

Citrulline als merker van de intestinale massa en functionaliteit?

Dr. Apr. Koen Poesen

Ing. Nele Peersman

Prof. Dr. Pieter Vermeersch

Leuven, 24 april 2012

- Inleiding
 - Intestinaal falen
 - Citrulline
- Rationale
- Citrulline als merker voor darm functionaliteit
- Besluit

- Inleiding
 - **Intestinaal falen**
 - Citrulline
- Rationale
- Citrulline als merker voor darm functionaliteit
- Besluit

Oorzaken intestinaal falen

- **SBS (short bowel syndrome)**
 - Anatomisch:
 - Dunne darm resectie (ikv necrose, Crohn...):
 - residuele dunne darm lengte < 150/200 cm
 - Functioneel:
 - Genetisch/verworven (radio- chemotherapie)
 - Normale dunne darm lengte maar (partieel) dysfunctioneel

Oorzaken intestinaal falen

- Coeliakie/ vilieuze atrofie
- Ziekte van Crohn
- Rejectie dunne darm transplant patiënt
- Radio- of chemotherapie
- Complicatie post-bariatrische chirurgie

Gevolgen intestinaal falen

- Diarree
- Verlies aan vocht, ionen,...
- Malabsorptie
- Malnutritie, dehydratatie
- Noodzaak (total) parenteral nutrition (TPN)



Hoe inschatten?

- SBS

- PN:

- Residuele dunne darm lengte < 200 cm
 - < 50 cm: permanente intestinaal falen: PN > 2 jaar

- Weanen (PN \rightarrow enterale voeding)

- 50-150 cm: transiënt intestinaal falen
 - Trial and error (gewicht)
 - Niet altijd even gemakkelijk voor clinicus of comfortabel voor de patiënt



Hoe inschatten?

- Coeliakie
 - Gluten-vrij dieet
 - Refractaire coeliakie
 - Genormaliseerde anti-transglutaminases
 - Persisterende lymfocyttaire enteritis, hyperplasie van krypten, vilieuze atrofie
 - Geen goede merker voor respons op dieet

Hoe inschatten?

- andere settings
 - Trial and error op ICU
 - Drinken
 - Darmperistaltiek
 - Transplantatie (dunne darm)
 - Surveillance biopten/endoscopie
 - Opvolgen volume ileostoma
 - Niet sensitief genoeg
 - Geen biomarker beschikbaar – vit B12, albumine, INR



Hoe inschatten?

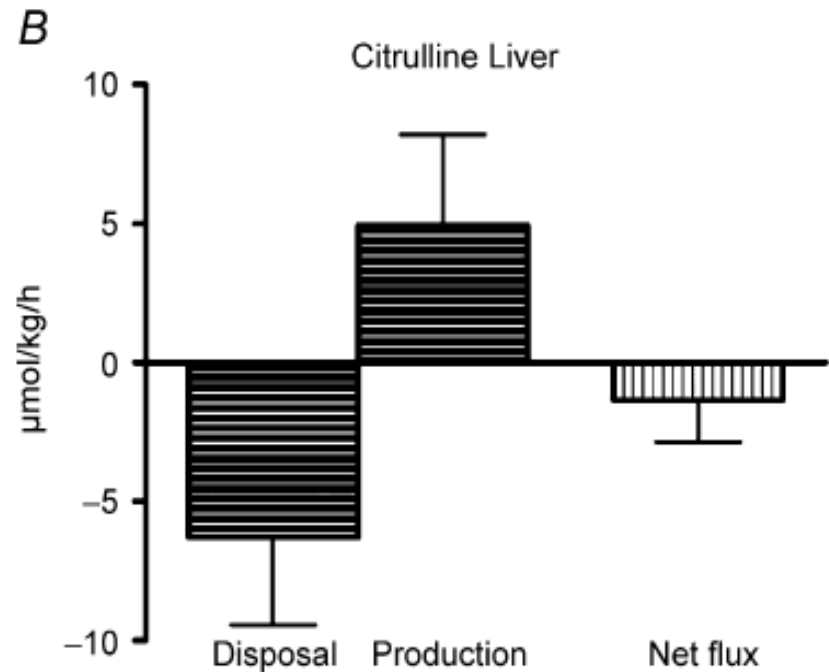
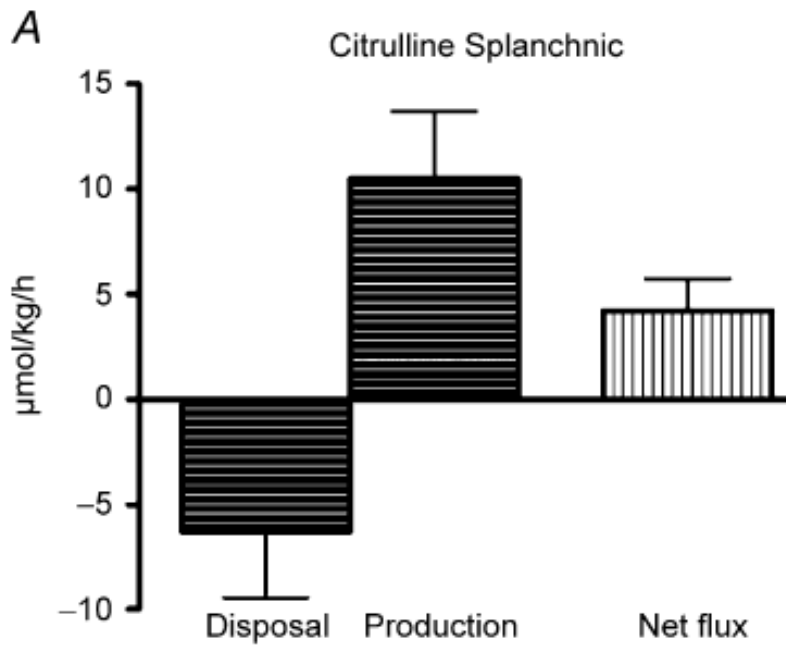
- andere settings
 - Transplantatie (dunne darm)
 - Surveillance biopten/endoscopie
 - Opvolgen volume stoma
 - Niet sensitief genoeg
 - Casus:
 - » Jonge dunne darm transplant patiënt
 - Ileostomie: > 5L
 - Biopten: negatief geprotocolleerd
 - Uiteindelijk klinisch beschouwd als rejectie
 - Retrospectief: toch een positief biopt

Hoe inschatten?

- andere settings
 - Trial and error op ICU
 - Transplantatie (dunne darm)
 - Radiotherapie
 - Klinische scores: daily oral mucositis and gut score (DMS-DGS)

- Inleiding
 - Intestinaal falen
 - **Citrulline**
- Rationale
- Citrulline als merker voor darm functionaliteit
- Besluit

De enterocyt: netto producer van citrulline



De enterocyt: netto producer van citrulline

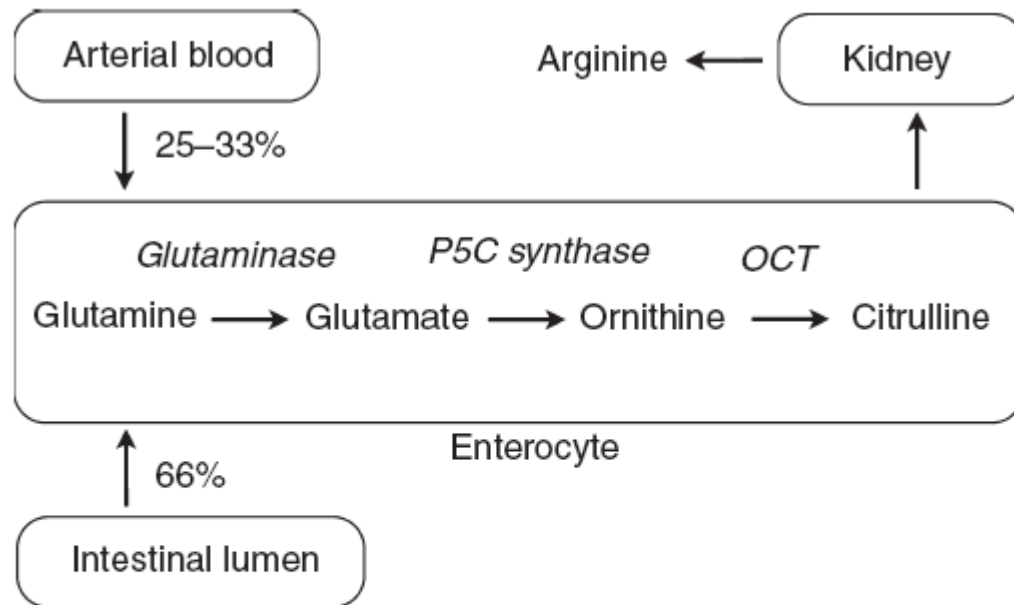


Figure 1. Metabolization of arterial and enteral glutamine into citrulline by the enterocyte. P5C, pyrroline-5-carboxylate; OAT, ornithine aminotransferase; OCT, ornithine transcarbamyase.

- Inleiding
 - Intestinaal falen
 - Citrulline
- **Rationale**
- Citrulline als merker voor darm functionaliteit
- Besluit

Rationale

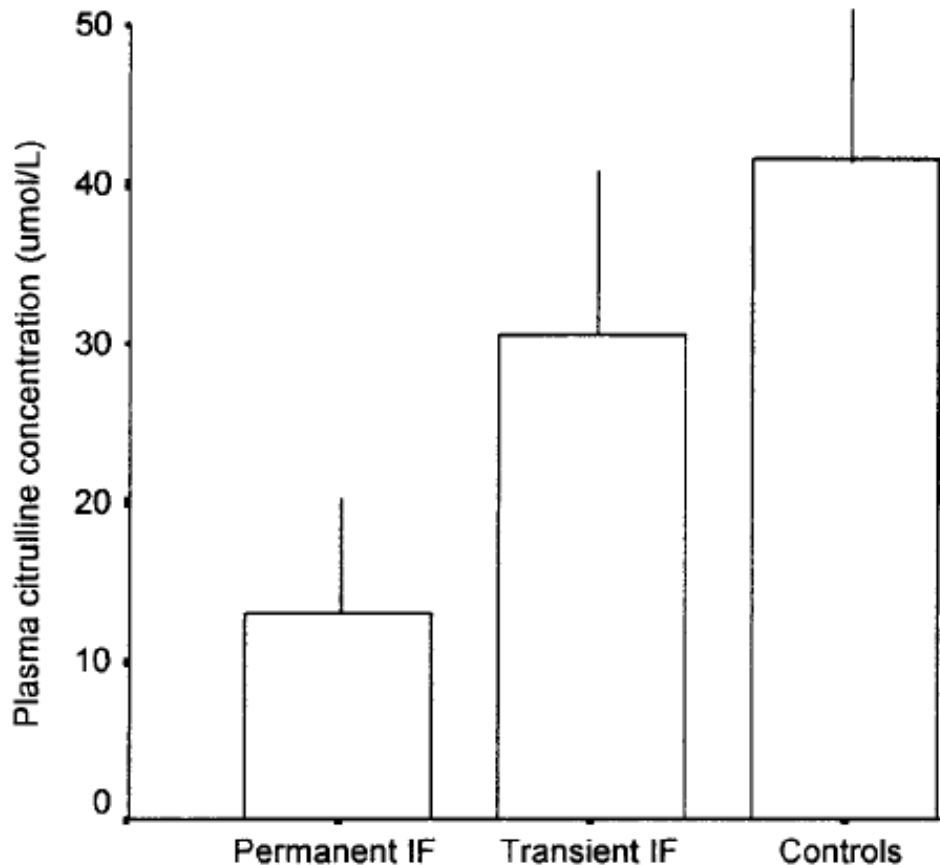
1. Is er evidentie voor citrulline als **diagnostische merker** voor **short bowel syndrome**?
2. Is er evidentie voor citrulline als **merker** voor parenteraal te **weanen**?

Rationale

3. Is er evidentie voor citrulline als **merker** van de **respons op gluten-vrij** dieet bij coeliakie patiënten?
4. Is er evidentie voor citrulline als **merker voor een acute rejectie** bij **dunne darm transplant** patiënten?
5. Is er evidentie voor een rol voor citrulline in **radio- of chemotherapie** geïnduceerd intestinaal mucositis?

- Inleiding
 - Intestinaal falen
 - Citrulline
- Rationale
- **Citrulline als merker voor darm functionaliteit**
- Besluit

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?



- SBS residuele dunne darm < 200 cm
- na resectie opgevolgd
- nuchter

Figure 2. Plasma citrulline concentrations in permanent intestinal failure, transient intestinal failure, and controls. Heights of histograms and bars represent mean and SD, respectively. Groups were significantly different ($P < 0.05$). IF, intestinal failure. $n = 37$ (permanent IF), $n = 20$ (transient IF), and $n = 51$ (controls).

Crenn et al, Gastroenterology 2000

Luo et al, JPEN 2007

Fitzgibbons et al, J Pediatr Surg 2009

Santarpia et al, Ann Nutr Metab 2008

Baily-Botuha, Pediatr Res 2009

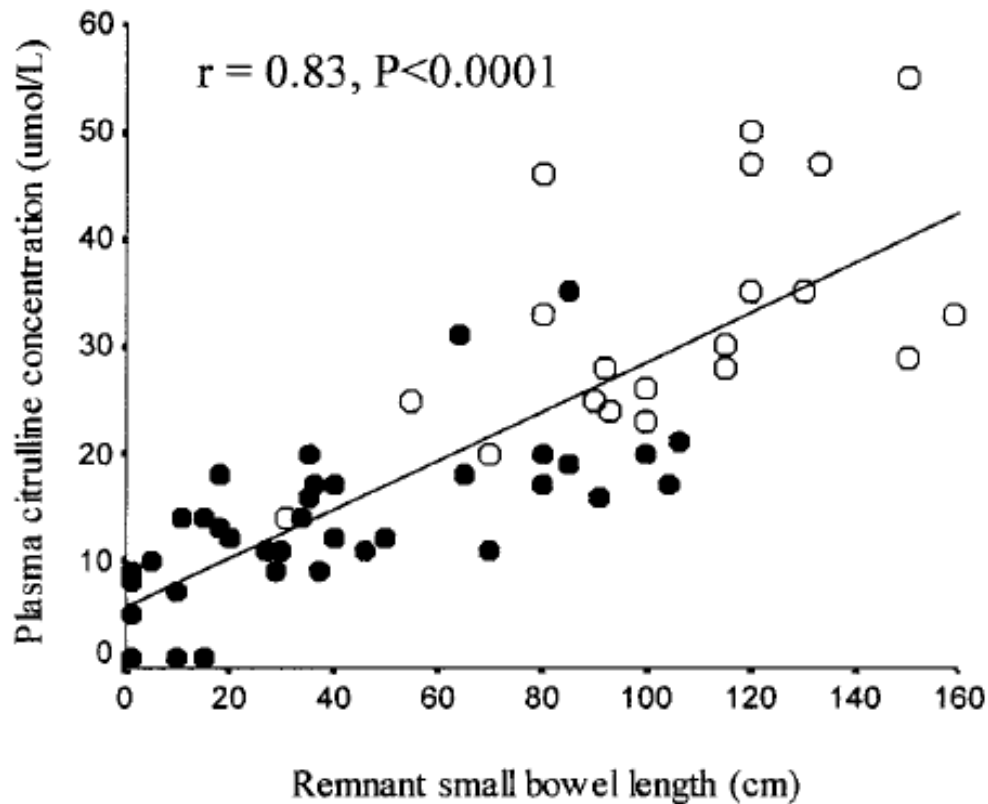


Figure 3. Degree of correlation between plasma citrulline concentration and remnant small bowel length as evaluated on radiograph films. The regression equation is: plasma citrulline ($\mu\text{mol/L}$) = $0.23 \times$ small bowel length (cm) + 5.68 ($\mu\text{mol/L}$). ●, Patients with permanent intestinal failure; ○, patients with transient intestinal failure.

Citrulline als predictieve merker voor parenterale weaning?

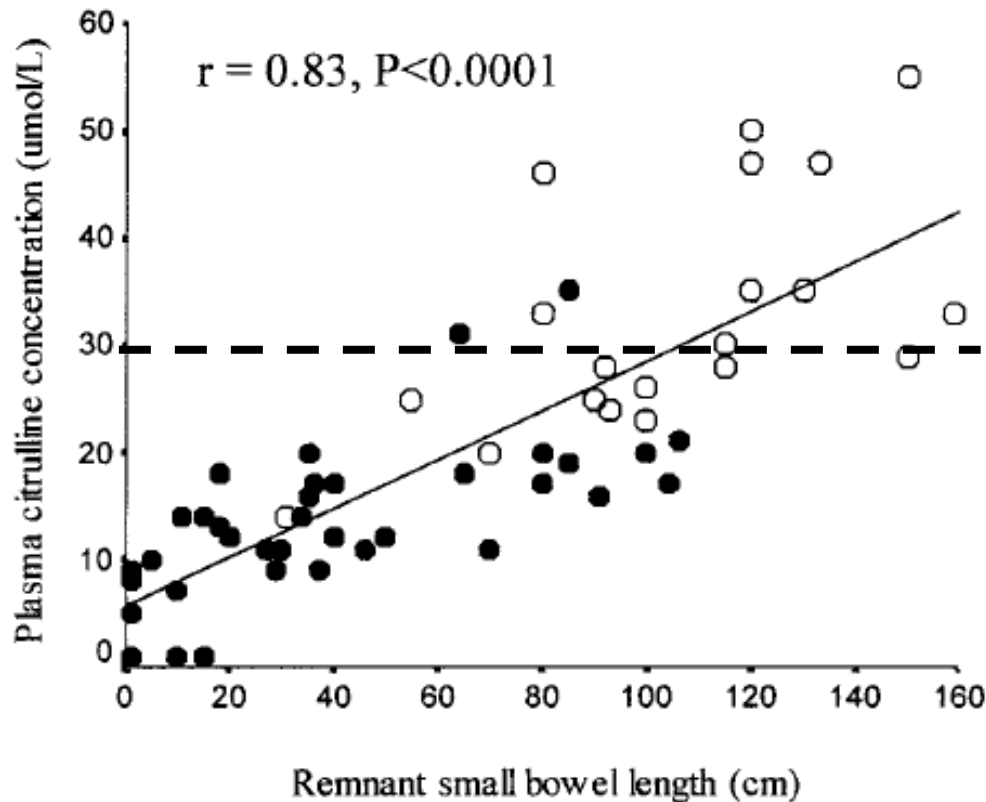


Figure 3. Degree of correlation between plasma citrulline concentration and remnant small bowel length as evaluated on radiograph films. The regression equation is: plasma citrulline ($\mu\text{mol/L}$) = $0.23 \times$ small bowel length (cm) + 5.68 ($\mu\text{mol/L}$). ●, Patients with permanent intestinal failure; ○, patients with transient intestinal failure.

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

Table 3. Accuracy of Postabsorptive Plasma Citrulline Cutoff Threshold in Assessment of Intestinal Failure in 57 Patients With the Short-Bowel Syndrome

Plasma citrulline cutoff	30 $\mu\text{mol/L}$ ^a
Sensitivity (%)	77
Specificity (%)	75
Positive predictive value (%)	76
Negative predictive value (%)	77

^aThe cutoff for plasma citrulline that most clearly discriminates short-bowel patients (n = 57) from controls (n = 57) was 30 $\mu\text{mol/L}$.

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- Citrulline waarde bepaald minimum 2 jaar na dunne darm resectie:
 - Nut van citrulline als “earlymarker” ten opzichte van klinische diagnose?
- Gezonde controles:
 - disease-controles:
 - citrulline-daling bij andere intestinale aandoeningen

Crenn et al, Gastroenterology 2000

Luo et al, JPEN 2007

Santarpia et al, Ann Nutr Metab 2008

Baily-Botuha, Pediatr Res 2009

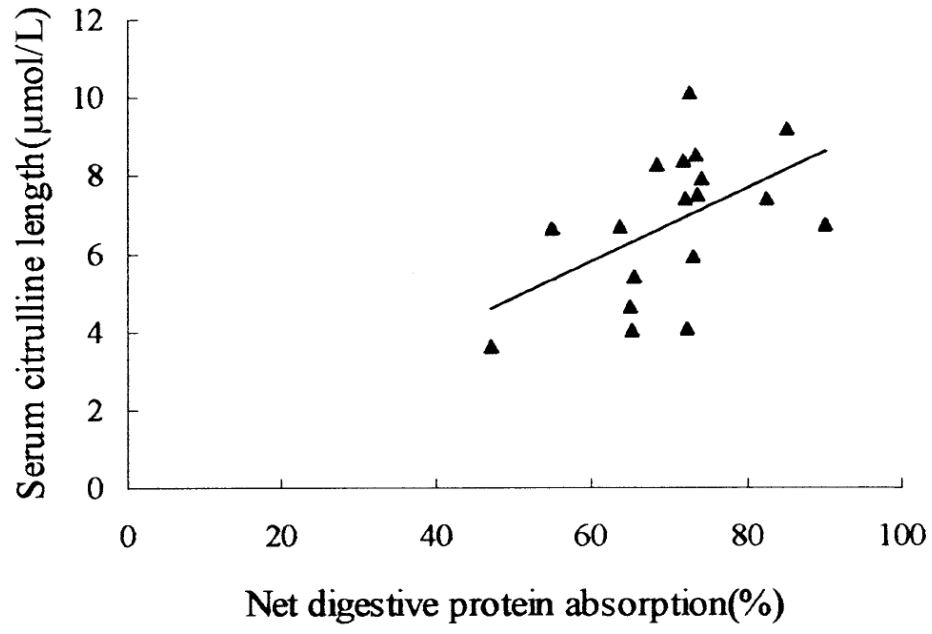
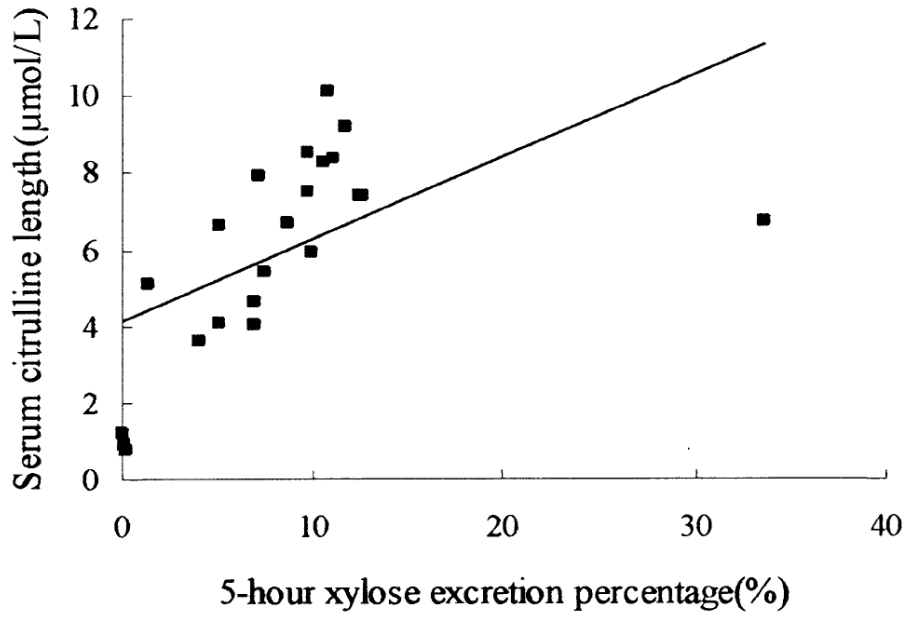
Fitzgibbons et al, J Pediatr Surg 2009

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

Table 3. Accuracy of Postabsorptive Plasma Citrulline Cutoff Threshold in **Assessment of Intestinal Failure** in 57 Patients With the Short-Bowel Syndrome

Plasma citrulline cutoff	30 $\mu\text{mol/L}^a$
Sensitivity (%)	77
Specificity (%)	75
Positive predictive value (%)	76
Negative predictive value (%)	77

^aThe cutoff for plasma citrulline that most clearly discriminates short-bowel patients (n = 57) from controls (n = 57) was 30 $\mu\text{mol/L}$.



Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- Normaalwaarden
 - interraciaal verschil?
 - Europees *versus* Chinees

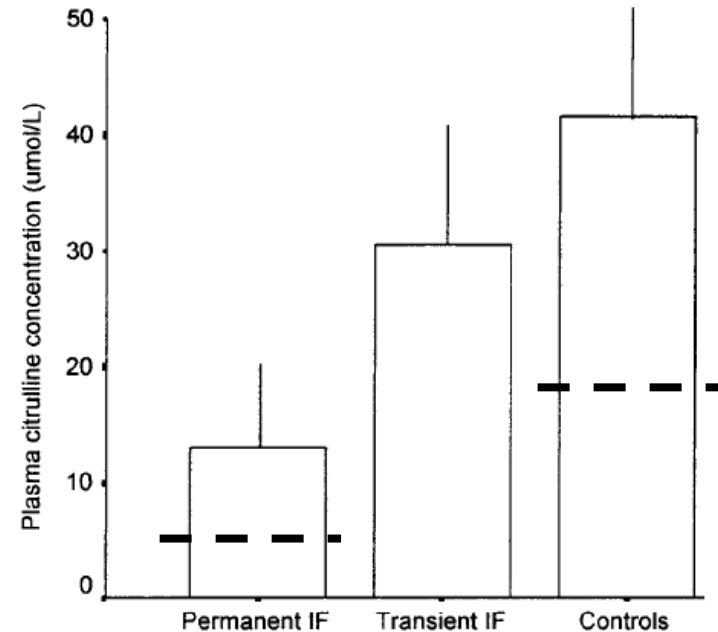
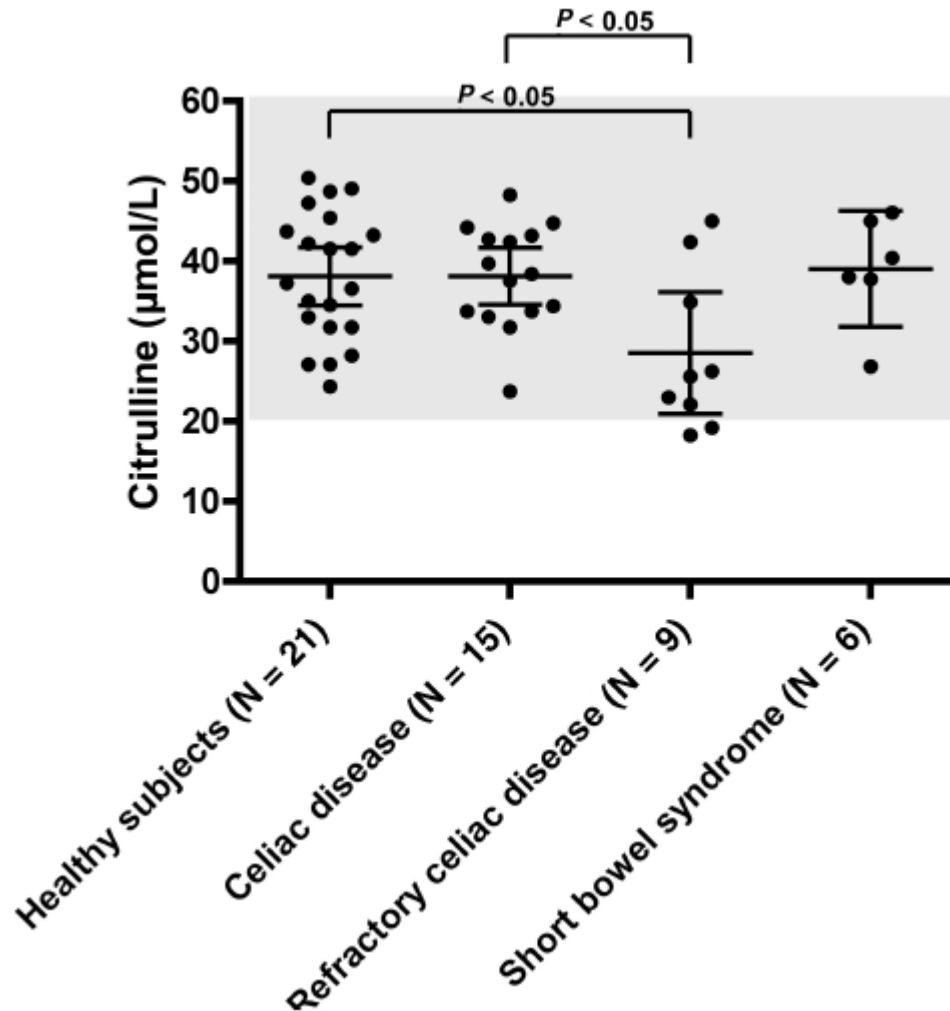


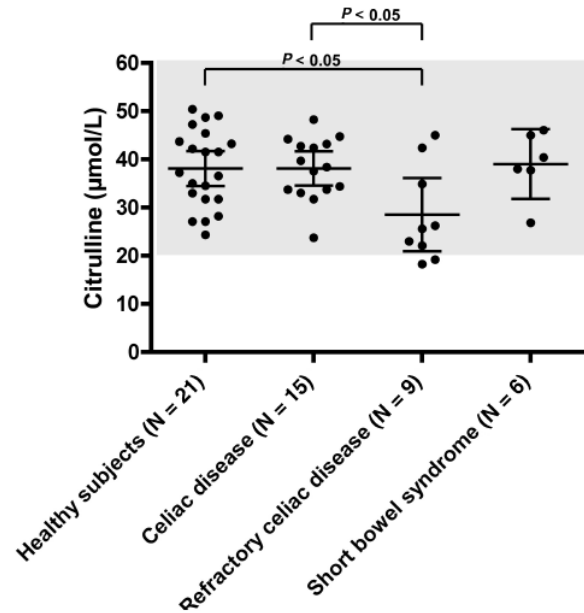
Figure 2. Plasma citrulline concentrations in permanent intestinal failure, transient intestinal failure, and controls. Heights of histograms and bars represent mean and SD, respectively. Groups were significantly different ($P < 0.05$). IF, intestinal failure. $n = 37$ (permanent IF), $n = 20$ (transient IF), and $n = 51$ (controls).

Crenn et al, Gastroenterology 2000
Jianfeng et al, J Surg Res 2005

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?



Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?



– inclusie:

- residuele dunne darm lengte: 50-150 cm
- alle SBS patiënt reeds geweand!

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- studies: inclusie criteria
 - vaak op basis van anatomische SBS
 - heterogene groep – al dan niet PN?
 - inclusie x maanden/jaren na resectie
 - citrulline deel van parenteraal dieet?
 - functionele component over het hoofd gezien
 - gouden standaard voor absorptie/integriteit?

Crenn et al, Gastroenterology 2000

Luo et al, JPEN 2007

Peters et al, Am J Gastroenterol 2007

Santarpia et al, Ann Nutr Metab 2008

Baily-Botuha, Pediatr Res 2009

Fitzgibbons et al, J Pediatr Surg 2009

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- studies: exclusie criteria
 - nierfalen: stijging van citrulline
 - infectie, sepsis, trauma: daling van citrulline
 - pancreatitis: daling van citrulline

Sandstrom et al, Pancreas 2003
van Waardenburg et al, Am J Clin Nutr 2007
Luiking et al, AM J Clin Nutr 2009

Citrulline als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- citrulline productie:
 - duodenum > jejunum >> ileum >>> colon
- Klinische impact?
 - hoe citrulline te gebruiken/interpreteren
 - kosten/baten (patiënt)?

Crenn et al, Gastroenterology 2000

Luo et al, JPEN 2007

Santarpia et al, Ann Nutr Metab 2008

Baily-Botuha, Pediatr Res 2009

Fitzgibbons et al, J Pediatr Surg 2009

Rationale

1. Is er evidentie voor citrulline als **diagnostische merker** voor **short bowel syndrome**?
2. Is er evidentie voor citrulline als **predictieve merker** voor parenteraal te **weanen**?

Citrulline als predictieve merker voor PN weanen

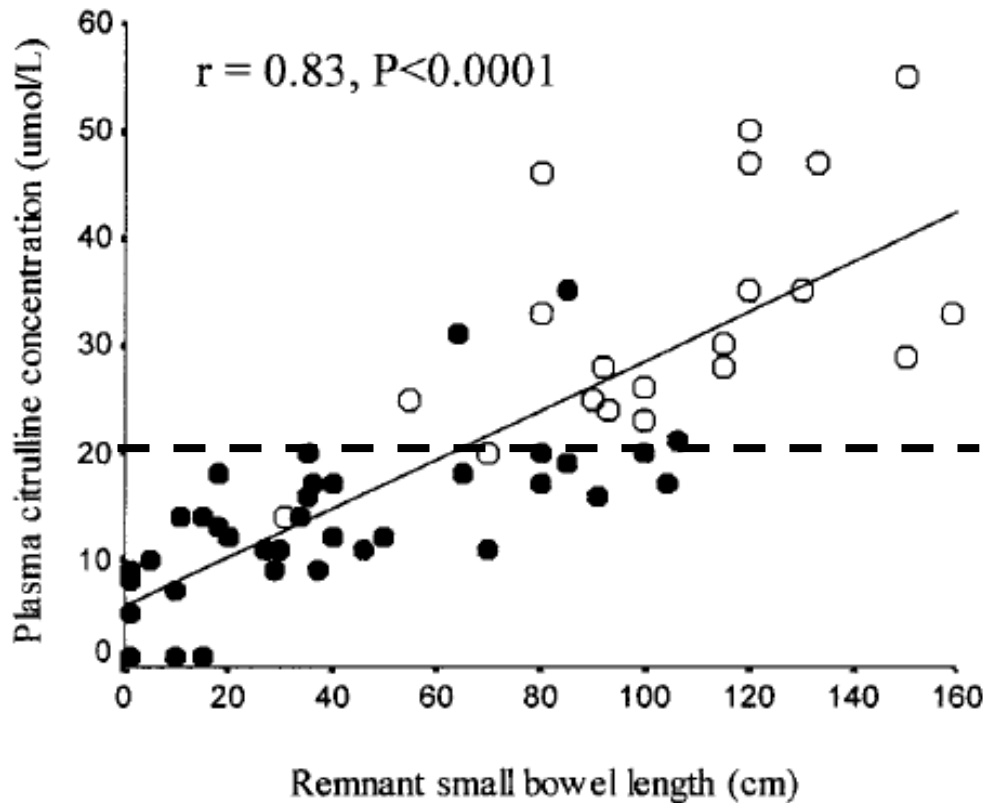


Figure 3. Degree of correlation between plasma citrulline concentration and remnant small bowel length as evaluated on radiograph films. The regression equation is: plasma citrulline ($\mu\text{mol/L}$) = $0.23 \times$ small bowel length (cm) + 5.68 ($\mu\text{mol/L}$). ●, Patients with permanent intestinal failure; ○, patients with transient intestinal failure.

Citrulline als predictieve merker voor PN weanen

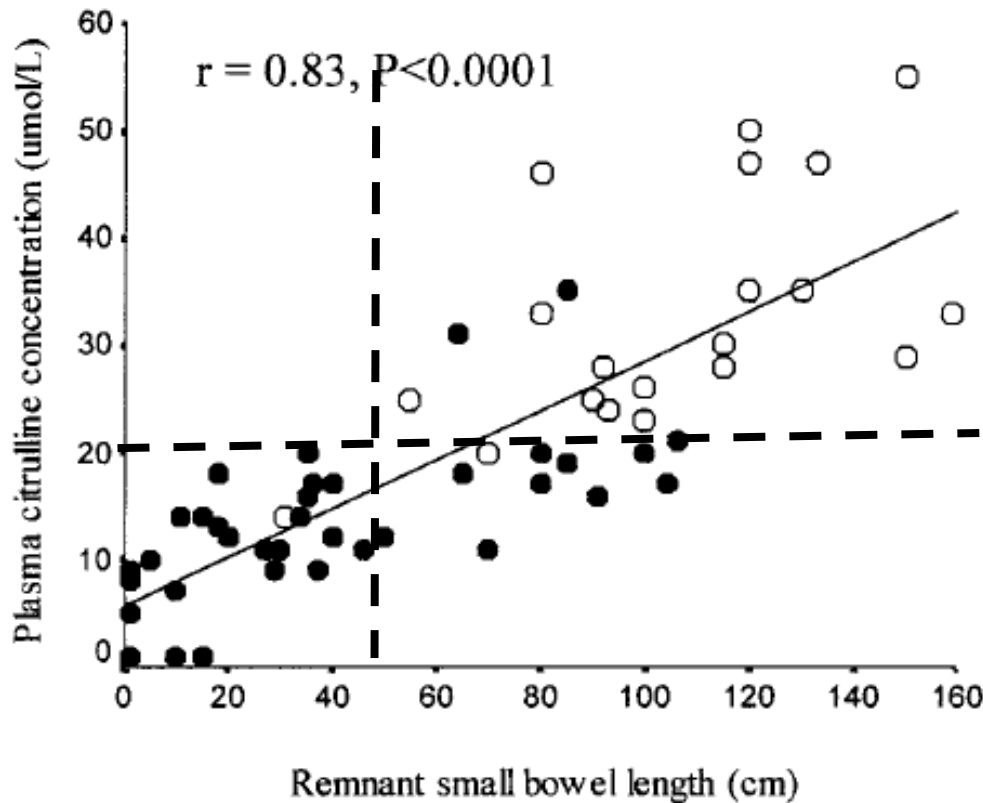


Figure 3. Degree of correlation between plasma citrulline concentration and remnant small bowel length as evaluated on radiograph films. The regression equation is: plasma citrulline ($\mu\text{mol/L}$) = $0.23 \times$ small bowel length (cm) + 5.68 ($\mu\text{mol/L}$). ●, Patients with permanent intestinal failure; ○, patients with transient intestinal failure.

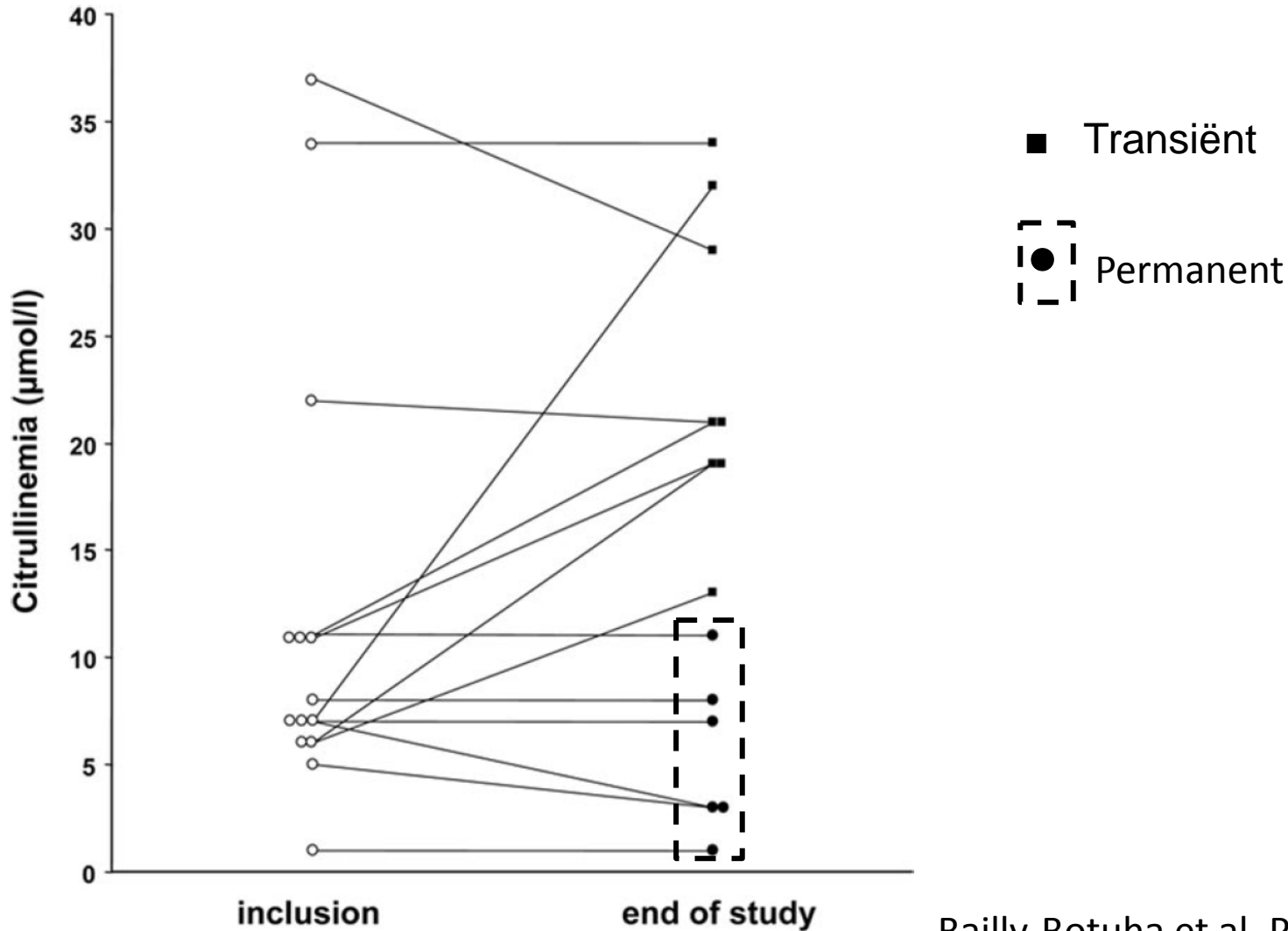
Citrulline als predictieve merker voor PN weanen

Table 3. Accuracy of Postabsorptive Plasma Citrulline Cutoff Threshold in Assessment of Intestinal Failure in 57 Patients With the Short-Bowel Syndrome

Plasma citrulline cutoff	20 $\mu\text{mol/L}^b$
Sensitivity (%)	92
Specificity (%)	90
Positive predictive value (%)	95
Negative predictive value (%)	86

^bAmong patients with short-bowel syndrome, the cutoff for plasma citrulline that most clearly discriminates transient (n = 20) from permanent (n = 37) intestinal failure was 20 $\mu\text{mol/L}$.

Citrullinemia als predictieve merker voor PN weanen



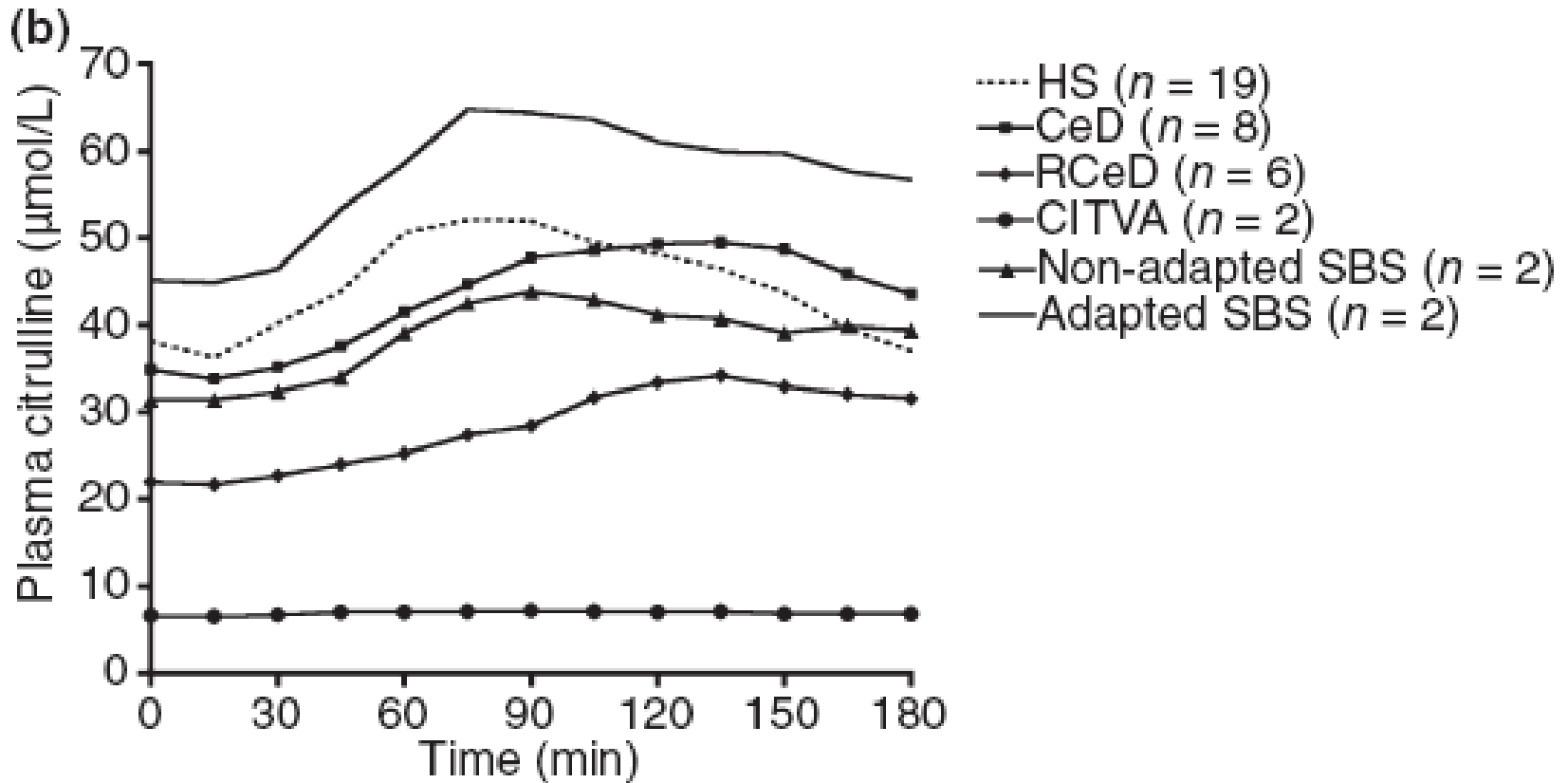
Citrulline als predictieve merker voor PN weanen

	Geweand	PN
Baseline plasma citrulline concentration ($\mu\text{mol/L}$)	20.4 \pm 13.9	6.1 \pm 2.4
Final plasma citrulline concentration ($\mu\text{mol/L}$)	29.1 \pm 16.9	9.0 \pm 4.1
Increase of plasma citrulline concentration ($\mu\text{mol/L}$)	8.9 \pm 18.1	2.5 \pm 3.1
Plasma citrulline >10 $\mu\text{mol/L}$ at inclusion	64%	7%
Increase of plasma citrulline concentration >25%	64%	14%

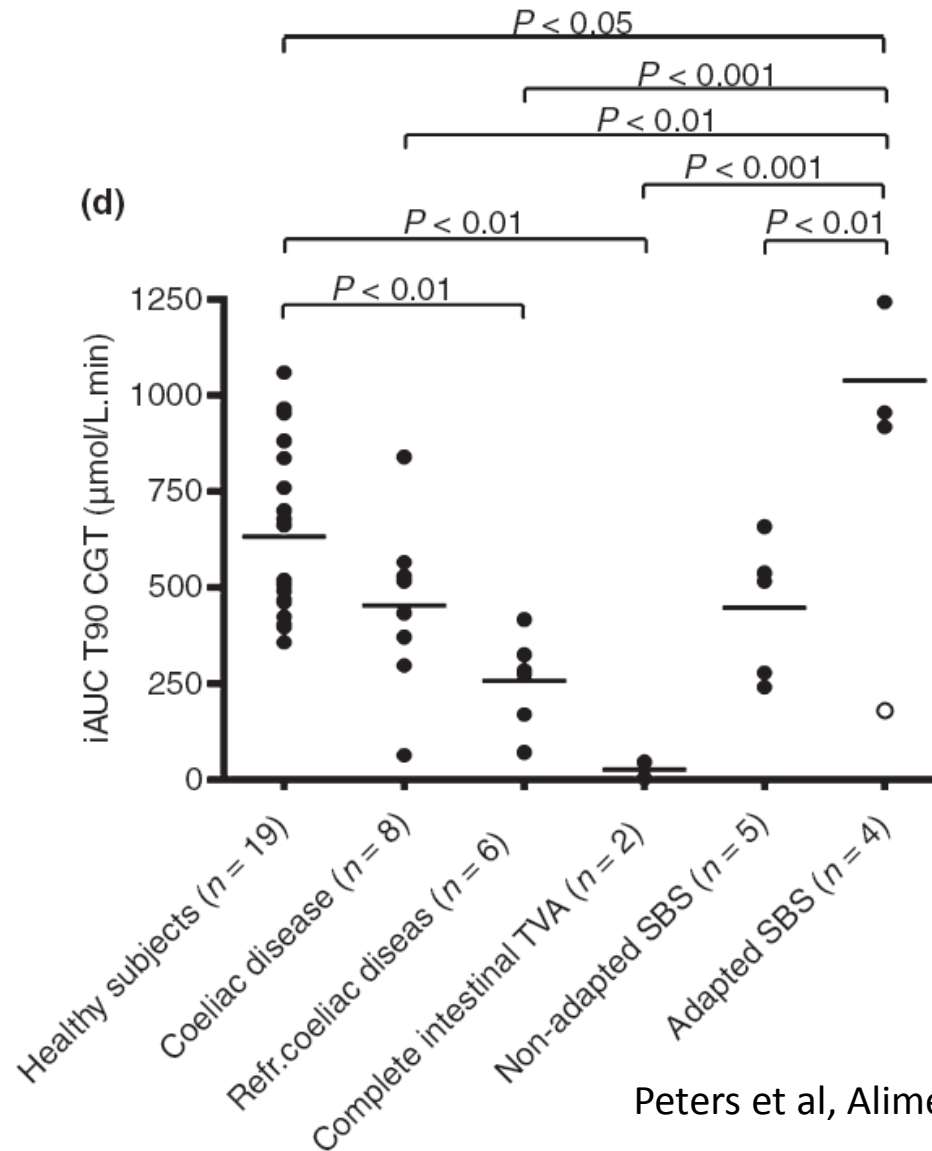
Diamanti et al, Langenbecks Arch Surg 2011

Luo et al, JPEN 2007

“Citrulline generation test” als diagnostische merker voor short bowel syndrome?



Citrulline generation test als diagnostische merker voor short bowel syndrome?



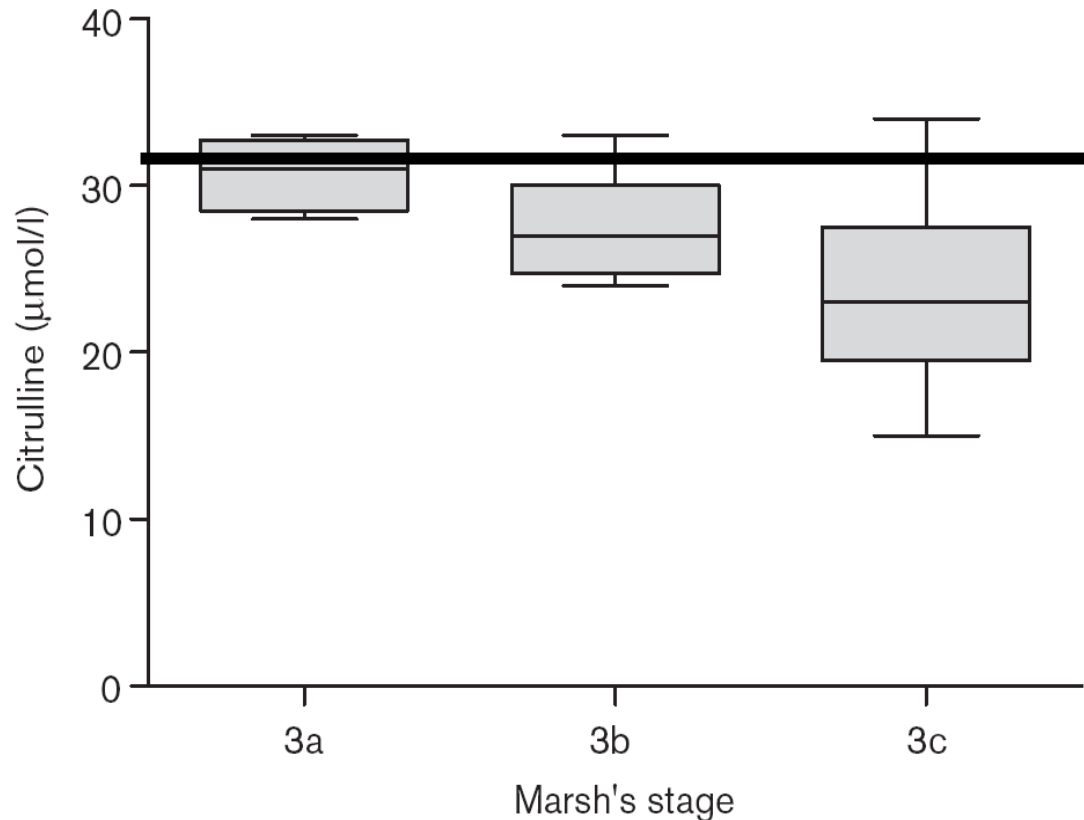
Citrulline generation test als diagnostische merker voor short bowel syndrome?

- Beloftevol – potentieel interessant
- Design van studies: niet in staat citrulline als predictieve merker te gebruiken
- Klinische impact?
 - hoe citrulline te gebruiken/interpreteren
 - andere acties dan nu?
 - sowieso trial and error?
 - kosten/baten (patiënt)?

Rationale

3. Is er evidentie voor citrulline als **predictieve merker** van de **respons op gluten-vrij** dieet bij coeliakie patiënten?
4. Is er evidentie voor citrulline als **merker voor een acute rejectie** bij **dunne darm transplant** patiënten?
5. Is er evidentie voor een rol voor citrulline in **radio- of chemotherapie** geïnduceerd intestinaal mucositis?

Citrulline als **predictieve merker** van de **respons op gluten-vrij**



Citrulline concentrations according to the Marsh's stage. Patients with the most severe mucosal lesions (stage 3c) presented the lowest citrulline levels (mean 22 ± 4), although overlap of values is observed.

Citrulline als merker van de respons op gluten-vrij

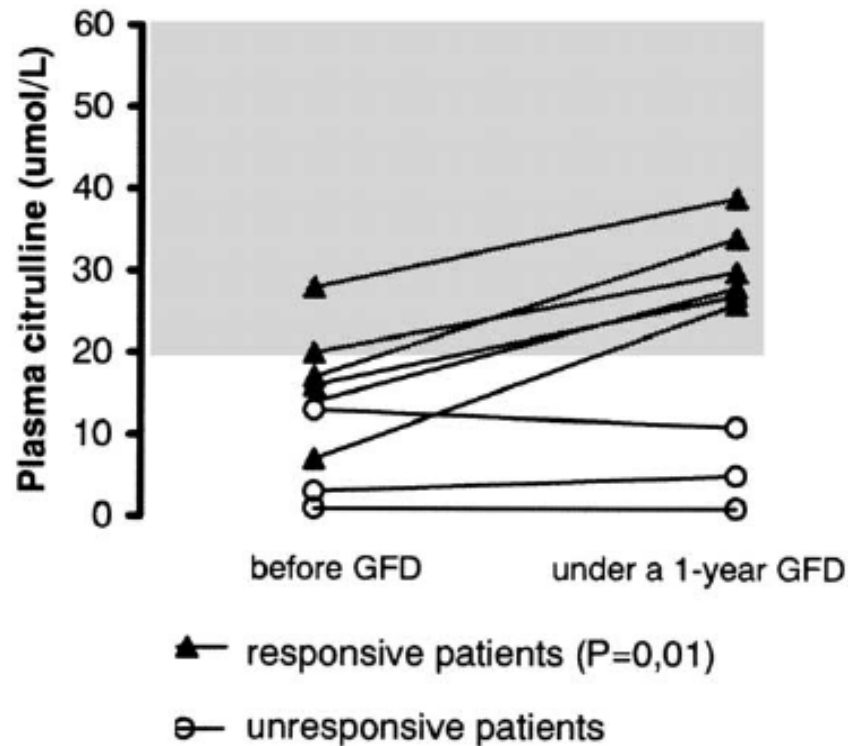


Figure 1. Plasma citrulline concentration before and under a GFD of at least 1-year duration in 6 histologically responsive (*closed triangles*) and 3 unresponsive (*open circles*) patients with celiac disease. The *gray area* indicates the normal range (i.e., mean \pm 2 SD in healthy controls [n = 51]).

Citrulline als **predictieve merker** van de **respons op gluten-vrij**

- Design van studies: niet in staat citrulline als predictieve merker te gebruiken
- Klinische impact?
 - hoe citrulline te gebruiken/interpreteren
 - kosten/baten (patiënt)?

Rationale

3. Is er evidentie voor citrulline als **predictieve merker** van de **respons op gluten-vrij** dieet bij coeliakie patiënten?
4. Is er evidentie voor citrulline als merker voor een **acute rejectie bij dunne darm transplant** patiënten?
5. Is er evidentie voor een rol voor citrulline in **radio- of chemotherapie** geïnduceerd intestinaal mucositis?

citrulline als merker voor een acute reëctie bij dunne darm transplant

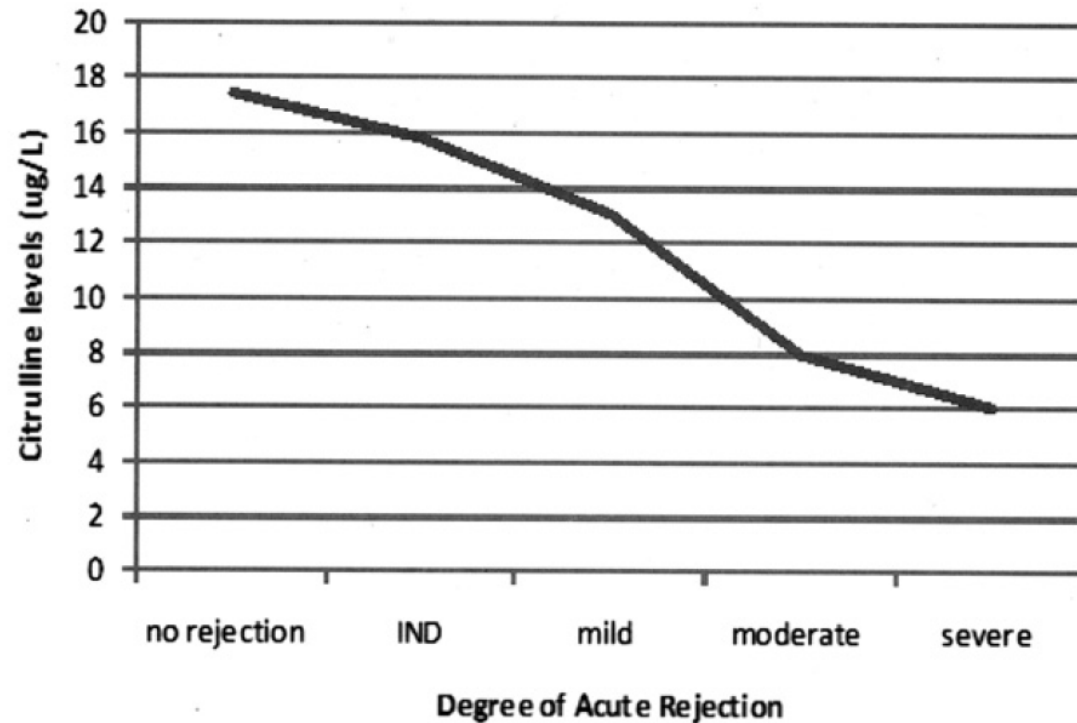


Fig 1. Line graph showing differences in citrulline levels associate with bowel transplants without rejection versus other increasing grades of rejection. The values used for the graph and significance values are below the graph.

citrulline als merker voor een acute rejectie bij dunne darm transplant

TABLE 4. Cross-tabulation of DBS citrulline values, using 13 $\mu\text{moles/L}$ as a cutoff

	DBS citrulline level		Total
	<13 $\mu\text{moles/L}$	$\geq 13 \mu\text{moles/L}$	
Any rejection	240 (89.5)	28 (10.5)	268
Moderate or severe rejection	190 (96.4)	7 (3.6)	197
Mild rejection	50 (70.4)	21 (29.6)	71
Infection (blood or respiratory) without rejection	476 (75.6)	154 (24.4)	630
No rejection, no infection	388 (31.4)	849 (68.6)	1,237

NPV 99%
PPV 28,7%

Data are n (%).

citrulline als merker voor een **acute rejectie bij dunne darm transplant**

- Klinisch bruikbaar (combinatie kliniek – biopten)
 - Hoge sensitiviteit
- Invloed van (gastro-intestinale) co-morbiditeiten (zoals sepsis, inflammatie)
 - verlaagde citrulline concentraties zijn aangetoond
 - specificiteit van citrulline: 68.6%

David et al, Transplantation 2007
van Waardenburg et al, Am J Clin Nutr 2007
Luiking et al, AM J Clin Nutr 2009

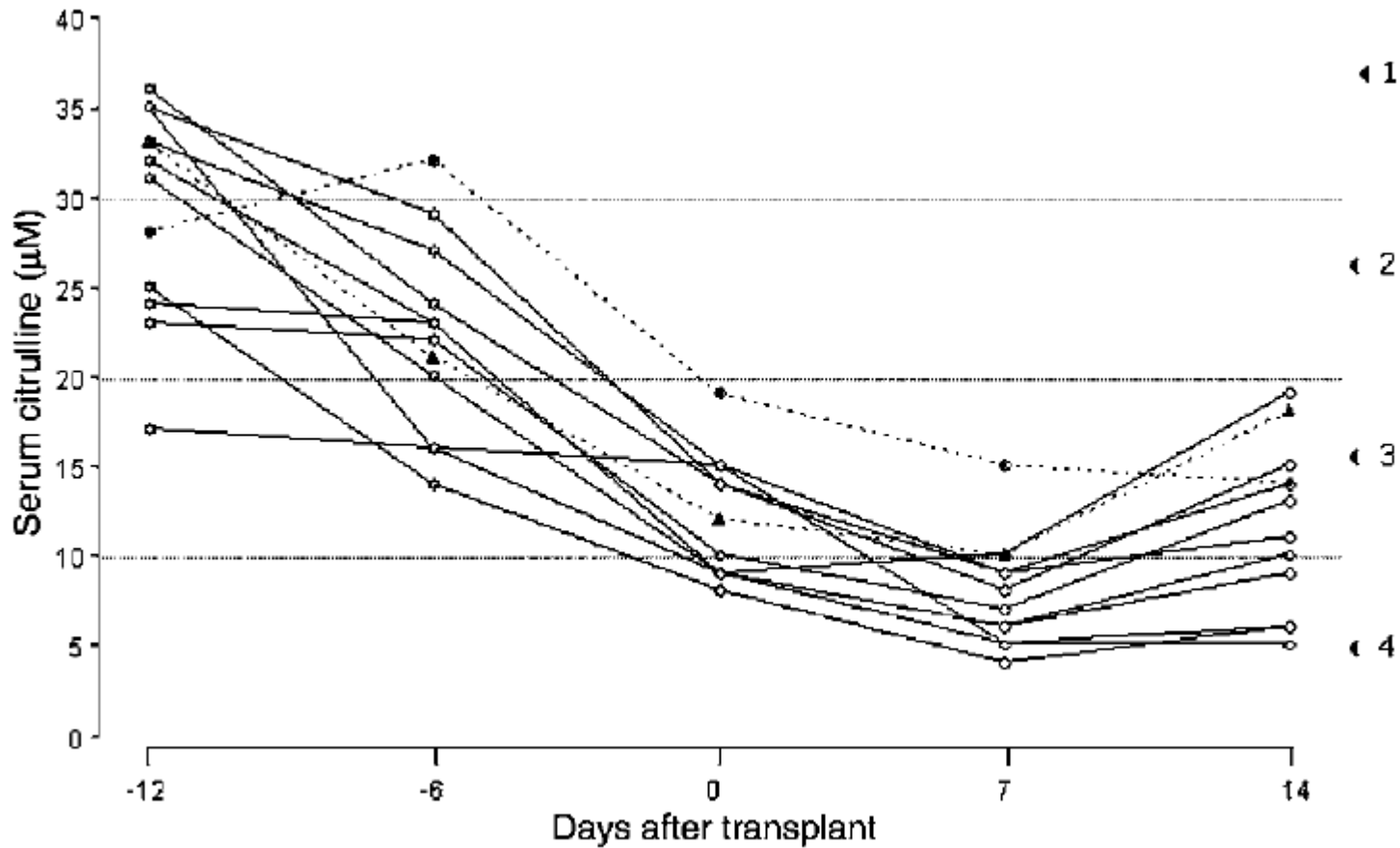
Rationale

3. Is er evidentie voor citrulline als **predictieve merker** van de **respons op gluten-vrij** dieet bij coeliakie patiënten?
4. Is er evidentie voor citrulline als merker voor een acute rejectie bij dunne darm transplant patiënten?
5. Is er evidentie voor een rol voor citrulline in **radio- of chemotherapie** geïnduceerd intestinaal mucositis?

citrulline in radio- of chemotherapie geïnduceerd intestinaal mucositis

<i>HSCT days</i>	<i>Citrulline</i>		<i>DMS</i>		<i>DGS</i>
	N	<i>Mean [95% CI]</i>	N	<i>Mean [95% CI]</i>	<i>Mean [95% CI]</i>
-12	25	31.8 [28.2–35.3]	32	0.0 [0.0–0.1]	0.1 [0.0–0.2]
-6	27	25.7 [21.7–35.3]	25	0.4 [0.0–0.8]	0.9 [0.5–1.3] ^a
0	27	15.1 [12.8–17.4] ^a	30	4.5 [3.4–5.7] ^a	2.8 [2.0–3.7] ^a
+7	26	9.9 [7.9–11.8] ^a	31	9.1 [7.3–10.8] ^a	2.1 [0.9–3.3] ^a
+14	20	14.1 [11.2–16.9] ^a	26	4.3 [3.1–5.6] ^a	3.4 [2.1–4.6] ^a
+21	16	14.5 [12.2–16.8] ^a	18	2.9 [0.7–5.0] ^a	2.4 [1.3–3.5] ^a

citrulline in radio- of chemotherapie geïnduceerd intestinaal mucositis



- Inleiding
 - Intestinaal falen
 - Citrulline
- Rationale
- Citrulline als merker voor darm functionaliteit
- **Besluit**

TO DO's

1. Opzetten van citrulline dosage

– Nele Peersman: LC-MS/MS

- Lineariteit: standaarden – plasma: $r^2 > 0,99$
- Repeteerbaarheid: standaarden:
 - 5 μmol : CV% 2,38
 - 10 $\mu\text{mol/L}$: CV% 1,97
 - 25 $\mu\text{mol/L}$: CV% 1,93
- Between-run stabiliteit:
 - 5 μmol : CV% 3,64
 - 10 $\mu\text{mol/L}$: CV% 2,74
 - 25 $\mu\text{mol/L}$: CV% 4,43

TO DO's

1. Opzetten van citrulline dosage

– Nele Peersman: LC-MS/MS

- Recovery: 92,4 – 98,8%
- LOD: 0.004 $\mu\text{mol/L}$
- LOQ: 0.23 $\mu\text{mol/L}$

TO DO's

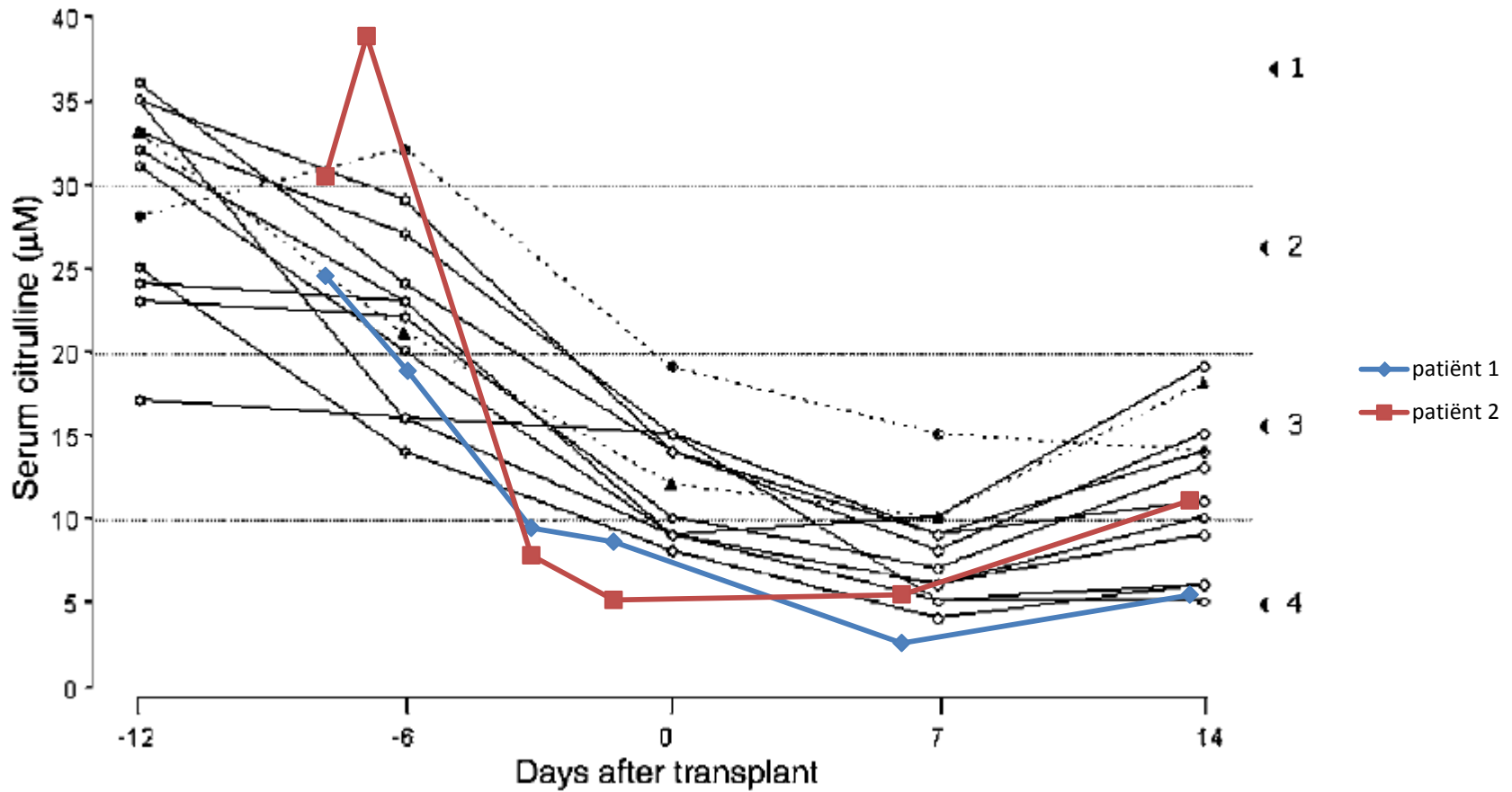
1. Opzetten van citrulline dosage

– Enzymatisch?



- Enzymes: NJ204 cellen?
- Ammonia + fenol (salicylaat): blauw-groen complex
- Nitroferricyniade als katalysator
- OD 640 nm

Citrulline in radio- of chemotherapie geïnduceerd intestinaal mucositis



TO DO's

2. Transplantchirurgen

- Vragende partij om citrulline te gebruiken
 - Prof Monbaliu, prof Pirenne
- Naast biopten en kliniek, ook citrulline om de sensitiviteit te verhogen
 - Directe impact op al dan niet geven immunosuppressiva
- RIZIV-nummer 540035 - B350

TO DO's

3. Bariatrisch chirurgen

- Pre-operatief: citrulline dosage
 - Inschatten van hoeveelheid dunne darm te bypassen
 - Verhinderen van SBS na bariatrische chirurgie
- Wordt projectmatig uitgewerkt
 - Ism Dr Lannoo

Dank voor uw aandacht!