

PROMOTEUR : CHU DE ROUEN

Etude randomisée, contrôlée, en double aveugle de l'efficacité et de la tolérance d'un traitement par la glutamine orale chez des patients infectés par le VIH présentant une diarrhée persistante sous traitement par antiprotéases (Etude Gluta+).

Etude clinique multi-centrique prospective avec bénéfice individuel direct.

Investigateur principal :

Pr Pierre Déchelotte
Unité de Nutrition Clinique
Département Nutrition Douleur Soins Palliatifs
CHU de Rouen

Centres investigateurs cliniques présentit (sous réserve d'accord):

1. Pr JC Melchior (Garches)
2. Pr F Caron (CHU-Rouen)
3. (la Pitié Salpêtrière, Service du Pr Katlama)

Prise en charge des surcoûts :

Association GPDN

Durée : 24 mois

1 - RATIONNEL DE L'ETUDE

Incidence des diarrhées chez les patients VIH +.

La diarrhée est un symptôme fréquent au cours de l'infection à VIH ; elle affecte environ 50% des patients dans les pays développés et jusqu'à 90% de ceux des pays en développement (Dellamonica 2003). À côté des diarrhées infectieuses aiguës dont la plupart ne sont pas spécifiques des immunodéprimés, les diarrhées chroniques posent un problème à part. Les progrès thérapeutiques réalisés tiennent à l'utilisation de traitements antirétroviraux. La durabilité de l'efficacité de ces traitements est liée à l'obtention d'une charge virale indétectable. Celle-ci protège contre le développement de la résistance et a permis de diminuer la fréquence des diarrhées infectieuses. Chez les patients dont la maladie VIH n'est pas contrôlée, la diarrhée chronique est le plus souvent d'origine parasitaire et peut aboutir à une détérioration de la qualité de vie ainsi qu'à une dénutrition. La prise en charge de la diarrhée au cours de l'infection à VIH nécessite d'abord l'identification des agents infectieux en cause, beaucoup d'entre eux étant accessibles à un traitement curatif. Au stade de sida évolué, lorsque le traitement est inopérant ou inaccessible, la prise en charge est souvent palliative visant à limiter l'inconfort des patients et à maintenir le plus longtemps possible un état hydroélectrique et nutritionnel correct. Dans les situations où l'infection VIH est contrôlée sous traitement, ceux-ci peuvent occasionner des diarrhées aiguës ou chroniques entraînant là encore un inconfort majeur et une altération de la qualité de vie (Tramarin 2004). Selon les études, des diarrhées imputables aux traitements seraient rapportées dans 10 à 50% des cas et se placent ainsi au 4^{ème} rang des effets indésirables rapportés par les patients après la fatigue, les ballonnements abdominaux, et les myalgies. Les chiffres de fréquence et de prévalence sont encore très imprécis selon les enquêtes et études car la difficulté réside dans l'évaluation et la standardisation de la diarrhée et de ses critères de définition. Cependant la définition généralement admise est celle d'une émission quotidienne de selles trop abondantes, supérieures à 300 grammes par jour. Cette mesure étant évidemment impossible dans la pratique, le diagnostic de diarrhée se pose plutôt par l'émission de plus de trois selles liquides ou molles. Cette appréciation reste assez subjective. Il faut prendre également en compte dans l'inconfort provoqué par la diarrhée le caractère impérieux et incontrôlable de celle-ci

La famille des antiprotéases semble la plus impliquée dans ces phénomènes de troubles digestifs et de diarrhées en particulier. Plusieurs essais thérapeutiques ont ainsi rapportés l'incidence de la diarrhée chez les patients VIH+ après 2000 :

Au cours des essais de phase II et III du lopinavir+r, l'incidence des diarrhées modérées à sévères, sur des périodes allant de 48 à 108 semaines (n = 57 à 326), a été de 12 à 27 % des patients et a entraîné l'interruption temporaire du traitement chez 0 à 7 % d'entre eux et l'arrêt complet chez 0 à 3 %.

Dans l'essai M97-720, sous lopinavir+r, l'incidence après 204 semaines (n = 100) a été de 28 % pour la diarrhée (≥ 3 selles molles/jour) et de 8 % pour les selles anormales (< 3 selles molles/jour) (Murphy 2002).

Dans la cohorte d'Atlanta (HAVACS) une comparaison des diarrhées non infectieuses entre janvier 1996 et septembre 2002 a montré que sous lopinavir+r (n = 47) 10 patients (21 %) ont présenté des diarrhées, dont 6 (13 %) ont nécessité un traitement anti-diarrhéique (de 2 mois en moyenne) après une durée moyenne sous lopinavir+r de 15 mois. Sous nelfinavir+r (n = 302), 153 patients (51 %) ont présenté des diarrhées, dont 104 (34 %) ont nécessité un traitement anti-diarrhéique (de 10

mois en moyenne) après une durée moyenne sous nelfinavir+r de 27 mois. Les deux groupes ne sont pas comparables du fait de la sévérité des maladies et de la période de traitements mais la prévalence des diarrhées n'est pas négligeable (Guest 2002).

Dans une étude associative française (recrutement volontaire, n=724), 637 sujets (88 %) étaient traités. Parmi 599 de ces derniers, 11 % ont signalé des diarrhées de fréquence "forte à très forte" et 40,2 % des diarrhées de fréquence "faible à moyenne" ; 11,6 % de ces diarrhées ont été ressenties comme ayant un impact important sur la vie quotidienne, 34,6 % comme ayant un impact modéré et 53,8 % comme ayant un impact faible ou nul. Sur 360 patients traités par 3 antirétroviraux, des diarrhées ont été signalées par 188 patients (Thémis).

Cependant le mécanisme de ces diarrhées médicamenteuses reste mal compris et sans doute multifactoriel. Certains travaux évoquent un mécanisme sécrétoire, avec défaut d'absorption et/ou hypersécrétion d'électrolytes. Ainsi une étude récente a montré que le nelfinavir induit une stimulation de la sécrétion de Cl⁻ par des cellules épithéliales intestinales *in vitro* (Rufo 2004).

Traitements de la diarrhée

Dans le cas de diarrhées dont l'étiologie est infectieuse, le traitement de l'agent infectieux causal présumé est à utiliser à chaque fois qu'il est disponible. Si le diagnostic de diarrhée médicamenteuse est posé et que le traitement est impératif, la prise en charge repose à l'heure actuelle sur l'association d'antisécrétoire et/ou de régulateurs de la motricité et /ou de pansements intestinaux et levures (Sherman 2000). L'optimisation du traitement doit faire l'objet d'efforts constants, afin de préserver le plus longtemps possible une qualité de vie acceptable. Malgré l'association de ralentisseurs de transit aux antisécrétoires, certaines diarrhées ne peuvent être contrôlées. C'est souvent le cas au stade terminal de la maladie. A l'heure actuelle, il n'y pas de traitement de référence évalué. Le recours à une assistance nutritionnelle et hydroélectrolytique parentérale est alors nécessaire (Melchior 1999).

A la vue de ces données, il apparaît donc nécessaire de développer des démarches thérapeutiques adjuvantes pour diminuer l'incidence de la diarrhée et en corollaire améliorer la qualité de vie des patients.

Glutamine.

La glutamine est présente dans les aliments, mais également synthétisée par l'organisme, et est un acide aminé classiquement classé comme « non essentiel ». Particulièrement abondante dans le sang et les tissus - dans le muscle, elle représente 60 % des acides aminés libres -, la glutamine possède des fonctions métaboliques importantes (Labow 2001).

Glutamine et fonctions intestinales

La glutamine est ainsi le substrat préférentiel des cellules à fort taux de renouvellement comme les entérocytes et les cellules du système immunitaire. Au cours des situations hypercataboliques, la synthèse *de novo* de glutamine ne peut subvenir au besoin de l'organisme. La glutamine a donc été reclassée comme un acide aminé « conditionnellement essentiel » (Souba 1997). Plusieurs études réalisées chez des patients de soins intensifs ont montré que la glutamine apportée à forte dose par voie entérale ou parentérale diminue le nombre de complications

infectieuses et la durée de séjour à l'hôpital (Houdjik 1998, Novak 2002, Déchelotte 2002, Garel 2003). De plus, la glutamine diminue la réponse inflammatoire chez des patients atteints de pancréatite aiguë (deBeaux 1998, Ockenga 2002). En effet au cours de ces essais cliniques, la glutamine administrée par voie parentérale diminuait la production d'IL-8 (deBeaux 1998) ou de CRP (C-reactive protein, Ockenga 2002). Cette réduction de la réponse inflammatoire était de plus associée à une augmentation du nombre de lymphocytes, de l'albuminémie et une réduction de la durée de nutrition parentérale artificielle (Ockenga 2002).

Ces résultats peuvent s'expliquer par différents effets régulateurs de la glutamine. Il a été ainsi décrit que la glutamine permet le maintien de la fonction de barrière intestinale chez des patients agressés (van der Hulst 1993). Or la fonction de barrière intestinale joue un rôle important dans la survenue des infections chez les patients agressés et dans la régulation de l'homéostasie. Le maintien de l'intégrité de la barrière intestinale repose d'une part sur l'équilibre entre la prolifération des cellules épithéliales intestinales (entérocytes) et la mort cellulaire programmée de ces cellules (ou apoptose) et d'autre part sur l'équilibre entre la synthèse des protéines intestinales et leur dégradation (ou protéolyse). La glutamine peut avoir des effets sur ces différents facteurs. En effet, la glutamine stimule la prolifération des entérocytes (Rhoads 1997) et diminue leur apoptose (Evans 2003). La glutamine stimule également la synthèse protéique intestinale (Bouteloup 2000, Coëffier 2003) et pourrait diminuer la dégradation protéique par la voie ATP-ubiquitine-dépendante associée au protéasome (Adegoke 2003, Coëffier 2003). La stimulation de la synthèse protéique est retrouvée quelque soit la voie d'apport (luminale ou sanguine) de la glutamine (Le Bacquer 2001). De plus, la glutamine peut moduler la réponse inflammatoire. En effet, la production intestinale des cytokines pro-inflammatoires IL-6 et IL-8 est diminuée par l'apport de glutamine (Huang 2003, Ameho 1997, Coëffier 2001, 2002, 2003), ainsi que la production des chimiokines IP-10 et ITAC (Marion 2004). Au contraire, la glutamine stimule la production des cytokines ayant un profil anti-inflammatoire, tel que l'IL-4 et IL-10 (Kudsk 2000, Coëffier 2003). La glutamine peut également stimuler l'expression intestinale des protéines de choc thermique ou HSP, qui jouent un rôle protecteur dans des situations de stress (Wischmeyer 1997, Coëffier 2002). Enfin, la glutamine permet le maintien des systèmes de défense antioxydants, et en particulier du glutathion (Cao 1998). Or il apparaît que chez les patients VIH +, le métabolisme du glutathion est altéré et les défenses anti-oxydantes diminuées (Aukrust 2003). La restauration des défenses anti-oxydantes pourrait avoir des effets bénéfiques chez les patients VIH+ (Nakamura 2002) et les effets bénéfiques de la glutamine pourraient s'expliquer en partie par son rôle sur le statut redox (Mates 2002).

Toutes ces données montrent donc le rôle protecteur et bénéfique de la glutamine dans des situations de stress.

Il existe également des données suggérant l'impact de la glutamine sur les systèmes d'absorption et de sécrétion intestinale et *in fine* sur l'incidence et la durée des diarrhées de différentes origines.

Glutamine et hypersécrétion intestinale.

Dans des modèles expérimentaux, il a été décrit que la glutamine augmente l'absorption d'eau et de sodium par l'intestin, ce qui aurait pour conséquence une diminution de l'incidence de la diarrhée. Ces résultats ont été observés chez le lapin (Silva 1998, Nath 1992, Abely 2000, Islam 1997), chez le bovin (Blikslager 2001, Cole

2003), chez le porc (Rhoads 1994, Argenzio 1994) ou bien chez le rat (Lima 2002) dans des conditions basales et également d'hypersécrétion. L'hypersécrétion dans ces modèles était induite par la toxine du Choléra, par *C. parvum* ou par une souche pathogène de *E. Coli*.

Les effets de la glutamine sur les flux électrolytiques intestinaux ont été évalués chez des volontaires sains chez lesquels une hypersécrétion était induite par la prostaglandine E₁. La glutamine diminuait l'hypersécrétion d'eau et de sodium induite de façon plus marquée que le glucose (Coëffier, soumis). Chez des adultes atteints du cholera, l'apport de glutamine en supplément des solutions de rehydratation standard améliore l'absorption intestinale (van loon 1996).

Glutamine et VIH.

Les effets de la glutamine sur l'incidence de la diarrhée chez des patients VIH + ont été évalués dans deux premières études :

Dans une étude prospective, randomisée contrôlée versus placebo, réalisée en cross-over, l'incidence de la diarrhée et la qualité de vie ont été évaluées chez 25 patients sous nelfinavir (Huffman 2003), recevant 30g (3 x 10g) par jour de L-glutamine pendant 10 jours. Lorsque le placebo était administré pendant les 10 premiers jours, l'administration ultérieure de glutamine diminuait la gravité de la diarrhée (0,762 vs 1,850, p=0,01) et améliorait la qualité de vie, évaluée par le questionnaire SF-36. Lorsque la glutamine était administrée pendant les 10 premiers jours, aucune différence significative n'était observée entre les phases glutamine et placebo, mettant ainsi en évidence un effet carry-over. (Huffman 2003). Cette étude est la première étude ayant ainsi comparé deux traitements (glutamine et placebo) et met en évidence un effet bénéfique de la glutamine sur l'incidence et la sévérité de la diarrhée et sur le qualité de vie des patients.

Dans une seconde étude prospective, randomisée, 20 patients souffrant de diarrhée (> 2 selles liquides/jour) sous nelfinavir ont été inclus (Heiser 2001). Quatre patients ont poursuivi ce traitement tandis que 16 y ont ajouté *acidophilus/bifidobacteria* (1,2 g/j) et des fibres solubles (11 g/j). Si la diarrhée persistait après 4 semaines, la glutamine (10 g/j, ajustée jusqu'à 30 g/j) y était ajoutée secondairement. Aucun effet n'a été observé dans le groupe contrôle tandis que chez 9/16 patients du groupe traité, la diarrhée a complètement régressée ; (chez 5/16, la supplémentation en glutamine a été nécessaire, pour réduire le nombre de selles liquides de $2,4 \pm 1,7$ à $0,8 \pm 0,7$. Alors que 7/16 prenaient du lopéramide au début de l'étude, seulement 2/16 en prenaient encore à la 12^{ème} semaine. Cette étude, qui n'est pas une étude contrôlée versus placebo, montre également que la glutamine aurait des effets bénéfiques pour le traitement de la diarrhée chez des patients VIH+.

Dans une étude randomisée et contrôlée, le traitement par la glutamine, apportée sous la forme libre ou sous forme de dipeptide alanyl-glutamine, a également été associé à une diminution des symptômes intestinaux (diarrhée) et à une augmentation des taux des antirétroviraux (Bushen 2004).

D'autres études n'ayant pas pour objectif d'évaluer les effets de la glutamine sur l'incidence de la diarrhée, ont montré que la glutamine augmente la prolifération *in vitro* des lymphocytes de patients VIH+ (Kohler 2000) et que la glutamine associée à des anti-oxydants améliore l'état nutritionnel des patients VIH+ (Shabert 1999). La glutamine pourrait donc avoir des effets spécifiques à différents niveaux chez les patients VIH+. La glutamine pourrait également moduler l'insulinorésistance. En effet

chez des volontaires sains, l'apport de glutamine augmente l'insuline plasmatique (Coëffier 2003). Des études utilisant des méthodologies de clamp euglycémique ont montré chez le chien (Borel 1998) et chez des patients traumatisés (Bakalar 2003) que la glutamine augmentait la production et l'utilisation de glucose au niveau du corps entier. De plus, chez des patients de soins intensifs, l'apport de glutamine était associé à une diminution des épisodes d'hyperglycémie et du recours à une insulinothérapie (Déchelotte 2002). Or chez les patients VIH+, le traitement par les anti-protéases induit des perturbations métaboliques, dont une insulino-résistance (Safrin 1999).

Tolérance d'un traitement par la glutamine.

La glutamine est un acide aminé et est retrouvée dans l'alimentation. L'apport de forte dose de glutamine n'induit aucun effet indésirable et est très bien toléré par l'organisme. Ainsi, au cours d'un apport quotidien de forte dose de glutamine (20, 40 ou 47g) pendant 5 jours, l'équipe de Wilmore n'a pas observé de problèmes de tolérance ni de modifications des concentrations plasmatiques d'ammoniaque et de glutamate chez le volontaire (Wilmore 1990). Une autre étude a également montré que la prise de 40g de glutamine par jour pendant trois mois n'induisait aucun effet indésirable chez le volontaire sain (Miralles 1998).

Face à la diarrhée chronique observée chez le patient VIH+, en particulier sous antiprotéases, la supplémentation en glutamine semble être une thérapeutique adjuvante intéressante à la faible efficacité des traitements classiques.

Pour valider cette hypothèse, et déterminer les modalités d'un usage thérapeutique de la glutamine chez des patients sidéens, la mise en place d'un essai randomisé versus placebo apparaît nécessaire.

2 - OBJECTIFS DE L'ETUDE

Objectif principal :

L'objectif principal de cette étude est de mesurer la réduction du nombre de selles liquides par jour chez des patients VIH+ sous traitement antirétroviral après 4 semaines de supplémentation orale par la glutamine. La consistance des selles sera évaluée par rapport à l'index de consistance, préalablement validé (Mertz 1995), le caractère liquide des selles étant considéré sur l'index supérieur ou égal à 4 (Cf annexe I).

Objectifs secondaires :

Les objectifs secondaires sont l'évaluation de la tolérance clinique et biologique de la glutamine orale, du caractère impérieux et incontrôlable des selles, de la douleur ressentie par les patients, du retentissement du recours à la glutamine sur la qualité de vie du patient (questionnaire de qualité de vie SF36 et HAT, Annexe II), du retentissement de l'amélioration de la qualité de vie du patient sur son adhésion à son traitement antirétroviral (mesurée par échelle visuelle d'observance), des effets sur l'état nutritionnel et sur le stress oxydatif et la perméabilité intestinale.

3 - SCHEMA DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude multicentrique de phase IV avec bénéfice individuel direct, prospective, randomisée et en double aveugle comparant deux groupes parallèles.

La posologie de la glutamine orale sera de 30g par jour (3 x 10g). Les patients recevront soit la glutamine soit un placebo pendant 4 semaines

L'évaluation du critère principal se fera avant le traitement puis à la date du début de traitement (S0), à deux semaines de traitement (S2) et à la fin du traitement (S4).

La visite de pré-inclusion aura lieu 7 à 14 jours avant le début du traitement. La diarrhée et les critères d'inclusion seront évalués au cours de cette visite.

4 - POPULATION DE L'ETUDE

Critères d'inclusion

- patients ayant une infection VIH-1 documentée
- âgés de 18 ans ou plus
- traités par unethérapeutique antivirale comprenant une antiprotéase, stable depuis 12 semaines avant l'inclusion.
- existence d'une diarrhée définie par un nombre de selles liquides ou molles malgré l'utilisation de traitements symptomatiques usuels (Lopéramide, lopéramide oxide, Lactéol) c'est-à-dire ≥ 4 sur l'échelle de graduation de la consistance des selles (Mertz 1995, Annexe I), ≥ 3 / jour et avec une urgence ≥ 2 sur l'échelle fécale décrite en annexe I.
- Paramètres biologiques au jour-14 (visite de pré-inclusion) :
 - Neutrophiles $> 1500/\text{mm}^3$
 - Leucocytes $> 3000/\text{mm}^3$
 - Plaquettes $\geq 100\ 000/\text{mm}^3$
 - Hémoglobine $> 10\ \text{g/dl}$
 - Clearance créatinine $> 60/\text{ml}$
 - ASAT et ALAT $\leq 5\ \text{N}$
 - Bilirubine sérique $\leq 5\ \text{N}$
 - Amylase sérique $\leq 5\ \text{N}$
 - TP $< 50\%$
 - Créatinine $> 250\ \mu\text{mol. L}^{-1}$
 - Bilan lipidique
- Confirmant leur intention de participer à l'étude dont la compliance paraît assurée et ayant la capacité à remplir les exigences du protocole
- Donnant leur consentement éclairé par écrit.

Critères d'exclusion :

- Patients présentant une infection opportuniste en phase aiguë.
- présentant une autre cause de diarrhée : entérocolite inflammatoire (maladie de Crohn ou RCH), étiologie infectieuse ou tumorale.
- Ayant une insuffisance hépatique (TP $> 50\%$) ou rénale (créatinine $< 250\ \mu\text{mol. L}^{-1}$)
- Chimiothérapie antinéoplasique en cours.
- Grossesse (Contraception efficace et RIG négative)

5 – TRAITEMENTS.

Les patients inclus dans l'étude recevront 3 sachets par jour contenant 10g de glutamine ou de placebo contenant un mélange d'acides aminés isoazotés comme

précédemment décrit (Coëffier 2003, Annexe III). Ils devront prendre 3 sachets par jour pendant 4 semaines. L'étude sera réalisée en double aveugle et donc ni le personnel médical, ni le patient ne connaîtront la composition des sachets alloués. La prise du traitement se fera de préférence immédiatement avant le repas.

6 – DEROULEMENT DE L'ETUDE.

L'évaluation de l'incidence de la diarrhée et la qualité de vie seront évaluées par rapport à des questionnaires remplis par le patient lui-même. L'étude se déroulera donc selon le calendrier suivant :

Visite de pré-inclusion : J-14.

Chaque patient aura une visite de pré-inclusion pendant laquelle les critères d'inclusion et de non inclusion seront recueillis. Les données démographiques et les antécédents cliniques, immuno-virologiques et thérapeutiques seront notés. Un examen parasitologique des selles avec recherche de micro-sporidies et de cryptosporidies - si la dernière valeur des CD4 était inférieure à 150/mm³ et recherche de toxine de *Clostridium difficile* - si le patient a eu une antibiothérapie dans les 6 semaines précédant la pré-inclusion. La partie 1 de l'auto-questionnaire sera remise au patient, qui la complétera pour la visite d'inclusion. Cette partie 1 comporte l'évaluation pré-thérapeutique de la diarrhée sur deux semaines et l'évaluation des ingesta sur 3 jours.

Randomisation et allocation du traitement : J-1.

Après vérification des résultats biologiques et confirmation des critères d'inclusion, la randomisation sera effectuée par le centre de gestion de l'essai. Elle sera équilibrée par centre par bloc de 8 patients.

Inclusion : J0.

Un examen clinique des patients et des prélèvements sanguins seront réalisés, ainsi qu'une enquête alimentaire (Voir annexe IV). La partie 1 de l'auto-questionnaire sera récupérée et la partie 2 sera remise au patient, qui devra la compléter pour la prochaine visite (questionnaire de qualité de vie SF 36 + HAT).

Visite de suivi à l'hôpital : S2.

Un examen clinique des patients, des prélèvements sanguins et un recueil des événements indésirables seront réalisés. La partie 2 de l'auto-questionnaire sera récupérée et la partie 3 sera remise au patient, qui devra la compléter pour la prochaine visite.

Evaluation finale (à l'hôpital) : S4.

Un examen clinique des patients, des prélèvements sanguins et un recueil des événements indésirables seront réalisés, ainsi qu'une enquête alimentaire. La partie 3 de l'auto-questionnaire sera récupérée.

A J0 et S4, les patients pourront prendre leur petit-déjeuner sur place.

Les patients qui en feront la demande pourront être traités par la glutamine, quelque soit le traitement préalablement reçu, pendant une nouvelle période de 4 semaines (S8). Un suivi par contact téléphonique sera réalisé à S6 et une évaluation simplifiée (bilan biologique, clinique et nutritionnel) à S8.

7 – ANALYSES.

Prélèvements sanguins.

A partir des prélèvements sanguins réalisés à J-14, seront évalués les paramètres suivants :

- NFS plaquettes
- ASAT, ALAT
- Créatinine
- Bilirubine
- Hémoglobine
- numération des Neutrophiles et leucocytes
- TP
- Amylase sérique
- Charge virale plasmatique VIH-1

A partir des prélèvements sanguins réalisés à S0, S2 et à S4 seront évalués les paramètres suivants :

- NFS plaquettes
- ASAT, ALAT
- Créatinine, glucose
- Calcémie, Phosphorémie
- Albuminémie, préalbuminémie, insuline, IGF-I
- Dosage des acides aminés plasmatiques
- Numération des lymphocytes T CD4+
- Charge virale plasmatique VIH-1
- Bilan lipidique
- à S0 et S4 uniquement : Dosage des marqueurs de stress oxydant (TBARS, GSH Px, GSH, SOD, HSP70, Vit A, Vit E, Cu, Zn, Se) uniquement chez les patients inclus dans le centre de Rouen.

Mesure de la composition corporelle.

Une mesure de la composition corporelle sera réalisée à S0, S2 et à S4 par impédancemétrie bioélectrique multifréquence. Les patients devront être à jeun (strictement à jeun c'est-à-dire sans avoir ni mangé ni bu).

Une mesure de la composition corporelle par DEXA (absorption biphotonique) sera également réalisée à S0 et après les 6 mois d'extension proposés.

Test de perméabilité intestinale.

La perméabilité intestinale sera évaluée à S0 et à S4 comme précédemment décrit (Noyer 1998) uniquement chez les patients inclus dans le centre de Rouen. Ce test permettra d'évaluer si la glutamine a un effet protecteur sur la muqueuse intestinale et influence la perméabilité intestinale comme il a déjà été décrit (van der Hulst 1993). Ce paramètre pourrait être un critère explicatif de l'effet de la glutamine sur l'incidence de la diarrhée.

Le matin à jeun, les patients collecteront leur urine dans un tube fourni (T1). Ensuite les patients boiront une solution de 250ml contenant du lactulose (5g), du mannitol (1g) et du glycérol (10g) et ne pourront pas manger pendant 2 heures. Les urines seront collectées pendant 5 heures dans un nouveau récipient (T2). Les 2 tubes d'urines seront ensuite envoyés au laboratoire pour analyse. La détection du

lactulose et du mannitol dans les urines sera réalisée par CPG. La perméabilité intestinale sera estimée par le ratio lactulose/mannitol.

8 – FAISABILITE ET ANALYSE STATISTIQUE

Nombre de patients.

80 patients évaluables seront inclus, 40 dans chaque bras. Cet effectif a été calculé sur l'hypothèse d'une réduction de 2,5 à 1,5 du nombre de selles liquides ou molles (réduction moyenne de 40% de l'intensité de la diarrhée) avec un risque α de 5%. L'observance de la prise des sachets sera vérifiée par le comptage de ces derniers aux différentes étapes.

Durée de l'étude

24 mois

Comparaison statistique.

Les différences entre les groupes seront testées par une analyse de la variance (ANOVA) et par le test t de Student en intention de traiter. Une valeur de $p < 0.05$ sera considérée comme significative.

9 – CRITERES DE JUGEMENT ET RESULTATS ATTENDUS

Critères de jugement principal.

Analyse à S2 et S4 de la variable "Nombre de selles liquides ou molles par jour", définie comme succès : réduction de plus de 40% du nombre de selles liquides ou molles dans le groupe ; réponse partielle : réduction de 30% du nombre de selles liquides ou molles ; échec dans les autres cas

La consistance des selles sera évaluée par rapport à l'échelle précédemment validée (Annexe I, Mertz 1995). L'urgence fécale sera également évaluée selon l'échelle décrite en annexe I.

Critères de jugement secondaire.

Qualité de vie

Tolérance clinique et biologique du traitement à S2 et S4.

Douleur (nombre d'épisodes douloureux par jour et intensité maximale)

Evolution de l'état nutritionnel, de l'insulinorésistance et du stress oxydant.

Résultats attendus.

- Montrer une réduction de 40% du nombre de selles liquides ou molles par jour dans le groupe traité par la glutamine.

- Montrer une amélioration de la qualité de vie et des critères biologiques dans le groupe traité par la glutamine.

10 – TRAITEMENT ULTERIEUR

Les patients, qui en feront la demande, pourront recevoir un traitement par la glutamine pendant 12 mois et un suivi des patients sera réalisé sur les critères de jugement principal.

11 – PUBLICATIONS

Les investigateurs s'engagent à publier les résultats qu'ils soient en accord avec l'hypothèse de travail ou en désaccord. De plus les différents centres investigateurs de cette étude seront associés à la publication et la position des centres sera déterminée au prorata du nombre d'inclusions par centre.

12 – BIBLIOGRAPHIE

1. Abely M, Dallet P, Boisset M, *et al.* Effect of cholera toxin on glutamine metabolism and transport in rabbit ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;278:G789-96.
2. Adegoke O, Mc Burney M, Samuels S, Baracos V. Modulation of intestinal protein synthesis and protease mRNA by luminal and systemic nutrients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003.
3. Ameho CK, Adjei AA, Harrison EK, Takeshita K, Morioka T, Arakaki Y, Ito E, Suzuki I, Kulkarni AD, Kawajiri A, Yamamoto S. Prophylactic effect of dietary glutamine supplementation on interleukin 8 and tumour necrosis factor alpha production in trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis. *Gut*. 1997;41(4):487-93.
4. Argenzio RA, Rhoads JM, Armstrong M, *et al.* Glutamine stimulates prostaglandin-sensitive Na(+)-H⁺ exchange in experimental porcine cryptosporidiosis. *Gastroenterology* 1994;106:1418-28.
5. Aukrust P, Müller F, Svardal A, *et al.* Disturbed glutathione metabolism and decreased antioxidant levels in human immunodeficiency virus-infected patients during highly active antiretroviral therapy- potential immunomodulatory effects of antioxidants. *J Infect Dis* 2003;188: 232-238.
6. Bakalar B, Pacht J, Andel M, Otahal M, Duska F, Pazout J, Fric M. Parenteral glutamine attenuates insulin resistance in multiple trauma patients. *Intensive Care Medicine* 2003;19(suppl 1):388 (Abstract).
7. Blikslager A, Hunt E, Guerrant R, *et al.* Glutamine transporter in crypts compensates for loss of villus absorption in bovine cryptosporidiosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G645-53.
8. Borel MJ, Williams PE, Jabbour K, Levenhagen D, Kaizer E, Flakoll PJ. Parenteral glutamine infusion alters insulin-mediated glucose metabolism. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1998;22:280-5.
9. Bouteloup-Demange C, Claeysens S, Maillot C, Lavoine A, Lerebours E, Dechelotte P. Effects of enteral glutamine on gut mucosal protein synthesis in healthy humans receiving glucocorticoids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2000;278:G677-81.
10. Bushen OY, Davenport JA, Bezerra Lima A, Piscitelli SC, Uzgiris AJ, Silva TM, Leite R, Kosek M, Dillingham RA, Girao A, Lima AA, Guerrant RL. Diarrhea and reduced levels of antiretroviral drugs: improvement with glutamine or alanyl-glutamine in a randomized controlled trial in northeast Brazil. *Clin Infect Dis* 2004;38(12):1764-70.

11. Cao Y, Feng Z, Hoos A, Klimberg VS. glutamine enhances gut glutathione production. *JPEN* 1998; 22: 224-227.
12. Coëffier M and Claeysens S, Hecketsweiler B, *et al.* Enteral non-essential amino acids stimulate protein synthesis and glutamine decreases ubiquitin mRNA level in human duodenal mucosa. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:G266-G273.
13. Coeffier M, Le Pessot F, Leplingard A, Marion R, Lerebours E, Ducrotte P, Dechelotte P. Acute enteral glutamine infusion enhances heme oxygenase-1 expression in human duodenal mucosa. *J Nutr.* 2002;132(9):2570-3.
14. Coëffier M, Marion R, Ducrotté P, *et al.* Modulating effect of glutamine on IL-1 β -induced cytokine production by human gut. *Clin Nutr* 2003;22:407-413.
15. Coëffier M, Miralles-Barrachina O, Le Pessot F, *et al.* Influence of glutamine on cytokine production by human gut in vitro. *Cytokine* 2001;13:148-154.
16. Cole J, Blikslager A, Hunt E, Gookin J, Argenzio R. Cyclooxygenase blockade and exogenous glutamine enhance sodium absorption in infected bovine ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G516-G524.
17. De Beaux A, O'Riordain M, Ross J, Jodozi L, Carter D, Fearon K. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition reduces blood mononuclear cell interleukin-8 release in severe acute pancreatitis. *Nutrition* 1998; 14: 261-5.
18. Déchelotte P, Bleichner G, Hasselmann M, Dassonville JM, Allaouiche B, Czernichow P, Ranjaraj J for a group of investigators. L-alanyl-L-glutamine (Dipeptiven)-supplemented total parenteral nutrition improved clinical outcome in critically ill patients: a French controlled randomised double-blind multicenter study. *Clin Nutr* 2002; (Abstract).
19. Dellamonica P. Diarrhées et infection à VIH. *Médecine et maladies infectieuses* 2003 ; 33 : 105S-110S.
20. Evans M, Jones D, Ziegler T. Glutamine prevents cytokine-induced apoptosis in human colonic epithelial cells. *J Nutr* 2003; 133: 3065-3071.
21. Guest JL. HAVACS diarrhea study. Comparison of rate of treated diarrhea in patients on lopinavir+r/ versus nelfinavir.
22. Heiser IAS 2001 P536

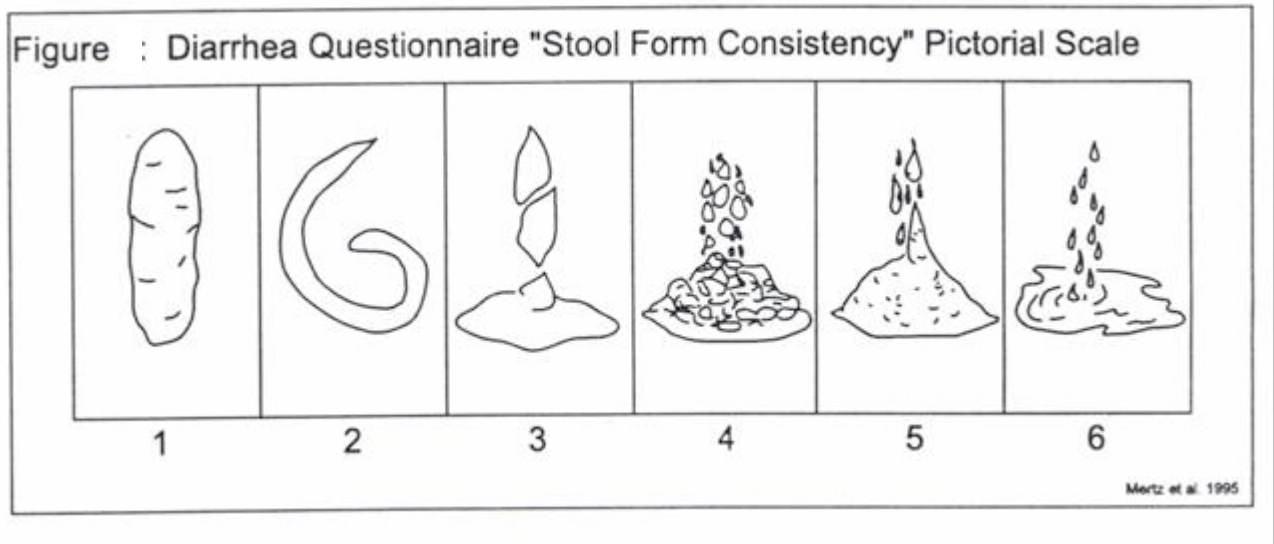
23. Houdijk AP, Rijnsburger ER, Jansen J, Wesdorp RI, Weiss JK, McCamish MA, Teerlink T, Meuwissen SG, Haarman HJ, Thijs LG, van Leeuwen PA. Randomised trial of glutamine-enriched enteral nutrition on infectious morbidity in patients with multiple trauma. *Lancet*. 1998;352(9130):772-6. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2003;27(4):241-5.
24. Huffman F, Walgren M. L-glutamine supplementation improves Nelfinavir-associated diarrhea in HIV-infected individuals. *HIV Clin trials* 2003; 4: 324-329.
25. Islam S, Mahalanabis D, Chowdhury AK, *et al*. Glutamine is superior to glucose in stimulating water and electrolyte absorption across rabbit ileum. *Dig Dis Sci* 1997;42:420-423.
26. Kohler H, Ruggeberg J, Langer K, Jablonowski H, Adam R, Wahn V, Schroten H. Glycyl-glutamine improves in vitro lymphocyte proliferation in AIDS patients. *Eur J Med Res* 2000; 20: 263-267.
27. Kudsk KA, Wu Y, Fukatsu K, Zarzaur BL, Johnson CD, Wang R, Hanna MK. Glutamine-enriched total parenteral nutrition maintains intestinal interleukin-4 and mucosal immunoglobulin A levels. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2000;24(5):270-4.
28. Labow B, Souba WW. Glutamine. *World J Surg* 2000;24:1503-13.
29. Le Bacquer O, Nazih H, Blottiere H, Meynial-Denis D, Laboisie C, Darmaun D. Effects of glutamine deprivation on protein synthesis in a model of human enterocytes in culture. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2001;281(6):G1340-7.
30. Marion R, Coëffier M, Gargala G, Ducrotté P, Déchelotte P. Glutamine and the CXC chemokines IL-8, Mig, IP-10 and ITAC in human intestinal epithelial cells. *Clin Nutr* 2004, In Press.
31. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I, Asenjo M, Marquez J. Glutamine and its relationship with intracellular redox status, oxidative stress and cell proliferation/death. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 439-458;
32. Melchior JC, Messing B. Home parenteral nutrition in acquired immunodeficiency syndrome patients. *Nutrition* 1999; 15: 68-69.
33. Mertz H. Validation of a new measure of diarrhea. *Dig Dis Sci* 1995; 40.
34. Miralles-Barrachina O, Ialaude O, Belmonte Zalar L, Hecketsweiler B, Déchelotte P. Efectos nutricionales e inmunitarios de la administracion oral prolongada de glutamina al hombre. *Nutricion hospitalaria*. 1998;13 (suppl 1):43s.
35. Murphy R, *et al*. 42nd ICAAC, San Diego 2002 # H-165).

36. Nakamura H, Masutani H, Yodoi J. Redox imbalance and its control in HIV infection; *Antioxid Redox Signal* 2002; 4: 455-464.
37. Nath SK, Dechelotte P, Darmaun D, *et al.* [15N]- and [14C]glutamine fluxes across rabbit ileum in experimental bacterial diarrhea. *Am J Physiol* 1992;262:G312-8.
38. Novak F, Heyland DK, Avenell A, Drover JW, Su X. Glutamine supplementation in serious illness: a systematic review of the evidence. *Crit Care Med.* 2002;30(9):2022-9.
39. Ockenga J, Borchert K, Rifai K, Manns MP, Bischoff SC. Effect of glutamine-enriched total parenteral nutrition in patients with acute pancreatitis. *Clin Nutr.* 2002;21:409-16.
40. Rhoads JM, Chen W, Chu P, *et al.* L-glutamine and L-asparagine stimulate Na⁺-H⁺ exchange in porcine jejunal enterocytes. *Am J Physiol* 1994;266:G828-38.
41. Rhoads JM, Argenzio R, Chen W, Rippe R, Westwick J, Cox A, Berschneider H, Brenner D. L-glutamine regulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *Am J Physiol* 1997; 272: G943-G953.
42. Rufo PA, Lin P, Andrade A, Jiang L, Rameh L, Flexner C, Alper S, Lencer W. Diarrhea-associated HIV-1 APIs potentiate muscarinic activation of Cl⁻ secretion by T84 cells via prolongation of cytosolic Ca²⁺ signalling. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 286: C998-C1008.
43. Safrin S, Grunfeld C. Fat distribution and metabolic changes in patients with HIV infection. *AIDS* 1999; 13: 2493-2505.
44. Shabert J, Winslow C, Lacey J, Wilmore D; Glutamine-antioxidant supplementation increases body cell mass in AIDS patients with weight loss: A randomised double-blind controlled trial. *Nutrition* 1999; 15: 860-4.
45. Sherman DS, Fish DN. Management of protease inhibitor-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 908-14.
46. Silva AC, Santos-Neto MS, Soares AM, *et al.* Efficacy of a glutamine-based oral rehydration solution on the electrolyte and water absorption in a rabbit model of secretory diarrhea induced by cholera toxin. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998;26:513-9.
47. Souba WW. Nutritional support. *N Engl J Med.* 1997;336(1):41-8.
48. Tamarin A, Parise N, Campostrini S, Yin D, Postma M, Lyu R, Grisetti R, Capetti A, Cattelan A, Di Toro M, Mastroianni A, Pignattari E, Mondardini V, Calleri G, Rause E, Starace F. Association

between diarrhea and quality of life in HIV-infected patients receiving highly active antiretroviral therapy. *Qual Life Res* 2004; 13: 243-250.

49. van der Hulst RR, van Kreel BK, von Meyenfeldt MF, Brummer RJ, Arends JW, Deutz NE, Soeters PB. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet*. 1993;341(8857):1363-5.
50. van Loon FP, Banik AK, Nath SK, *et al*. The effect of L-glutamine on salt and water absorption: a jejunal perfusion study in cholera in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1996;8:443-8.
51. Wilmore DW. The safety and efficacy of glutamine in humans. *Clin Nutr* 1990; 9: 35.
52. Wischmeyer PE, Musch MW, Madonna MB, Thisted R, Chang EB. Glutamine protects intestinal epithelial cells: role of inducible HSP70. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.* 1997; 272: G879-G884.

ANNEXE I

I. Echelle de graduation de la consistance des selles (Mertz 1995)

Les selles seront dites liquides quand la consistance sera ≥ 4 .

1. Morceau séparés, comme noisette
2. Comme saucisse ou serpent souple
3. Comme saucisse, avec fissures
4. Selles molles
5. Aspect duveteux, Selles en bouillie
6. Selles liquides, pas de morceaux

II. Echelle d'urgence fécale.

0. Pas d'urgence
1. Normale
2. Légèrement > normale
3. Inhabituellement sévère, gênant
4. Urgence importante, crainte de ne pas atteindre les toilettes à temps

ANNEXE II

Autoquestionnaire

ANNEXE III

Composition du Placebo.

Le placebo est constitué de 7 acides aminés non essentiels et est isoazoté à l'apport de glutamine (5,75 g d'azote pour 30 g /jour)

Acides aminés	grammes	Azote (grammes)
Serine	2	0,27
Proline	2	0,24
Aspartate	2	0,21
Alanine	5	0,78
Glycine	6	1,11
Asparagine	6	1,27
Histidine	7	1,89
Total	30 g	5,758 g

ANNEXE IV

SURVEILLANCE ALIMENTAIRE											
Dépistage et suivi											
Etiquette patient											
Date											
Consommation		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Petit déjeuner											
Identification du soignant											
		P	T	P	T	P	T	Pour l'évaluation de la consommation, cocher les cases correspondantes			
D E J E U N E R	ENTREE										
	VIANDES										
	LEGUMES										
	FROMAGE/LAITAGE										
	DESSERT								<input type="checkbox"/>	Rien	
Identification du soignant										<input type="checkbox"/>	Un peu moins de la moitié
		P	T	P	T	P	T			<input type="checkbox"/>	Un peu plus de la moitié
GOUTER										<input type="checkbox"/>	Tout
Identification du soignant										(uniquement partie consommée)	
		P	T	P	T	P	T				
D I N E R	POTAGE										
	VIANDES										
	LEGUMES										
	FROMAGE/LAITAGE										
	DESSERT										
Identification du soignant										REMARQUES	
		P	T	P	T	P	T				
Identification du soignant :											
P = aide Partielle Installation du patient, ouvrir les conditionnement, couper la viande..., stimulation pendant le repas											
T = aide Totale Installation du patient et le faire manger											
Identification du soignant (initiales Nom Prénom)											
Acte effectué <input type="radio"/>											
Acte effectué renvoyant à une cible <input type="radio"/>											

