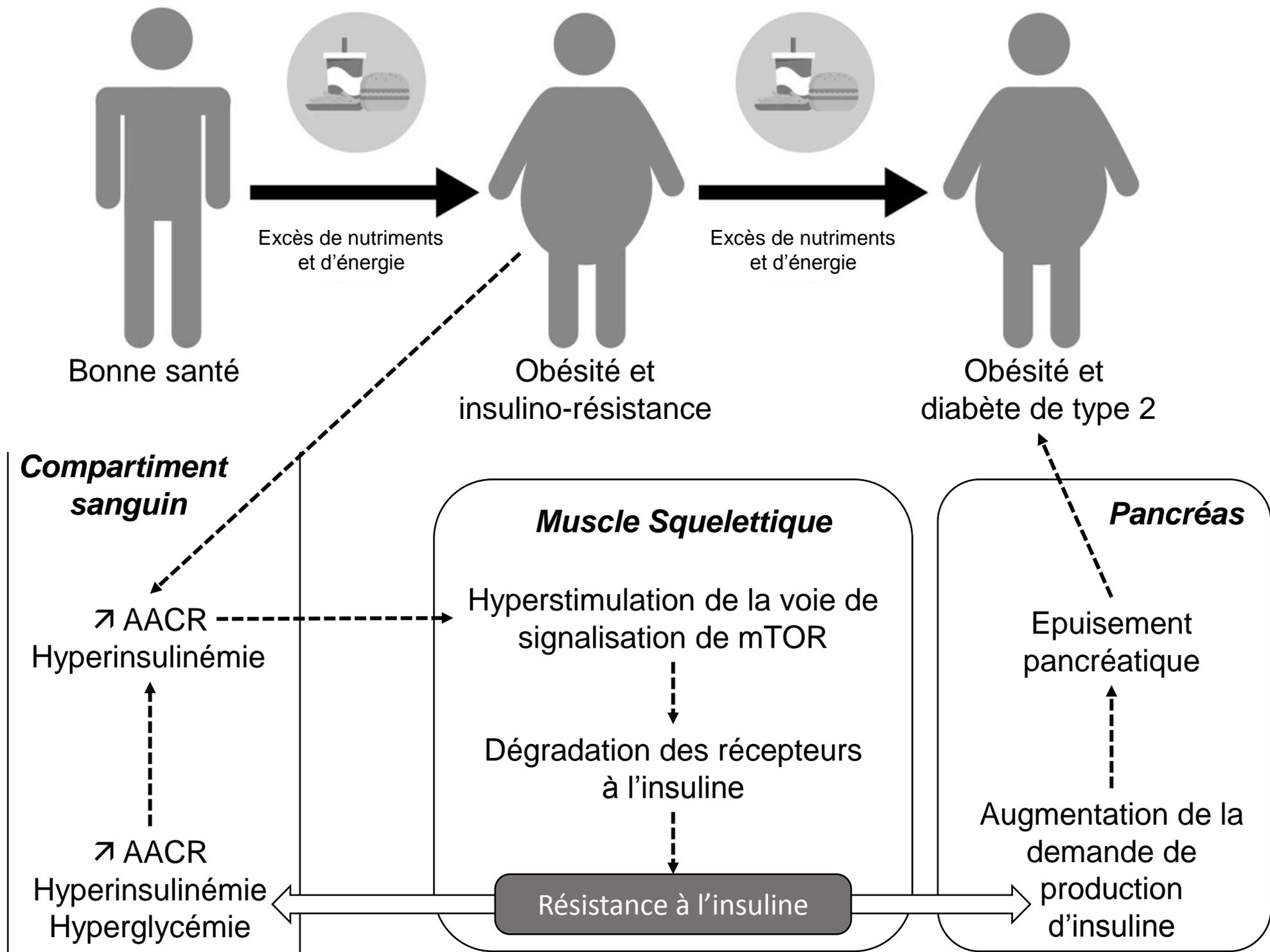
559 [39] Fiehn O, Garvey WT, Newman JW, Lok KH, Hoppel CL, Adams SH. Plasma  
560 metabolomic profiles reflective of glucose homeostasis in non-diabetic and type 2  
561 diabetic obese African-American women. *PLoS One*. 2010;5:e15234.

- 562 [40] McCormack SE, Shaham O, McCarthy MA, Deik AA, Wang TJ, Gerszten RE, et al.  
563 Circulating branched-chain amino acid concentrations are associated with obesity and  
564 future insulin resistance in children and adolescents. *Pediatr Obes.* 2013;8:52-61.
- 565 [41] Newgard CB. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in  
566 development of insulin resistance. *Cell Metab.* 2012;15:606-614.
- 567 [42] Um S, D'Alessio D, Thomas G. Nutrient overload, insulin resistance, and ribosomal  
568 protein S6 kinase 1, S6K1. *Cell Metab.* 2006;3:393 - 402.
- 569 [43] She P, Reid TM, Bronson SK, Vary TC, Hajnal A, Lynch CJ, et al. Disruption of  
570 BCATm in mice leads to increased energy expenditure associated with the activation  
571 of a futile protein turnover cycle. *Cell Metab.* 2007;6:181-194.
- 572 [44] Lackey DE, Lynch CJ, Olson KC, Mostaedi R, Ali M, Smith WH, et al. Regulation of  
573 adipose branched-chain amino acid catabolism enzyme expression and cross-adipose  
574 amino acid flux in human obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304:E1175-  
575 1187.
- 576 [45] Herman MA, She P, Peroni OD, Lynch CJ, Kahn BB. Adipose tissue branched chain  
577 amino acid (BCAA) metabolism modulates circulating BCAA levels. *J Biol Chem.*  
578 2010;285:11348-11356.
- 579 [46] Shin AC, Fasshauer M, Filatova N, Grundell LA, Zielinski E, Zhou JY, et al. Brain  
580 insulin lowers circulating BCAA levels by inducing hepatic BCAA catabolism. *Cell*  
581 *Metab.* 2014;20:898-909.
- 582 [47] Kadota Y, Toyoda T, Kitaura Y, Adams SH, Shimomura Y. Regulation of hepatic  
583 branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase complex in rats fed a high-fat diet.  
584 *Obes Res Clin Pract.* 2013;7:e439-444.
- 585 [48] Allam-Ndoul B, Guénard F, Garneau V, Barbier O, Pérusse L, Vohl M-C.  
586 Associations between branched chain amino acid levels, obesity and cardiometabolic  
587 complications. *Integr Obesity Diabetes.* 2015.
- 588 [49] Nie C, He T, Zhang W, Zhang G, Ma X. Branched chain amino acids: beyond  
589 nutrition metabolism. *Int J Mol Sci.* 2018;19.
- 590 [50] Jang C, Oh SF, Wada S, Rowe GC, Liu L, Chan MC, et al. A branched-chain amino  
591 acid metabolite drives vascular fatty acid transport and causes insulin resistance. *Nat*  
592 *Med.* 2016;22:421-426.
- 593 [51] Zheng Y, Li Y, Qi Q, Hruby A, Manson JE, Willett WC, et al. Cumulative  
594 consumption of branched-chain amino acids and incidence of type 2 diabetes. *Int J*  
595 *Epidemiol.* 2016;45:1482-1492.

- 596 [52] Xu F, Tavintharan S, Sum CF, Woon K, Lim SC, Ong CN. Metabolic signature shift  
597 in type 2 diabetes mellitus revealed by mass spectrometry-based metabolomics. *J Clin*  
598 *Endocrinol Metab.* 2013;98:E1060-1065.
- 599 [53] Elshorbagy A, Jerneren F, Basta M, Basta C, Turner C, Khaled M, et al. Amino acid  
600 changes during transition to a vegan diet supplemented with fish in healthy humans.  
601 *Eur J Nutr.* 2017;56:1953-1962.
- 602 [54] Mardinoglu A, Agren R, Kampf C, Asplund A, Uhlen M, Nielsen J. Genome-scale  
603 metabolic modelling of hepatocytes reveals serine deficiency in patients with non-  
604 alcoholic fatty liver disease. *Nat Commun.* 2014;5:3083.
- 605



**Figure 1**



**FIGURE 2**