

Intérêts potentiels de la citrulline en réanimation

Potential interests of citrulline in critically ill patients

L. Cynober

Reçu le 21 mars 2013 ; accepté le 16 avril 2013
© SRLF et Springer-Verlag France 2013

Résumé De par son métabolisme très particulier, la citrulline (CIT) est un biomarqueur reconnu de la masse intestinale fonctionnelle. Chez le malade agressé et infecté en réanimation, la CIT plasmatique est souvent effondrée, de l'ordre de 10 $\mu\text{mol/L}$ (valeurs normales : $38\pm 8 \mu\text{mol/L}$). Cette perturbation est multifactorielle car, chez ces patients, il peut exister une augmentation du recyclage de la CIT en arginine et/ou une déplétion en ce second acide aminé. Enfin, l'existence d'une défaillance multi-organique complique encore les choses. Des études expérimentales, réalisées dans des modèles murins de sepsis, fournissent des résultats prometteurs, en particulier sur la microcirculation intestinale. Il reste à confirmer ces résultats en clinique.

Mots clés Citrulline · Biomarqueur · Intestin · Réanimation · Défaillance organique · Protéosynthèse

Abstract Due to its highly specific metabolism, citrulline (CIT) is now recognized as a biomarker of functional intestinal mass. In the stressed and septic critically ill patient, plasma CIT is often very low at $\sim 10 \mu\text{mol/L}$ (normal range: $38\pm 8 \mu\text{mol/L}$). These abnormal values are difficult to interpret as patients may present increased CIT recycling into arginine and/or arginine depletion. Additionally, multiple organ failure may further make this issue complex. Experimental studies in rodent models of sepsis have raised promising results, particularly regarding gut microcirculation, which now need to be confirmed by ongoing randomized clinical trials.

L. Cynober (✉)

Service de biochimie interhospitalier Cochin – Hôtel-Dieu, AP-HP, et service de nutrition, EA 4466, département de biologie expérimentale, métabolique et clinique, Faculté de pharmacie, Université Paris Descartes
e-mail : solange.ngon@cch.aphp.fr

Service interhospitalier de biochimie, GH Cochin-Broca, Hôtel-Dieu (HUPC), 27 rue du Faubourg Saint Jacques, F-75014 Paris

Keywords Citrulline · Biomarker · Intestine · Intensive care · Organ failure · Protein synthesis

Introduction

Le malade de réanimation est particulièrement exposé aux complications infectieuses et aux défaillances organiques, en particulier de l'intestin, du foie et des poumons, en rapport avec une redistribution des flux sanguins et des perturbations de la microcirculation. Dans ce contexte, les altérations de l'expression et de l'activité des isoenzymes de la *nitric oxide synthase* (eNOS et iNOS) sont au premier plan, conduisant à une production inadéquate de monoxyde d'azote ($^{\circ}\text{NO}$). Le seul précurseur endogène direct du $^{\circ}\text{NO}$ est l'arginine (ARG) mais une source importante de $^{\circ}\text{NO}$ est la citrulline (CIT), par recyclage en ARG, que ce soit au décours d'échanges interorganes ou intracellulaires [1-3].

Pendant des années, la CIT a été considérée comme un « acide aminé (AA) oubliée ». D'abord, la CIT n'entre pas dans la composition des protéines et n'est trouvée en quantité notable que dans la pastèque [4] ; ensuite, elle est surtout connue pour son rôle d'intermédiaire de l'uréogénèse, cycle permettant l'élimination de l'azote excédentaire [5]. La mise en évidence de ses propriétés de biomarqueur de la masse intestinale fonctionnelle par l'équipe de B. Messing, en association avec la nôtre [6], a conduit à considérer l'intérêt de sa complémentation, d'abord dans le syndrome de grêle court [7], puis dans d'autres situations au cours desquelles la fonctionnalité intestinale est compromise (voir [3] pour une revue générale sur le sujet). Les développements en réanimation sont plus récents et les résultats obtenus font l'objet du présent article.

Bref rappel sur le métabolisme physiologique de la citrulline

La CIT n'a qu'une source chez les mammifères, l'ornithine, via une amination médiée par l'ornithine carbamoyltransférase (OCT). Cette enzyme n'existe que dans les entérocytes et les

hépatocytes périportaux [8] (Fig. 1). Cependant, dans ces dernières cellules, la CIT est immédiatement transformée en arginine (ARG) sous l'action des argininosuccinates synthase et lyase (ASS + ASL) [9]. Il n'y a donc ni captation ni libération de CIT par le foie. Par conséquent, la grande majorité de la CIT, au niveau corps entier, provient de l'intestin [10].

L'ornithine (ORN) est elle-même issue soit directement de l'ARG via l'action de l'arginase, soit du glutamate par une réaction médiée par l'ORN aminotransférase. Comme l'intestin possède également une glutaminase, la glutamine (GLN) est elle aussi un précurseur de CIT [8]. S'il est clair que l'ARG et la GLN sont toutes deux des précurseurs de la CIT, la part respective de chacun de ces deux AAs dans la production corps entier de la CIT reste matière à controverse [11-13].

Un point important est que la synthèse de CIT reste constante même avec un régime déficient en ARG car, dans ce cas, l'ORN sert de pool précurseur [13]. Cela signifie que la production intestinale de CIT est avant tout dépendante de la capacité intrinsèque à synthétiser cet AA, donc de la fonctionnalité intestinale.

Comme indiqué plus haut, la CIT est catabolisée par l'ASS+ASL. Outre le foie, de nombreux organes et cellules possèdent ces enzymes : les reins, les cellules endothéliales et celles de l'immunité non spécifique [10]. Comme les cellules rénales ne possèdent pas d'arginase, l'arginine est libérée par le rein, à disposition du reste de l'organisme ([3] et Fig. 1).

La raison d'être de ce cycle inter-organe est d'éviter une sur-utilisation de l'ARG lorsque les apports protéiques sont

faibles ou nuls : l'effet de premier passage de l'ARG conduit à une extraction splanchnique de l'ARG allant de 33 à 69 % selon les espèces [13] et à une activation de l'uréogénèse [3].

Métabolisme de la citrulline chez le malade de réanimation

Métabolisme corps entier

En règle, la citrullinémie est considérablement diminuée chez le malade de réanimation (voir Tableau 1 et, pour une revue générale récente sur le sujet, [14]).

Si l'on raisonne en termes de flux, c'est-à-dire en vitesse d'apparition (Ra) ou de disparition (Rd) des substrats qui nous intéressent (Fig. 2), quatre constatations s'imposent :

- une Ra de la CIT correspond à une Rd de l'ARG lorsqu'un organe possède à la fois l'OCT et ASS + ASL ;
- la Ra du °NO correspond à une Rd de l'ARG, à une Rd de la CIT et à une Ra de l'ARG via le recyclage de CIT en ARG ;
- le même schéma peut être appliqué à la relation GLN/CIT ;
- tous ces flux sont susceptibles d'être modifiés en situation hypercatabolique, de façon variable selon le niveau de l'agression, la pathologie sous-jacente et selon l'existence ou non d'une septicémie.

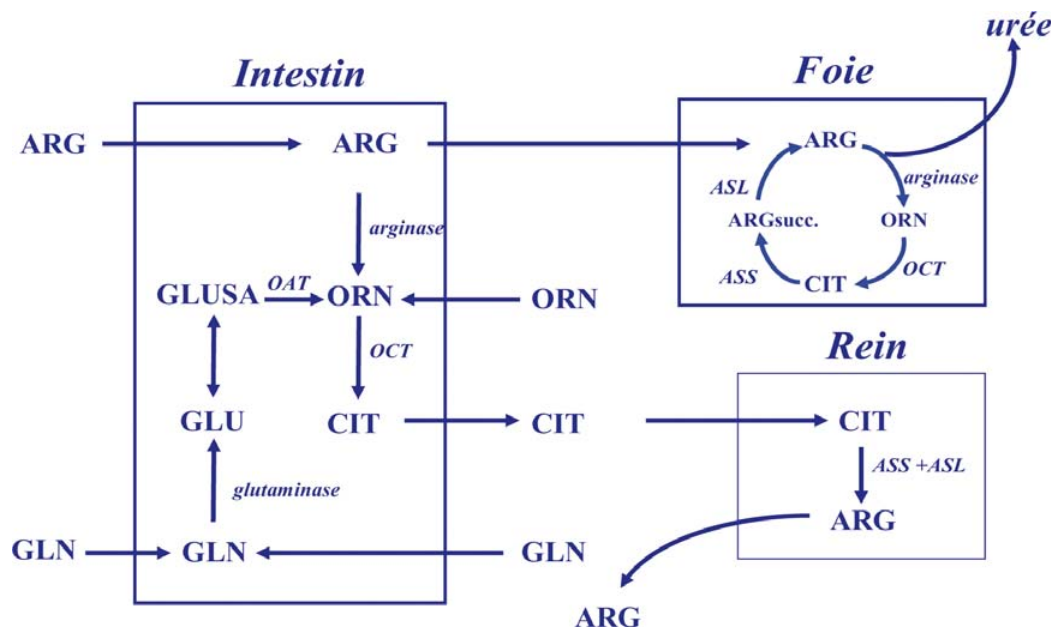


Fig. 1 Métabolisme de la citrulline. ARG : arginine ; ORN : ornithine ; CIT : citrulline ; GLU SA : glutamate semialdéhyde ; GLU : glutamate ; GLN: glutamine ; OAT : ornithine aminotransférase ; OCT : ornithine carbamoyltransférase ; ASS : argininosuccinate synthase ; ASL : argininosuccinate lyase ; ARGsucc : argininosuccinate ; ↔ : réaction non enzymatique

Tableau 1 Citrullinémie en réanimation adulte							
Références	Type	Patients N	Score APACHE	Score SOFA	Mortalité à 1 mois ou en réanimation (*)	Temps de mesure	Citrullinémie (médiane [range] ou m ± SD)
Piton et al. [33]	Adultes réa méd	67	NI	8,3±3,4 ^a	34 %	12h, 1, 2 et 7 J	Nadir à J2 : 12,7±7 µmol/L significativement plus faible chez les non-survivants
Noordally et al. [34]	Adultes réa	91	22,4±7,9 ^a	8,0±4,4 ^a	NI	NI	↘ seulement chez les patients avec défaillance intestinale (< 15 µmol/L)
Grimaldi et al. [30]	Adultes réa méd	21		11 [9-13]	62 % (*)	Admission et à J2, J3, J6	Nadir à J2 : 11 [7-14] µmol/L ; retour à la normale à J6
Kao et al. [21]	Adultes réa méd	13	NI	NI	NI	Dans les 24h suivant l'admission pour 9/13	10,2 ± 0,8 µmol/L
Crenn et al. [27]	Adultes réa méd	16	NI	≥8	NR	H0, 6, 12, 18 ; J1, J2, J4, J7	Nadir à H12 : 18 ± 6 µmol/L Retour à la normale à J7 chez ceux qui allaient survivre
Ware et al. [35]	Adultes réa méd	135	24±7 ^a	NI	36 %	À l'admission	Toute la population : 9,2 µmol/L [5,2-14,4] Patients SDRA : 6,0 [3,3-10,4]

^a moyenne±écart-type ; réa méd : réanimation médicale ; NI : non indiqué ; NR : non relevant (les malades ont été sélectionnées rétrospectivement pour qu'il y ait huit décédés et huit survivants) ; SDRA : syndrome de détresse respiratoire aiguë ; J : jour ; H : heure

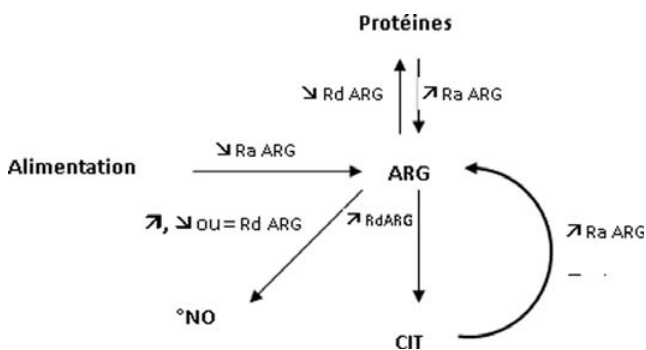


Fig. 2 Flux d'arginine (ARG) et de citrulline (CIT) chez le malade victime d'une septicémie. Synthèse des données de la littérature

Luiking et al. [15] ont étudié, à l'aide de techniques isotopiques, des patients de réanimation atteints (APACHE II : 22 ± 7) ou non (APACHE II : 23 ± 7) de sepsis (dans les 48h suivant le diagnostic) et des sujets sains. La production corps entier de CIT était réduite de moitié en cas de sepsis et de 70 % par rapport aux sujets sains. La production d'ARG était diminuée dans les mêmes proportions (70 %) chez les malades septicémiques versus ceux qui ne l'étaient pas et les sujets sains. La production de °NO était diminuée chez les patients atteints de sepsis. Ces données semblent étonnantes si l'on considère le dogme selon lequel l'administration d'ARG entraîne une surproduction de °NO délétère chez le malade de réanimation [16]. Cependant, il faut bien comprendre que l'observation

de Luiking et al. [15] est corps entier, ce qui ne préjuge pas d'une surproduction locale de °NO, par exemple au niveau endothélial. Par ailleurs, dans cette étude, les patients de réanimation non septiques ne présentaient pas de diminution de l'ARG et une diminution assez modérée de la citrullinémie (moyenne : 20 µmol/l) par rapport aux sujets sains (valeur normale : 38±8 µmol/l) [17].

La diminution de la CIT plasmatique peut être liée à différents facteurs :

- à une diminution de la fonctionnalité intestinale, en particulier lorsqu'il existe une défaillance de cet organe ;
- à un recyclage en ARG dans ce tissu. En effet, si l'adulte en bonne santé n'y exprime pas l'ASS, il pourrait en être autrement en situation d'inflammation : le traitement de cellules intestinales Caco-2 par l'interleukine-1β entraîne l'expression du gène de l'ASS via l'activation du facteur de transcription NFκB [18] ;
- à une diminution des pools précurseurs de la CIT. En particulier, les pools d'ARG et de GLN, principaux précurseurs de la CIT, sont souvent effondrés chez les malades de réanimation [19,20] et ce fait peut contribuer à la diminution de la citrullinémie en l'absence d'atteinte intestinale [14] ;
- à une augmentation du catabolisme de la CIT, par exemple dans les cellules immunitaires et endothéliales. D'après les données de Kao et al. [21], chez le patient hospitalisé en réanimation médicale, victime d'une septicémie et en état de choc ou non, il existe une hypo-argininémie expliquée par un déficit de synthèse de la CIT. Nous sommes donc dans le contexte de la célèbre question : qui de la poule ou de l'œuf a été le premier ? La réponse à cette question n'est pas neutre car, selon le *primum movens*, il conviendrait de compléter le malade soit en ARG, soit en CIT.

La superposition de ces facteurs fait qu'il n'est pas surprenant que les données de la littérature soient contradictoires quant au métabolisme de l'ARG et de la CIT chez le malade de réanimation et cela explique certainement, au moins en partie, que l'administration d'ARG au malade de réanimation conduise à des effets bénéfiques, neutres ou délétères selon les études.

Pour en revenir à notre problématique métabolique, il est clair que les données corps entier sont peu contributives et il serait important (mais pas facile) de savoir ce qui se passe à l'intérieur de l'intestin, du foie, des reins, des poumons en termes de flux d'ARG/CIT/°NO [22].

Le macrophage et la cellule endothéliales : des cibles clé de la citrulline chez le malade en réanimation

Le macrophage

Le comportement du macrophage est extrêmement versatile vis-à-vis de la CIT et de l'ARG :

- d'une part, en réponse à des stimuli inflammatoires (e.g. lipopolysaccharides [LPS], cytokines pro-inflammatoires), il existe une activation simultanée du transporteur cellulaire de l'ARG (CAT2) et de la NOS inductible [23]. Il s'ensuit un flux unidirectionnel de l'ARG sanguine vers la production de °NO de façon proportionnelle à la disponibilité en ARG [24]. Cela explique l'*ARG paradox* : la valeur de la constante d'affinité (Km) de la NOS pour son substrat fait que la vitesse de production du °NO à partir de l'ARG devrait être maximale et constante quelle que soit la situation, ce qui n'est pas le cas ;
- d'autre part, le macrophage contient également de l'arginase qui métabolise l'ARG en ornithine et ainsi diminue l'ARG disponible pour la synthèse de °NO. Ce second pool d'ARG est vraisemblablement issu, d'une part du recyclage intracellulaire de la CIT et, d'autre part, de la capture cellulaire d'ARG par des transporteurs autres que CAT2. Par ailleurs, des expériences réalisées in vitro montrent [24] que la glutamine co-régule la production de °NO (en la diminuant) à partir de la CIT. Comme les pools de GLN sont déplétés en situation d'agression [20], il est vraisemblable que la production de °NO à partir de la CIT (versus ARG) est augmentée chez le malade en état d'agression ;
- enfin, il est clair qu'en situation inflammatoire, le macrophage fait tout son possible pour synthétiser du °NO puisque l'ASS est co-induite avec la iNOS [25] comme CAT2 l'est avec l'iNOS. Les observations de Waardenburg et al. [26], chez des enfants en réanimation polyvalente, et de Crenn et al. [27] en réanimation adulte, selon laquelle il existe à la fois une déplétion en ARG et en CIT, les deux étant corrélées de façon négative avec le degré d'inflammation (jugé sur la CRP), est en faveur du lien entre déplétion de ces AAs et leur sur-utilisation cellulaire. Il convient aussi de souligner l'importance de la temporalité dans les processus observés : à la suite de l'agression, la majorité des macrophages exprime l'iNOS et libère du °NO. Ultérieurement, ces cellules expriment l'arginase et synthétisent des polyamines lesquelles stimulent la production d'IL-2 nécessaire à la prolifération des lymphocytes T [28]. La Figure 3 résume l'ensemble des données présentées ci-dessus.

Cellule endothéliale

Physiologiquement, le °NO produit par l'eNOS exerce une action régulatrice majeure sur le tonus vasculaire et le débit sanguin en activant la guanylate cyclase au niveau des muscles lisses vasculaires [1]. En situation d'agression, l'expression de l'iNOS renforce l'action vasodilatatrice. Ce processus est fondamental pour permettre aux cellules immunitaires de migrer vers les tissus lésés et/ou infectés.

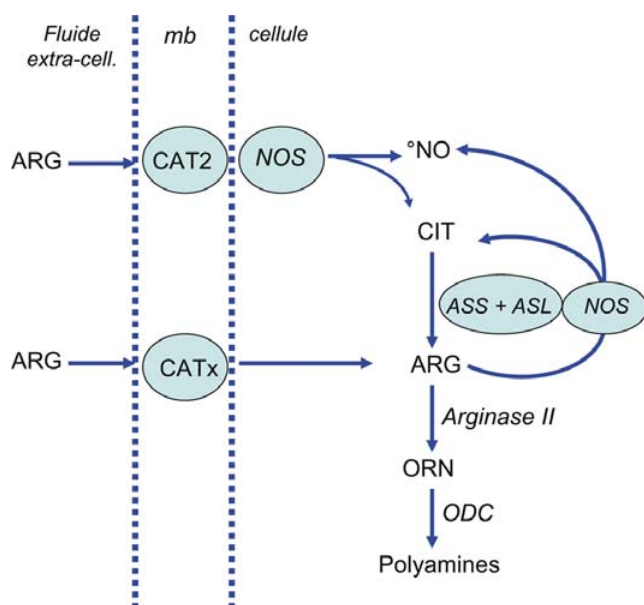


Fig. 3 Métabolisme de l'arginine (ARG) et de la citrulline (CIT) dans le macrophage. mb : membrane ; CAT2 : *Cationic amino acid transporter 2* ; CATx : CAT autre que CAT2 ; NO : monoxyde d'azote ; ASS + ASL : argininosuccinate synthétase + lyase ; ORN : ornithine ; ODC : ornithine décarboxylase

Bien entendu, en cas de surproduction de $^{\circ}\text{NO}$ à ce niveau, la vasodilatation est excessive, pouvant aboutir à un état de choc. À l'inverse, une sous-production de $^{\circ}\text{NO}$, liée à une déplétion en ARG, conduit à une surproduction d'ion superoxyde lequel se recombine avec le $^{\circ}\text{NO}$ pour former le peroxy-nitrite, puissant agent oxydant [1,10,15]. Dans la cellule endothéliale, la CIT est le principal précurseur du $^{\circ}\text{NO}$ comme l'indiquent des expériences réalisées sur des souris invalidées pour l'ASL : dans ce modèle transgénique, il existe une diminution drastique de la production de $^{\circ}\text{NO}$ qui n'est pas restaurée par la complémentation du régime en ARG [25]. On comprend donc que l'augmentation de production de $^{\circ}\text{NO}$ lors de l'agression est un processus adaptatif indispensable et que ce sont la sous- ou la surproduction de $^{\circ}\text{NO}$ qui sont délétères [1].

La citrulline, biomarqueur de la fonctionnalité intestinale

Sur la base des données métaboliques présentées plus haut, B. Messing, son équipe et la nôtre ont émis l'hypothèse selon laquelle la citrullinémie pouvait refléter la masse intestinale fonctionnelle chez des patients atteints d'un syndrome de grêle court [6]. Cette hypothèse s'avéra être fondée, la citrullinémie étant en outre un biomarqueur de la possibilité de sevrage de la nutrition parentérale [6].

Depuis ce travail princeps, cette propriété de la CIT a été retrouvée dans de nombreuses situations pathologiques (voir [29] pour la revue générale la plus récente sur le sujet). À l'image du foie qui possède plusieurs fonctions (synthèse, stockage, épuration...), l'intestin assure à la fois des fonctions immunologiques, de barrière et de synthèse. La citrullinémie reflète l'activité de synthèse mais la relation de cette fonction avec les autres n'est pas établie. En d'autres termes, il n'est pas actuellement possible d'affirmer qu'une hypocitrullinémie chez le patient de réanimation corrèle avec la translocation et la dissémination bactériennes, par exemple. De ce point de vue, la signification de la valeur de la citrullinémie n'est peut être pas toujours redondante avec celle de l'*Intestinal Fatty Acid Binding Protein* (IFABP) [14,30].

En réanimation, chez des patients atteints de sepsis sévère, la défaillance intestinale a une prévalence de 20 à 60 % [31]. Elle est principalement de nature ischémique, par redistribution des flux sanguins vers des territoires que l'organisme juge prioritaires. Il en résulterait une malabsorption qui pourrait concerner 50 % des patients soignés en réanimation [14].

La pertinence de la CIT en tant que biomarqueur de l'insuffisance intestinale chez le malade de réanimation a fait l'objet de revues générales très récentes, y compris dans ce journal [14,31,32]. Par conséquent, les études anciennes ne seront que résumées et nous ne détaillerons ici que les travaux postérieurs à ces mises au point. Le premier travail sur le sujet est celui de Piton et al. [33]. Dans cette étude longitudinale, l'hypocitrullinémie était corrélée à l'inflammation, à la prévalence des infections nosocomiales et à la mortalité à un mois. Dans l'étude de Noordally et al. [34], portant sur 91 patients de réanimation (sans qu'il soit précisé s'il s'agit de malades chirurgicaux ou médicaux), stratifiés selon la fonction rénale, la citrullinémie à l'admission était assez hétérogène ($21,7 \pm 13,1 \mu\text{mol/l}$, moyenne \pm SD). Les concentrations plasmatiques de CIT étaient très dispersées (extrêmes : 5-85 $\mu\text{mol/l}$). Seuls les patients victimes d'une défaillance intestinale présentaient une hypocitrullinémie ($<15 \mu\text{mol/l}$). Aucune corrélation n'a été trouvée, ni avec les états nutritionnels et inflammatoires, ni avec les scores de gravité (APACHE II et SOFA). La faiblesse de cette étude est qu'un seul dosage de CIT avait été effectué durant l'hospitalisation sans qu'il soit clairement indiqué à quel moment et l'on peut supposer que ce moment était différent d'un malade à l'autre.

Grimaldi et al. [30] ont étudié des patients victimes d'un arrêt cardiaque. Il s'agissait de malades graves avec une mortalité de 62 % lors du séjour en réanimation. La citrullinémie était très basse à J2 et J3 avec un retour à la normale à J6. De façon très intéressante, l'endotoxémie était également maximale et l'IFABP minimale à J3 et ces paramètres étaient corrélés entre eux. Par ailleurs, soulignons qu'il n'y avait pas

de corrélation entre la citrullinémie et la fonctionnalité rénale.

Très récemment, Ware et al. [35] ont trouvé des concentrations effondrées chez des patients septicémiques à l'admission en réanimation médicale et plus encore chez ceux souffrant d'un syndrome de défaillance respiratoire aiguë. Les résultats de ce travail sont robustes en raison du nombre de patients inclus (n=135). Comme dans l'étude précédente, il n'y avait pas de relation entre citrullinémie et fonction rénale. Une analyse détaillée de cet article a été publiée conjointement avec celui-ci [22]. Enfin, le travail rétrospectif (sur une étude ancillaire) de Crenn et al. [27] présente l'originalité d'avoir effectué huit déterminations itératives de J0 à J7, dont 5 à J0, et d'avoir étudié séparément les malades qui allaient mourir et ceux qui allaient survivre (n=8 dans chaque groupe). La diminution de la citrullinémie est très précoce ($18 \pm 6 \mu\text{mol/L}$ à H12). La CIT était corrélée négativement avec la CRP et positivement avec l'ARG et la GLN plasmatiques. Il n'y avait pas de différence entre survivants et ceux qui allaient décéder.

Les conditions méthodologiques et les principaux résultats des études portant sur ce sujet sont résumés dans le Tableau 1. Comme tout biomarqueur, la CIT plasmatique fournit des résultats prédictifs satisfaisants à l'échelon d'une population, mais pas forcément à l'échelon d'un individu. Afin de sensibiliser les résultats, Peters et al. [32] ont proposé un test d'hypercitrullinémie provoquée en administrant 13,5 g de glutamine par voie parentérale sous forme de dipeptide alanylglutamine. Il y a certainement du « grain à moudre » à l'aide de cette approche.

Complémentation en citrulline en situation hypercatabolique

Données pharmacocinétiques

Comme nous l'avons vu, l'ARG est largement métabolisée dans l'intestin et plus encore dans le foie alors que la CIT n'est ni métabolisée dans l'intestin ni captée par le foie. Il n'est donc pas surprenant qu'après l'administration de CIT, l'argininémie maximale soit plus élevée qu'elle ne l'est après administration de l'ARG elle-même. Cela a été montré dans toutes les études dans lesquelles la biodisponibilité de la CIT et celle de l'ARG ont été comparées : chez l'homme sain [36,37] et dans des modèles d'endotoxémie ou de sepsis chez le rongeur [38,39]. L'étude de Moinard et al. [36] est particulièrement intéressante car elle est la seule à avoir envisagé la relation dose-effet (de 2 à 15 g en bolus). Les résultats suggèrent que l'étape dose-dépendante limitante du métabolisme n'est pas l'absorption mais le catabolisme rénal en ARG. Cette donnée est certainement importante dans le

contexte de la défaillance multi-organique en réanimation. Il n'existe cependant pas de données dans cette population.

Si la CIT est bien mieux absorbée que l'ARG en situation physiologique, il pourrait en être autrement lors d'un sepsis. Cette question a été abordée dans un modèle d'endotoxémie chez le rat (lipopolysaccharides d'*E. coli* à 7,5 mg/Kg) recevant un bolus de CIT, d'ARG ou de GLN en quantités isomolaires. Si l'aire sous la courbe et la concentration maximale de CIT diminuent nettement après administration de LPS, elles restent supérieures à celles de GLN et d'ARG et l'argininémie après administration de CIT reste supérieure à celle obtenue après administration de l'ARG elle-même [39].

Études expérimentales

Syndrome de grêle court (SGC)

Deux études ont été réalisées chez le rat soumis à une résection étendue (80 %) de l'intestin grêle. Dans le premier travail [7], les rats bénéficiaient de cinq jours de récupération postopératoire, puis une nutrition entérale (NE) continue était réalisée pendant dix jours. De façon notable, les animaux qui recevaient une NE enrichie en CIT présentaient des bilans d'azote bien meilleurs que ceux complémentés en ARG ou en un mélange isoazoté d'acides aminés non essentiels. La deuxième étude [40] mimait mieux les conditions d'un malade en réanimation puisque les rats étaient alimentés par nutrition parentérale totale (NPT) immédiatement après induction du SGC. Le bilan azoté cumulé sur quatre jours était moins bon chez les animaux complémentés en ARG que chez les contrôles isoazotés, résultat négatif qui n'était pas retrouvé chez ceux bénéficiant d'une NPT enrichie en CIT. De plus, seuls ces derniers ne présentaient pas d'atrophie de leur muscle *Extensor digitorum longus*.

Endotoxémie et autres situations de sepsis

Wijnands et al. [38] ont administré du lipopolysaccharide (0,4 $\mu\text{g/g}$ poids/h) à des souris pendant 18h et, soit de la CIT (6,25 mg/h, c'est-à-dire au total environ 4 g CIT/kg de poids), soit de l'ARG ou de l'alanine (groupe contrôle) de façon iso-azotée, durant les six dernières heures. Seule la CIT a amélioré la microperfusion vasculaire intestinale en termes de nombre total de vaisseaux perfusés et, surtout, du nombre de microvaisseaux (diamètre < 10 μm). De façon très intéressante, la perfusion de CIT entraîne une répression de l'expression de la iNOS dont on sait que l'activation est responsable de la surproduction du $^{\circ}\text{NO}$ et donc de ses effets délétères lors du sepsis. À l'inverse, l'administration de CIT augmente l'activité de la eNOS iso-enzyme vasculaire probablement responsable des effets observés sur la microperfusion.

Dans un modèle d'obstruction intestinale qui entraîne une augmentation de la perméabilité intestinale, de la production d'interféron γ et de la translocation des bactéries, de leur dissémination dans le foie, la rate et les poumons, l'administration de CIT (1 g/kg poids) atténue ces phénomènes délétères. La CIT préserve également la structure de la muqueuse iléale et augmente la concentration en IgA sécrétoires [41].

L'administration préventive (trois semaines) et curative (trois jours) de CIT (environ 4,5 g/Kg/j) à des rats atteints de péritonite (modèle de ligature du cæcum suivi de perforation intestinale) entraîne une moindre production de médiateurs pro-inflammatoires (IL-6 et résistine) que dans le groupe contrôle. La réponse anti-inflammatoire (IL-10, adiponectine) n'était pas modifiée [42]. La faiblesse de cette étude est que les apports n'étaient pas contrôlés. Or, ce modèle est caractérisé par une anorexie importante.

Mécanisme d'action

La CIT constitue le système antioxydant de la pastèque qui la protège contre le « stress hydrique » (c'est-à-dire contre les variations extrêmes de température entre le jour et la nuit en climat désertique). À ce titre, la CIT est l'un des plus puissants neutralisateurs de l'ion hydroxyle.

La CIT est capable de se substituer à l'ARG [24] lorsque la disponibilité de cette dernière est faible (i.e. ARG *deficiency syndrome* [19]). Par conséquent, les effets de la CIT peuvent être en partie liés à la production, donc aux effets, de l'ARG, en particulier ses actions sur l'immunité et le tonus vasculaire liés à la production de $^{\circ}\text{NO}$. Enfin, la CIT exerce une action marquée sur la synthèse protéique musculaire via l'activation du système *mammalian target of rapamycin* (mTOR) [43].

Études cliniques

Il n'existe à ce jour aucun résultat d'études portant sur des malades de réanimation. Compte tenu des résultats très prometteurs obtenus dans les études expérimentales, il semble pertinent de les valider chez le malade agressé, en particulier en réanimation chirurgicale. En effet, l'apport de CIT pourrait constituer une alternative intéressante à celui d'arginine dont la difficulté d'utilisation est évidente.

Conclusion

Autant la citrullinémie apparaît être un biomarqueur fiable d'insuffisance intestinale chez le malade stable, autant les résultats publiés ne permettent pas actuellement de conclure quant à la pertinence de ce paramètre chez le malade de réanimation. Cela tient, d'une part, à la variabilité de la définition de la défaillance intestinale chez le malade de réanima-

tion [44] et, d'autre part, à la superposition d'altérations métaboliques et organiques qui font varier la citrullinémie en sens opposés. La complémentation de l'alimentation en CIT dans des modèles expérimentaux d'agression conduit à des résultats très prometteurs. Reste à confirmer l'intérêt de cette stratégie nutritionnelle par des études cliniques.

Remerciements : à Mme S. Ngon pour la qualité de son assistance secrétariale.

Conflit d'intérêt : l'auteur est actionnaire de la société Citrage SAS.

Références

1. Luiking YC, Engelen MP, Deutz NE (2010) Regulation of nitric oxide production in health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13:97–104
2. Wu G, Morris SM Jr (1998) Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 336:1–17
3. Cynober L, Moinard C, De Bandt JP (2010) The 2009 ESPEN Sir David Cuthbertson. Citrulline: A new major signaling molecule or just another player in the pharmaconutrition game? *Clin Nutr* 29:545–51
4. Curis E, Crenn P, Cynober L (2007) Citrulline and the gut. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10:620–6
5. Cynober L (2013) Amino acid metabolism. In: Lennarz WJ and Lane, MD (eds.) *The Encyclopedia of Biological Chemistry*, Waltham MA. Academic Press 1:91–6
6. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F, et al (2000) Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. *Gastroenterology* 119:1496–505
7. Osowska S, Moinard C, Neveux N, et al (2004) Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut* 53:1781–6
8. Wakabayashi Y (2004) The glutamate crossway. In: Cynober L. *Metabolic and therapeutic aspects of amino-acids in clinical nutrition*. Boca Raton: CRC Press 135–52
9. Meijer AJ (2004) Ureagenesis and ammoniogenesis: an update. In: Cynober L. *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. Boca Raton: CRC Press 111–22
10. Curis E, Nicolis I, Moinard C, et al (2005) Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids* 29:177–205
11. Lighthart-Melis GC, Deutz NE (2011) Is glutamine still an important precursor of citrulline? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 301: E264–6
12. Marini JC (2012) Arginine and ornithine are the main precursors for citrulline synthesis in mice. *J Nutr* 142:572–80
13. Marini JC, Didelija IC, Castillo L, Lee B (2010) Plasma arginine and ornithine are the main citrulline precursors in mice infused with arginine-free diets. *J Nutr* 140:1432–7
14. Piton G, Manzon C, Cypriani B, et al (2011) Acute intestinal failure in critically ill patients: is plasma citrulline the right marker? *Intensive Care Med* 37:911–7
15. Luiking YC, Poeze M, Ramsay G, Deutz NE (2009) Reduced citrulline production in sepsis is related to diminished de novo arginine and nitric oxide production. *Am J Clin Nutr* 89:142–52
16. Manzanares W, Heyland DK (2012) Pharmaconutrition with arginine decreases bacterial translocation in an animal model of

- severe trauma. Is a clinical study justified? Time is now! *Crit Care Med* 40:350–2
17. Neveux N, David P, Cynober L (2004) Measurement of amino acid concentrations in biological fluid and tissues using ion exchange chromatography. In: Cynober L. *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. Boca Raton: CRC Press 17–28
 18. Brasse-Lagnel C, Lavoine A, Fairand A, et al (2005) IL-1 β stimulates argininosuccinate synthetase gene expression through NF- κ B in Caco-2 cells. *Biochimie* 87:403–9
 19. Popovic PJ, Zeh HJ, Ochoa JB (2007) Arginine and immunity. *J Nutr* 137:1681S–1686S
 20. Oudemans-van Straaten HM, Bosman RJ, Treskes M, et al (2001) Plasma glutamine depletion and patient outcome in acute ICU admissions. *Intensive Care Med* 27:84–90
 21. Kao CC, Bandi V, Guntupalli KK, et al (2009) Arginine, citrulline and nitric oxide metabolism in sepsis. *Clin Sci* 117:23–30
 22. Cynober L (2013) Citrulline: Just a biomarker or a conditionally essential amino acid and a pharmacconutrient in critically ill patients? *Crit Care* 17:122
 23. Cynober L (2002) Plasma amino acid levels with a note on membrane transport: characteristics, regulation, and metabolic significance. *Nutrition* 18:761–6
 24. Bryk J, Ochoa JB, Correia MI, et al (2008) Effect of citrulline and glutamine on nitric oxide production in RAW 264.7 cells in an arginine-depleted environment. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 32:377–83
 25. Erez A, Nagamani SCS, Shchelochkov OA, et al (2011) Requirement of argininosuccinate lyase for systemic nitric oxide production. *Nature Med* 17:1619–26
 26. Van Waardenburg DA, de Betue CT, Luiking YC, et al (2007) Plasma arginine and citrulline concentrations in critically ill children: strong relation with inflammation. *Am J Clin Nutr* 86:1438–44
 27. Crenn P, Neveux N, Chevret S, et al (2010) Plasma citrulline kinetic and its relation with glutamine, arginine, TNF α and IL10 in ICU septic shock patients with multiple organ failure. *Clin Nutr* 5(suppl 2):S214–S215 (résumé)
 28. Mills CD (2001) Macrophage arginine metabolism to ornithine/urea or nitric oxide/citrulline: a life or death issue. *Crit Rev Immunol* 21:399–426
 29. Crenn P, Hanachi M, Neveux N, Cynober L (2011) La citrullinémie : un biomarqueur de la fonctionnalité intestinale. *Ann Biol Clin* 69:513–21
 30. Grimaldi D, Guivarch E, Neveux N, et al (2013) Markers of intestinal injury are associated with endotoxemia in successfully resuscitated patients. *Resuscitation* 84:60–5
 31. Crenn P, Annane D (2010) Mesure de la fonctionnalité intestinale en réanimation par la détermination de la citrullinémie. *Réanimation* 19:393–8
 32. Peters JH, Beishuizen A, Keur MB, et al (2011) Assessment of small bowel function in critical illness: potential role of citrulline metabolism. *J Intensive Care Med* 26:105–10
 33. Piton G, Manzon C, Monnet E, et al (2010) Plasma citrulline kinetics and prognostic value in critically ill patients. *Intensive Care Med* 36:702–6
 34. Noordally SO, Sohawon S, Semlali H, et al (2012) Is there a correlation between circulating levels of citrulline and intestinal dysfunction in the critically ill? *Nutr Clin Pract* 27:527–32
 35. Ware LB, Magarik JA, Wickersham N, et al (2013) Low plasma citrulline levels are associated with acute respiratory distress syndrome in patients with severe sepsis. *Crit Care* 2013;17:R10
 36. Moinard C, Nicolis I, Neveux N, et al (2008) Dose-ranging effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in healthy subjects: the citrodose pharmacokinetic study. *Brit J Nutr* 99:855–62
 37. Schwedhelm E, Maas M, Freese R, et al (2008) Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *Br J Clin Pharmacol* 65:51–9
 38. Wijnands KA, Vink H, Briedé JJ, et al (2012) Citrulline a more suitable substrate than arginine to restore NO production and the microcirculation during endotoxemia. *PLoS One* 7:e37439
 39. Elwafi F, Curis E, Zerrouk N, et al (2012) Endotoxemia affects citrulline, arginine and glutamine bioavailability. *Eur J Clin Invest* 42:282–9
 40. Osowska S, Neveux N, Nakib S, et al (2008) Impairment of arginine metabolism in rats after massive intestinal resection: effect of parenteral nutrition supplemented with citrulline compared with arginine. *Clin Sci* 115:159–66
 41. Batista MA, Nicoli JR, dos Santos Martins F, et al (2012) Pretreatment with citrulline improves but barrier after intestinal obstruction in mice. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 36:69–76
 42. Asgeirsson T, Zhang S, Nunoo R, et al (2011) Citrulline: A potential immunomodulator in sepsis. *Surgery* 150:744–51
 43. Cynober L, De Bandt JP, Moinard C (2013) Leucine and citrulline: two major regulators of protein turnover. In: Singer P (ed): *Nutrition in intensive Care Medicine: Beyond Physiology*. World Rev Nutr Diet. Basel: Karger 105:97–105
 44. Blaser AR, Malbrain ML, Starkopf J, et al (2012) Gastrointestinal function in intensive care patients: terminology, definitions and management. Recommendations of the ESICM working group on abdominal problems. *Intensive Care Med* 38:384–94