



HAL
open science

Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique chez l'homme. La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive

Pascal Crenn

► **To cite this version:**

Pascal Crenn. Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique chez l'homme. La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Paris-Diderot - Paris VII, 2000. Français. tel-00924295

HAL Id: tel-00924295

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00924295>

Submitted on 6 Jan 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Paris 7-Denis Diderot

UFR Biologie et Sciences de la Nature

THESE de DOCTORAT de l'UNIVERSITE PARIS 7

Physiologie et Physiopathologie de la Nutrition Humaine

Directeur de la formation doctorale : Pr. B Portha

**Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance
intestinale chronique chez l'homme.**

La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de
citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

par

Pascal CRENN

Présentée et soutenue publiquement le 9 novembre 2000

JURY :

Président : Pr. C RICOUR

Rapporteurs :

Pr. JF DESJEUX

Dr PH DUEE

Examineurs :

Dr P DECHELOTTE

Pr. X LEVERVE

Directeur de thèse : Pr. B MESSING

Résumé : Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique chez l'homme. La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

L'insuffisance intestinale chronique résulte le plus souvent d'une malabsorption nécessitant une nutrition parentérale pour maintenir l'équilibre nutritionnel. Sa cause habituelle est le syndrome de grêle court (SGC). Dans ce dernier (n=124) nous avons déterminé par analyse actuarielle multidimensionnelle les facteurs de dépendance à la nutrition parentérale et de survie. Nous avons ainsi discriminé l'insuffisance intestinale transitoire et permanente par les césures de longueur de grêle selon le type anatomique et de période adaptative post-résection (2 ans). Notre objectif a ensuite été de déterminer, dans l'insuffisance intestinale, un marqueur biologique de la masse entérocytaire absorptive. Après avoir optimisé chez l'homme sain l'administration digestive des traceurs isotopiques du métabolisme protéique (leucine, glutamine) en démontrant que seule la perfusion duodénale, par rapport à la perfusion gastrique, permettait d'obtenir des résultats reproductibles pour l'état stationnaire et l'extraction splanchnique, nous avons fait l'hypothèse que la citrullinémie, acide aminé non protéique produit du métabolisme entérocytaire de la glutamine, pouvait être un marqueur candidat. En préalable, dans le SGC, nous avons validé une méthode radiologique pour évaluer anatomiquement la masse intestinale et modélisé la masse intestinale fonctionnelle grâce aux bilans d'absorption. Nous avons montré que l'hyperphagie était l'un des facteurs majeurs qui caractérisait ces patients (présente chez 82%) et qu'elle participait à l'expression de l'adaptation intestinale. Nous avons alors, dans le SGC (n=57), pu démontrer que la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire du fait : a) de son abaissement par rapport aux contrôles, b) de sa corrélation positive ($r=0.83$, $P<0.0001$) avec la longueur de grêle, c) de sa liaison avec les coefficients d'absorption, d) de son pouvoir discriminant pour le type et la sévérité de l'insuffisance intestinale. Nous avons confirmé notre hypothèse en montrant dans un 2^{ème} type d'insuffisance intestinale potentielle, le syndrome d'atrophie villositaire (n=52 dont 42 maladies cœliaques), que la citrullinémie indiquait l'intensité et l'étendue des lésions sur l'intestin grêle. Par contre dans la pseudo-obstruction intestinale chronique (n=6), la citrullinémie est (sauf en cas de lésions histologiques intestinales) subnormale. Nous avons vérifié que la dénutrition pure (marasme par anorexie mentale restrictive, n=57) n'influçait pas la citrullinémie. L'évolution et la normalisation de la citrullinémie après transplantation intestinale pour insuffisance intestinale permanente nous a confirmé que, *in vivo* chez l'homme, la citrullinémie est bien d'origine grêlique. Ainsi la citrullinémie veineuse post-absorptive peut être utilisée comme marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

Discipline : Physiologie et Physiopathologie de la Nutrition Humaine

Mots-clés : citrulline, insuffisance intestinale, nutrition parentérale, syndrome de grêle court, atrophie villositaire, absorption intestinale, transit baryté du grêle, traceurs isotopiques, transplantation intestinale.

Remerciements

Cette thèse n'aurait pu voir le jour sans la contribution de nombreuses personnes et organismes que je tiens à citer ici :

Le professeur Bernard Messing, qui nous a guidé dans nos travaux, et dont l'exigence n'a d'égard que le niveau élevé de compétence

Le docteur François Thuillier, pour son soutien

Le docteur Dominique Darmaun, pour ses judicieux conseils

Madame Marie-Christine Morin, pour sa grande expérience dans le recueil et l'analyse des enquêtes diététiques

Le professeur Luc Cynober et le docteur Colette Coudray-Lucas, pour leur expertise dans l'analyse des acides aminés plasmatiques

Le professeur Claude Matuchansky, pour sa rigueur et sa grande culture dans le domaine des pathologies intestinales

Le docteur Marie-Christine Boutron, pour ses précieux conseils concernant l'analyse statistique

Le professeur Michel Mignon, pour m'avoir reçu dans son service d'Hépatogastroentérologie et Nutrition de l'hôpital Bichat, ce qui m'a permis de compléter ma formation

Le professeur Daniel Rigaud, pour m'avoir initié dans certains domaines physiologiques et fait entrevoir la complexité des troubles du comportement alimentaire

M. J. Arsham pour son importante contribution à la syntaxe anglo-saxonne

L'unité INSERM U290 (Hôpital Saint-Lazare, Paris), où une partie de ce travail a eut lieu

L'ESPEN (European Society of Enteral and Parenteral Nutrition Society), pour son soutien matériel (ESPEN-Fellowship 1995) à la réalisation d'une partie des travaux présentés dans cette thèse

L'ensemble des malades en situation d'insuffisance intestinale ayant participé aux travaux présentés, ainsi que leurs soignants, en sachant combien le vécu et la prise en charge quotidienne de cette situation est difficile

Et bien d'autres qui, peu ou prou, à travers notamment de nombreux échanges, ont également contribué à l'élaboration de ce travail.

Je m'en voudrais enfin de ne pas citer Camille, qui a du endurer les mois de préparation de ce manuscrit.

Je tiens également à remercier les membres du jury qui nous font l'honneur de juger notre travail :

JF Desjeux,

PH Duée,

P Déchelotte,

X Leverve,

et le professeur Claude Ricour, qui a accepté la présidence de notre thèse. Nous savons combien il a œuvré au développement de la nutrition notamment thérapeutique et nous avons à plusieurs reprises pu constater l'efficacité organisationnelle de ses réunions d'enseignement.

Table des matières

1 PRE-REQUIS ET PRESENTATION DE NOTRE THEMATIQUE DE RECHERCHE	12
1.1 Le concept d'insuffisance intestinale chronique	14
1.1.1 Définition clinique et fonctionnelle de l'insuffisance intestinale chronique	17
1.1.2 Insuffisance intestinale post-chirurgicale : le syndrome de grêle court	17
1.1.2.1 Définitions	17
1.1.2.2 Étiologie	19
1.1.2.3 Conséquences digestives	19
1.1.2.4 Conséquences nutritionnelles : l'insuffisance intestinale chronique	23
1.1.2.5 Evolution	25
1.1.2.6 Traitement	28
1.1.3 Autres causes d'insuffisance intestinale chronique	33
1.1.3.1 Entéropathie muqueuse étendue	34
1.1.3.2 Dysfonction motrice intestinale sévère (syndrome de pseudo-obstruction intestinale chronique)	38
1.2 Métabolisme protéique et des acides aminés et intestin grêle	40
1.2.1 Exploration <i>in vivo</i> du métabolisme protéique	40
1.2.1.1 Généralités	40
1.2.1.2 Exploration du métabolisme protéique «corps entier» <i>in vivo</i> chez l'homme à l'aide des traceurs administrés par voie veineuse	41
1.2.1.3 Autres méthodes d'étude <i>in vivo</i> du métabolisme protéique	47
1.2.2 Exploration <i>in vivo</i> du métabolisme protéique splanchnique	51
1.2.2.1 Exploration du métabolisme protéique splanchnique par cathétérisme vasculaire	52
1.2.2.2 Exploration du métabolisme protéique splanchnique <i>in vivo</i> chez l'homme à l'aide des traceurs administrés par voie digestive	53
1.2.3 Acides aminés à «métabolisme intestinal privilégié»	57
1.2.3.1 Méthodes d'étude de la fonction métabolique de l'intestin	57
1.2.3.2 Glutamine	58
1.2.3.3 Citrulline-arginine	63
1.2.3.4 Autres acides aminés	63
1.3 Outils et objectifs de la recherche	64
1.3.1 Outils de la recherche	64
1.3.2 Objectifs de la recherche	65
1.3.2.1 Détermination des facteurs de mortalité et de dépendance à la nutrition parentérale dans le syndrome de grêle court	65
1.3.2.2 Optimisation de l'administration digestive des traceurs isotopiques pour l'étude du métabolisme splanchnique des acides aminés	66
1.3.2.3 Validation d'un marqueur biologique de la masse entérocytaire, la concentration plasmatique de citrulline, après évaluation anatomique et fonctionnelle de la masse intestinale	66
2 MODELISATION CLINIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE POST-CHIRURGICALE	68
Article 1 LONG-TERM SURVIVAL AND PARENTERAL NUTRITION DEPENDENCE IN ADULT PATIENTS WITH THE SHORT BOWEL SYNDROME	68
2.1 Présentation de l'étude	68
2.1.1 Population étudiée. Justificatif. But	68
2.1.2 Méthodes statistiques d'analyse (modélisation)	68
2.2 Résultats et perspectives	69
3 ACIDES AMINES ET METABOLISME SPLANCHNIQUE : OPTIMISATION DE L'ADMINISTRATION DIGESTIVE DES TRACEURS DU METABOLISME PROTEIQUE	73

<u>Article 2</u> DUODENAL VERSUS GASTRIC ADMINISTRATION OF LABELED LEUCINE FOR THE STUDY OF SPLANCHNIC METABOLISM IN HUMANS	73
3.1 Présentation de l'étude	73
3.1.1 But	73
3.1.2 Particularités des épreuves digestives pour l'administration des traceurs	73
3.1.3 Méthodes analytiques	74
3.1.4 Analyse statistique	74
3.2 Résultats et interprétations	75
3.2.1 Aspects digestifs	75
3.2.2 Aspects métaboliques	76
4 EVALUATION ANATOMO-PHYSIOLOGIQUE DE LA MASSE INTESTINALE ABSORPTIVE DANS LE SYNDROME DE GRELE COURT	78
4.1 Mesure de la longueur de grêle : évaluation anatomique de la masse intestinale	78
<u>Article 3</u> SURGICAL VERSUS RADIOLOGICAL MEASUREMENT OF REMNANT SMALL BOWEL LENGTH IN SHORT BOWEL PATIENTS	78
4.1.1 Comment évaluer macroscopiquement la masse intestinale ?	78
4.1.2 Résultats et conclusions	80
4.2 Etude de l'absorption intestinale : évaluation fonctionnelle de la masse intestinale absorptive-relation avec l'hyperphagie	82
4.2.1 Rappels sur l'absorption intestinale des macronutriments	82
4.2.1.1 Homme sain	82
4.2.1.2 Malabsorption	84
4.2.2 Rappels sur l'adaptation intestinale	85
4.2.2.1 Généralités	85
4.2.2.2 Facteurs de contrôle de l'adaptation intestinale post-résection intestinale	87
4.2.3 Absorption et adaptation intestinales dans le syndrome de grêle court	88
<u>Article 4</u> HYPERPHAGIA AND INTESTINAL ABSORPTIVE ADAPTATION IN ADULT SHORT BOWEL PATIENTS	88
4.2.3.1 Présentation de l'étude	89
4.2.3.2 Résultats et conclusions	90
5 LA CONCENTRATION PLASMATIQUE VEINEUSE POST-ABSORPTIVE DE CITRULLINE PLASMATIQUE, MARQUEUR DE LA MASSE ENTEROCYTAIRE : MODELISATION BIOCHIMIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE	93
5.1 Conditions requises pour les marqueurs candidats de la masse intestinale fonctionnelle, i.e. entérocytaire	93
5.2 Facteurs de variation de la masse intestinale muqueuse fonctionnelle	94
5.2.1 Facteurs physiologiques	94
5.2.2 Facteurs pathologiques	95
5.3 Marqueurs de la masse entérocytaire proposés dans la littérature	96
5.3.1 Diamine oxydase post héparine (DAO-PH)	96
5.3.2 Apolipoprotéines	97
5.3.3 Béta-carotène	99
5.3.4 Autres	99
5.4 Biochimie et métabolisme de la citrulline	100
5.4.1 Les 3 cycles indépendants de synthèse de la citrulline	101
5.4.1.1 Cycle intrahépatique	101
5.4.1.2 Cycle cellulaire	102
5.4.1.3 Cycle interorgane,	103

	7
5.4.2 Rôle de la citrulline	109
5.4.3 Dyscitrullinémies	111
5.4.3.1 Variations physiologiques	111
5.4.3.2 Hypercitrullinémies	112
5.4.3.3 Hypocitrullinémies	112
5.5 Hypothèse : la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire in vivo chez l'homme	114
5.5.1 Rationnel	114
5.5.2 Méthodes	115
5.6 La citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire chez l'homme : le modèle du syndrome de grêle court	116
<u>Article 5</u> POST-ABSORPTIVE PLASMA CITRULLINE CONCENTRATION IS A MARKER OF ABSORPTIVE ENTEROCYTE MASS AND INTESTINAL FAILURE IN HUMANS	116
5.6.1 Présentation de l'étude	116
5.6.2 Résultats et conclusions	117
5.7 La citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire chez l'homme : le modèle du syndrome d'atrophie villositaire	120
<u>Article 6</u> POST-ABSORPTIVE PLASMA CITRULLINE CONCENTRATION IS A MARKER OF ENTEROCYTE MASS IN VILLOUS ATROPHY	120
5.7.1 Présentation de l'étude	120
5.7.2 Résultats et conclusions	121
5.8 Citrullinémie et pseudo-obstruction intestinale chronique	123
5.9 Influence de la dénutrition par carence d'apport sur la citrullinémie : le modèle de l'anorexie mentale	124
6 APPLICATIONS DE LA MODELISATION BIOCHIMIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE CHRONIQUE	126
6.1 Evaluation de la citrullinémie au cours des thérapeutiques pharmacologiques et chirurgicales alternatives à la NPAD dans l'insuffisance intestinale chronique	126
6.1.1 Hormone de croissance	126
6.1.2 Anse jéjunale antipéristaltique	126
6.1.3 La citrullinémie est bien d'origine grêlique <i>in vivo</i> chez l'homme : le modèle de la transplantation intestinale	127
<u>Article 7</u> CIRCULATING CITRULLINE MAY ORIGINATES FROM SMALL BOWEL IN HUMANS : A CONVINCING HYPOTHESIS BASED UPON FOLLOW-UP OF A SMALL BOWEL-LIVER TRANSPLANTED ADULT PATIENT.	127
6.2 Sensibilité et spécificité de la citrullinémie pour le diagnostic d'altérations pariétales du grêle et de leur étendue : protocole multicentrique	130
6.2.1 Objectifs	130
6.2.2 Moyens	131
6.2.3 Résultats attendus	132
6.3 Conséquences fonctionnelles de l'hypocitrullinémie-hypoargininémie dans l'insuffisance intestinale chronique	132
6.3.1 Hyperammoniémie	132
6.3.2 Production de NO ^o , synthèse protéique, libération de GH	133
6.3.3 Etude par les isotopes stables du caractère conditionnellement essentiel de la citrulline et de l'arginine dans le syndrome de grêle court	134
6.3.3.1 Objectifs	134
6.3.3.2 Moyens	135
6.3.3.3 Résultats attendus	135

	8
6.4 Autres problématiques	136
6.4.1 Utilité de la citrullinémie dans le suivi des patients (adaptation intestinale)	136
6.4.2 Epreuve de charge orale en glutamine	136
6.4.3 Adaptation intestinale au niveau des activités enzymatiques et de l'expression des gènes des protéines enzymatiques intestinales	136
7 SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS	138
BIBLIOGRAPHIE	143

Abréviations

AA : acide(s) aminé(s)
ASL : arginosuccinate lyase
ASS : arginosuccinate synthase
CMM : complexe moteur migrant
CPS : carbamoyl phosphate synthase
CUD : coefficient d'utilisation digestive
CV : coefficient de variation
DAO : diamine oxydase
DER : dépense énergétique de repos
EGF : epidermal growth factor
Ep : enrichissement plasmatique
FABP : fatty acid binding protein
GCMS : chromatographie gazeuse couplée au spectromètre de masse
GLP-2 : glucagon-like peptide-2
GH : hormone de croissance
IMC : indice de masse corporelle
IRMS : spectrométrie de masse de rapport isotopique
KIC : α -céto-iso-caproate
NO° : monoxyde d'azote
NP : nutrition parentérale
NPAD : nutrition parentérale à domicile
OAT : ornithine aminotransférase
ODC : ornithine décarboxylase
OTC : ornithine transcarbamylase
P5C : pyrroline-5-carboxylate
P5CS : pyrroline-5-carboxylate synthase
POIC : pseudo-obstruction intestinale chronique
SAV : syndrome d'atrophie villositaire
SGC : syndrome de grêle court
SMA : syndrome de malabsorption

Figures

Figure 1 : Insuffisance orale et intestinale, définition et conséquence

Figure 2 : Principales causes d'insuffisance intestinale chronique indiquant une NPAD

Figure 3 : Types histopathologiques de la muqueuse intestinale

Figure 4 : Dynamique du métabolisme protéique

Figure 5 : Aminoacidoگرامme plasmatique séparé par chromatographie liquide

Figure 6 : Principe de l'extraction splanchnique

Figure 7 : Formule développée de la citrulline

Figure 8 : Métabolisme interorgane de la glutamine, la citrulline, l'ornithine et l'arginine

Figure 9 : Relation entre la perfusion entérale de glutamine et la citrullinémie chez le sujet sain

Figure 10 : Concentration plasmatique de citrulline chez les sujets contrôles (n=51), dénutris par anorexie mentale (n=57), porteur d'un syndrome de grêle court (n=57) ou d'un syndrome d'atrophie villositaire (n=52)

Tableaux

Tableau 1 : Volume et constituants osmotiques à différents niveaux de l'intestin

Tableau 2 : Bilan digestif net de patients avec SGC

Tableau 3 : Causes des insuffisances intestinales chroniques en dehors du SGC

Tableau 4 : Justification de l'utilisation des isotopes stables dans les études métaboliques chez l'homme

Tableau 5 : Principaux rôles de la glutamine dans l'intestin

Tableau 6 : Activités (par mg de protéine) de la P5CS, la CPS et l'OTC dans divers tissus chez le rat

Tableau 7 : Principales causes de dyscitrullinémies

Tableau 8 : Citrullinémie, insuffisances orale et intestinales

Listes des travaux personnels réunis dans la thèse

Article 1:

Long-term survival and parenteral nutrition dependence in adult patients with the short bowel syndrome. Messing B, Crenn P, Beau P et al. *Gastroenterology* 1999; 117: 1043-50

Article 2:

Duodenal versus gastric administration of labeled leucine for the study of splanchnic metabolism in humans. Crenn P, Thuillier F, Rakatoambinina B et al. *J Appl Physiol* 2000; 89: 573-80

Article 3:

Surgical versus radiological measurement of remnant small bowel length in short bowel patients. Crenn P, Boudiaf M, Vahedi K et al. *En préparation*

Article 4:

Hyperphagia and intestinal absorptive adaptation in adult short bowel patients. Crenn P, Morin MC, Thuillier F et al. *En préparation*

Article 5:

Post-absorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. Crenn P, Coudray-Lucas C, Thuillier F et al. *Gastroenterology* 2000, *in press*

Article 6:

Post-absorptive plasma citrulline concentration is a marker of enterocyte mass in villous atrophy. Crenn P, Vahedi K, Lavergne-Strove A et al. *En préparation*

Article 7:

Circulating citrulline may originate from small bowel in humans: a convincing hypothesis based upon follow-up of a small bowel-liver transplanted adult patient. Crenn P, Vahedi K, Gomez-Joly F et al. *Soumis*

Autres travaux non publiés:

Voir notamment les parties 5.7, 5.8, 6.1.1, 6.1.2 et 6.3.1 de la thèse.

1 PRE-REQUIS ET PRESENTATION DE NOTRE THEMATIQUE DE RECHERCHE

Après transformation chimique des aliments en nutriments l'intestin grêle est l'organe qui assure, en sus de sa fonction barrière non spécifique et spécifique, la digestion luminale finale (bordure en brosse des entérocytes) des macronutriments et l'absorption (transport transépithélial vectoriel muqueux-séreux à travers une énorme surface d'échange) sélective des macro et micronutriments et d'une partie des flux d'eau et d'électrolytes : il autorise leur passage de la lumière intestinale vers le milieu intérieur. L'entérocyte, cellule épithéliale polarisée, riche en mitochondries et exprimant de nombreuses enzymes (hydrolases : disaccharidases et peptidases) et transporteurs à son pôle apical et divers transporteurs et pompes à son pôle basolatéral, est la cellule élémentaire absorbante de l'unité fonctionnelle de la digestion-absorption, la villosité. Les entérocytes représentent environ 85% des cellules épithéliales intestinales. D'autres cellules (d'au moins 4 types) lui sont associées au sein de l'épithélium de l'axe crypto-villositaire. L'épithélium intestinal est en constant et rapide renouvellement, incluant prolifération et différenciation cellulaire et maturation cellulaire et biochimique. Cette dynamique est différentielle en fonction des types cellulaires et des divers constituants cellulaires et subcellulaires ¹. Il en découle que l'intégration de la dimension du temps, en plus des dimensions spatiales (axes vertical crypto-villositaire et longitudinal ou cranio-caudal jéjuno-iléal), est indispensable à la compréhension des phénomènes intestinaux ².

Les maladies du grêle peuvent entraîner un déficit d'absorption, dénommé sous le terme générique de ***syndrome de malabsorption*** (SMA), qui s'exprime selon la sévérité de l'atteinte du grêle et les possibilités de compensation du côlon et des apports alimentaires. Le SMA est le plus souvent d'origine entérocytaire «primitive» (résection intestinale, atrophie muqueuse), mais parfois il est causé par une anomalie pré-entérocytaire (maldigestion d'origine pancréatique, modifications intraluminales liées à une pullulation microbienne du grêle...) ou post-entérocytaire (anomalies vasculaires sanguines ou lymphatiques...). Dans ces 2 derniers cas il peut y avoir un dysfonctionnement entérocytaire «secondaire». Un SMA, non traité, a des répercussions hydro-électrolytiques et nutritionnelles parfois graves, pouvant conduire à la mort par dénutrition puis cachexie du fait des complications associées, notamment infectieuses. Les SMA les plus sévères entraînent ce qui est maintenant appelé «insuffisance intestinale», la défaillance viscérale intestinale pouvant être conceptuellement

rapprochée des défaillances d'autres organes vitaux (insuffisance rénale, hépatique ou cardiaque). Les syndromes d'obstruction chronique «bénigne» du grêle peuvent également entraîner une insuffisance intestinale qualifiée de «fonctionnelle». La nutrition parentérale (NP), mis au point à la fin des années 1960 et assimilable à un «intestin artificiel», a révolutionné la prise en charge de ces malades ^{3,4} à l'instar de la dialyse pour l'insuffisant rénal. Ceci est particulièrement le cas quand la NP peut être réalisée au long cours à domicile (NPAD : Nutrition Parentérale à Domicile) ^{5,6}, ce qui est le cas pour la majorité des patients depuis la fin des années 70. Si l'on en juge par les données épidémiologiques de la NPAD, l'insuffisance intestinale chronique sévère est un syndrome rare : incidence annuelle de 3.7 nouveaux malades par million d'habitants chez l'adulte en France ⁷, chiffre à multiplier par 2 si on y intègre les enfants. Aux Etats-Unis la prévalence des patients soumis à la NPAD est nettement plus élevée qu'en Europe ⁸, plus en raison de stratégies thérapeutiques visant à réduire les coûts hospitaliers –notamment pour les néoplasies- qu'à une fréquence plus élevée de patients insuffisants intestinaux proprement dits. Il a ainsi été bien souligné qu'en fonction des pays et de données hospitalières ou de population, l'épidémiologie descriptive de l'insuffisance intestinale est très différente ⁹.

Nous montrerons que la NPAD, suppléant à la fonction absorbative déficiente grâce à la perfusion veineuse centrale des nutriments et s'associant aux modifications métaboliques et comportementales qui sont désignées sous le terme générique d'«adaptation intestinale», ou adaptation fonctionnelle du tube digestif, a permis d'assurer une survie prolongée aux malades souffrant d'insuffisance intestinale «bénigne mais chronique». Ceci nous a permis de démontrer, en nous basant sur les fonctions métaboliques du grêle dans le domaine des échanges interorganes des acides aminés (AA), qu'un composant biologique sanguin pouvait être avec fiabilité utilisé comme marqueur de la **masse intestinale muqueuse fonctionnelle** ou **absorptive**, et donc plus précisément de la **masse entérocytaire** et des performances globales d'absorption digestive chez l'homme : la concentration plasmatique de citrulline. En préambule n'oublions pas que l'assimilation de la masse entérocytaire à la masse intestinale, même fonctionnelle, est un raccourci intellectuel car, par exemple, le tissu immunitaire intestinal constituerait déjà environ à lui seul 25% de la masse intestinale muqueuse.

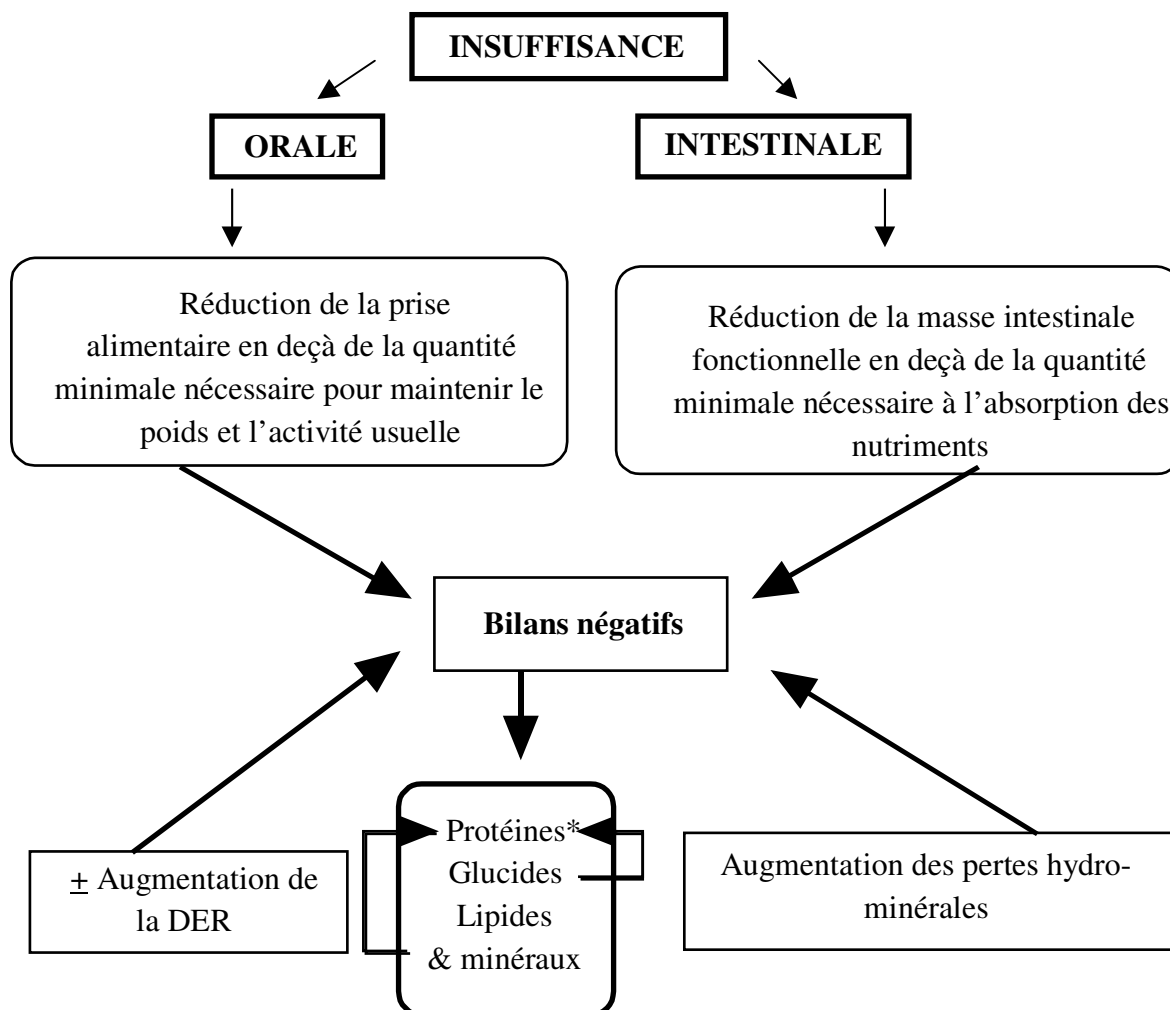
Ainsi nous allons développer la thèse qu'une modélisation, clinique et biochimique, de l'insuffisance intestinale chronique, est aujourd'hui réalisable. Nous aborderons très peu ici l'insuffisance intestinale aiguë (notamment post-opératoire), beaucoup plus commune mais qui se situe dans une autre problématique.

1.1 Le concept d'insuffisance intestinale chronique

Le concept d'insuffisance intestinale est d'individualisation relativement récente ¹⁰. L'insuffisance intestinale sévère et chronique imposant une NPAD a deux causes principales : les dysfonctions motrices intestinales et, surtout, les SMA sévères (**Figure 1**, ou Insuffisance intestinale et insuffisance orale et **Figure 2**, ou Insuffisance intestinale malabsorptive et obstructive) ¹¹. Les deux causes peuvent coexister lorsqu'il existe une ou plusieurs fistules de l'intestin grêle, lesquelles représentent 10 à 20% des indications de la NPAD ⁸. L'insuffisance intestinale s'oppose à l'insuffisance orale (carences d'apport et anorexies de diverse nature), mais à terme les conséquences en sont identiques : bilans négatifs et dénutrition. En pratique il n'est pas rare, notamment au début d'évolution, que réduction des apports et malabsorption se combinent. Le traitement de référence de l'insuffisance intestinale chronique sévère est la NPAD, le plus souvent sur un rythme cyclique nocturne de 2 à 7 perfusions par semaine ⁵. En France la NPAD est actuellement organisée (depuis 1984) dans le cadre de centres agréés régionaux.

L'occlusion intestinale chronique (insuffisance intestinale obstructive) peut ou non s'accompagner de sténose(s), *i.e.* d'un obstacle(s) anatomique(s) sur le grêle : dans le premier cas, il s'agit principalement de tumeurs (malignes –en particulier carcinose péritonéale- ou bénignes), de maladie de Crohn ou d'entérite radique, le traitement en est chirurgical ; dans le second cas, il s'agit d'une pseudo-obstruction intestinale chronique (POIC), dont les causes sont nombreuses. La malabsorption sévère responsable d'une insuffisance intestinale est en fait surtout consécutive à la résection étendue, parfois totale, de l'intestin grêle. Ainsi dans la suite, le **syndrome de grêle court** (SGC) post résection intestinale étendue, qui est la cause principale d'insuffisance intestinale chronique «anatomique» (45 à 65% des indications de la NPAD et environ 80% des indications de la NP de longue durée supérieure à 2 ans), sera pris pour description et sera particulièrement développé. Nous terminerons ce chapitre 1.1 par les particularités des autres grandes causes d'insuffisance intestinale chronique.

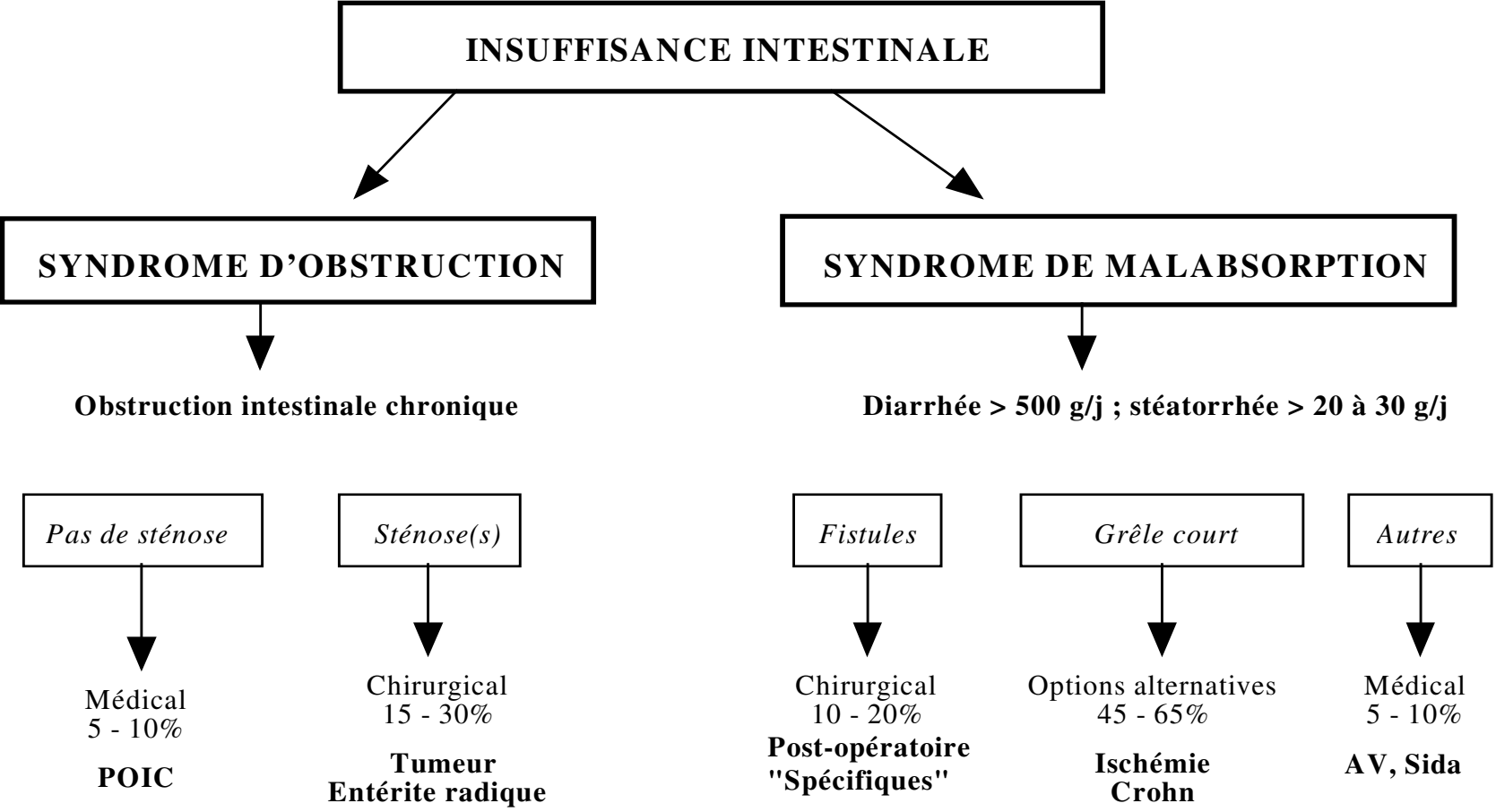
FIGURE 1. INSUFFISANCES ORALE ET INTESTINALE, DEFINITION ET CONSEQUENCES (adapté de Messing B, Crenn P, Vahedi K in Traité de Gastroentérologie, JC Rambaud ed., Flammarion-Médecine Sciences, Paris 2000)



* Un bilan énergétique (glucides ou lipides) négatif s'accompagne, dans la plupart des cas, d'un bilan protéique négatif et un déficit significatif en électrolytes ou minéraux altère également la synthèse protéique.

DER = dépense énergétique de repos. Dans la carence d'apport pure, de type anorexie mentale restrictive, la DER est abaissée ; dans les insuffisances orales d'origine «organique» elle peut être (par kg de masse maigre) élevée.

FIGURE 2. PRINCIPALES CAUSES D'INSUFFISANCE INTESTINALE CHRONIQUE INDIQUANT UNE NUTRITION PARENTERALE A DOMICILE (% DES INDICATIONS) (adapté de Messing B, in Traité de Nutrition Artificielle de l'Adulte, X Lerverve, J Cosnes, P Erny, M Hasselman eds., Mariette-Guéna, Paris 1998)



POIC : pseudo-obstruction intestinale chronique

AV : atrophie villositaire

NB : Grêle court (75 à 85% des patients), syndrome de malabsorption «médical» sévère et POIC constituent les 3 cadres d'insuffisance intestinale chronique pouvant nécessiter la Nutrition Parentérale dite de longue durée (supérieure à 2 ans)

1.1.1 Définition clinique et fonctionnelle de l'insuffisance intestinale chronique

L'insuffisance intestinale peut être définie *cliniquement* par un bilan digestif énergétique et/ou hydro-électrolytique négatif nécessitant, pour obtenir l'équilibre ou rendre positif le bilan, des apports intraveineux, en particulier une NP^{11,12}. Dans nos travaux nous proposerons de définir l'insuffisance intestinale transitoire et permanente en fonction du caractère effectif ou non du sevrage avec succès de la NP.

L'insuffisance intestinale peut être *physiologiquement* ou *fonctionnellement* définie par «la réduction de la masse fonctionnelle intestinale au-dessous du niveau nécessaire à l'absorption des nutriments permettant le maintien de l'état nutritionnel»¹⁰ : c'est l'insuffisance intestinale d'origine «anatomique». On peut en rapprocher les malades en équilibre protéino-énergétique, mais nécessitant un apport hydro-électrolytique intraveineux chronique. La conformité à cette définition nécessite la réalisation de bilans d'absorption pendant une durée suffisante, avec connaissance des apports (enquête diététique ou si possible analyse biochimique des ingesta par la méthode des plateaux dupliqués) et recueil des excréta, mais il s'agit une méthode longue et difficile¹³. L'insuffisance alimentaire (ou insuffisance orale) peut, de même, être définie par la réduction des ingesta en dessous du minimum nécessaire à maintenir l'équilibre protéino-énergétique (**Figure 1**) ; elle tient compte de l'activité habituelle de l'individu considéré. Dans les deux cas, il apparaît une malnutrition protéino-énergétique qui s'accompagne, en cas d'insuffisance intestinale, d'une malabsorption et d'une augmentation des pertes hydro-électrolytiques et en oligo-éléments métalliques. Réduction des ingesta et malabsorption peuvent se combiner pour créer un déficit de l'absorption nette incompatible avec le maintien de l'état nutritionnel. Finalement il existe une insuffisance intestinale quand est présent une réduction nette de la masse entérocytaire absorbative et/ou une impossibilité à l'utiliser du fait d'une dysfonction intestinale d'origine obstructive, neuromusculaire voire muqueuse (insuffisance intestinale d'origine «fonctionnelle»).

Nous verrons au cours de cette thèse qu'une définition *biochimique* de l'insuffisance intestinale malabsorptive, inexistante dans la littérature avant nos travaux, peut maintenant être rajoutée à la définition clinique et fonctionnelle.

1.1.2 Insuffisance intestinale post-chirurgicale : le syndrome de grêle court

1.1.2.1 Définitions

Le terme de *résection intestinale étendue* est habituellement réservé aux résections de plus de 50% de la longueur de l'intestin grêle : elles doivent être pratiquées chez 14% des sujets

subissant une résection de l'intestin grêle ¹⁴. Le *grêle court* est défini en fonction de la longueur post-duodénale restante, habituellement en dessous de 150 à 200 cm, ce qui correspond à environ 50% de la longueur minimale de grêle *in vivo* chez l'homme ¹⁵. En effet la longueur de l'intestin grêle est comprise chez l'adulte entre 2.5 et 9 m, selon que les mesures sont effectuées sur le transit baryté du grêle, en peropératoire ou lors d'une autopsie. *In vivo* la longueur de grêle se situe le plus souvent entre 3 et 4 m ¹⁶. Compte tenu de cette longueur variable d'intestin grêle, le grêle court est mieux défini par la mesure de l'intestin restant que par l'étendue de la résection ¹⁷. Néanmoins un problème difficile est de mesurer précisément la longueur de l'intestin restant. Le transit baryté permet une mesure précise, centimétrique, mais indirecte, par exemple en utilisant sur le bord anti-mésentérique du grêle radiologique, un opisomètre, appareil destiné à la mesure des distances sur les cartes ¹⁸. Les résultats de l'opisométrie sont corrélés avec les mesures peropératoires de l'intestin grêle restant ¹⁸. Nous montrerons, à l'aide d'une méthode statistique adaptée, que cette mesure, comparativement à la mesure peropératoire, fournit un bon indice anatomique de l'intestin (et donc de la «masse intestinale») restant ; elle a constitué un des préalables à nos travaux de modélisation biochimique. Pour déterminer la longueur colique, on divise arbitrairement le côlon en 7 parties supposées de longueur égale : chaque partie représente alors 14% de sa longueur totale. La longueur du côlon restant peut alors être exprimée en % du total ¹⁹.

Le *syndrome de grêle court* traduit les conséquences fonctionnelles cliniques et biologiques de l'amputation digestive et se caractérise par une diarrhée avec, par définition, un SMA d'origine multifactorielle et de sévérité variable. Un SGC survient dans 80% des cas après résection intestinale étendue ¹⁴. Cette dernière est le plus souvent (80 à 90%) associée à une résection, d'importance variable, du côlon. Chez certains patients l'adaptation intestinale, d'origine multifactorielle, permet d'obtenir une vie quasi normale alors que chez d'autres la sévérité de la malabsorption chronique conduit à l'insuffisance intestinale permanente. La NPAD a révolutionné la prise en charge de ces malades. Le SGC représente environ 55% des indications à la NPAD si on exclut les maladies malignes ^{7,20,21} et plus de 75% des indications à la NP de longue durée, *i.e.* supérieure à 2 ans ^{22,23}. Chez l'adulte, l'incidence du SGC imposant une NPAD est estimée à 2 patients par million et par an ^{6,21}. Il est utile de caractériser le SGC d'une part, par la longueur de l'intestin restant, d'autre part par les trois principaux types d'anastomoses, c'est-à-dire entérostomie terminale (type 1), anastomose jéjuno-colique (type 2) ou anastomose jéjuno-iléo-colique (type 3) ²⁴⁻²⁶. Ces trois types anatomiques principaux de grêle court ont l'avantage de préciser non seulement le site d'intestin grêle restant (jéjunum *versus* iléon) mais également si tout ou partie du côlon a été

conservé (type 2 ou 3). Dans les types 2 et 3 l'absorption de l'eau, des minéraux ainsi que des macronutriments (balance énergétique) est significativement meilleure que dans le type 1^{19,26,27}.

1.1.2.2 Étiologie

Chez l'enfant, l'entérite nécrosante et les anomalies intestinales et mésentériques congénitales (atrésie du grêle, laparoschisis...) sont les causes principales de résection intestinale étendue²⁸. Chez l'adulte les causes les plus fréquentes de SGC sont la maladie de Crohn au Royaume-Uni¹² et l'ischémie mésentérique en France⁷. Les principales causes de résection totale ou étendue de l'intestin grêle, pratiquées pour des lésions extensives et irréversibles sont ainsi chez l'adulte : a) la maladie de Crohn et l'entérite radique chronique (50% des cas), b) l'infarctus mésentérique (30% des cas) secondaire à un traumatisme, à un volvulus (mésentère commun...) ou plus souvent chez l'adulte, à une ischémie mésentérique supérieure artérielle aiguë d'origine embolique ou thrombotique ou, plus rarement, veineuse voire à une vascularite nécrosante, et c) les cancers (20% des cas)^{6,7}.

1.1.2.3 Conséquences digestives

Quelques aspects de la physiologie intestinale (**Tableau 1**) seront ici revus de façon à comprendre les principaux effets d'une résection intestinale étendue.

1.1.2.3.1 Fonctions gastriques

Après les premières 30 à 60 minutes qui suivent l'ingestion d'un repas, les débits de vidange gastrique physiologique se situent à un maximum de 6 ml/min pour les liquides électrolytiques acaloriques et à 3 kcal/min pour les liquides ou semi-liquides caloriques²⁹. Les liquides acaloriques quittent plus rapidement le réservoir gastrique (décroissance monoexponentielle : la fraction du volume qui s'écoule reste constante en fonction du temps) que les solides digestibles (cinétique proche de la linéarité : le même volume est évacué par unité de temps). L'osmolarité des liquides influence la vitesse de leur vidange gastrique, alors que cette dernière dépend essentiellement de la taille des particules pour les solides. On a pu montrer que la vidange gastrique se ralentissait lorsque le chyme pénètre dans le duodénum et surtout dans l'iléon (phénomène appelé «ileal brake» ou frein iléal). La conservation d'une partie du colon ralentit également la vidange gastrique après résection intestinale étendue pour ce qui concerne la vidange gastrique précoce des liquides³⁰. La vidange gastrique est ainsi plus rapide après jéjunostomie terminale qu'après anastomose jéjuno-colique ou jéjuno-iléo-colique. Les médiateurs impliqués dans le ralentissement de la vidange gastrique seraient notamment le peptide YY, sécrété par l'iléon et la partie proximale du côlon en réponse aux

lipides et aux sels biliaires ³¹, et les peptides dérivés de l'entéroglucagon. Au décours d'une résection intestinale étendue on observe une hypergastrinémie qui s'accompagne, surtout en phase postopératoire, d'une hypersécrétion gastrique provoquant initialement des débits élevés, avec augmentation des pertes hydro-électrolytiques et, secondairement, qui favorise la survenue d'ulcères gastro-duodénaux ^{11,12}.

Tableau 1. Volume et constituants osmotiques à différents niveaux de l'intestin (adapté de Messing B, in *Traité de Nutrition Artificielle de l'Adulte*, X Leverage, J Cosnes, P Erny, M Hasselman eds, Mariette-Guéna, Paris 1998)

	Jéjunum proximal	Grêle moyen	Iléon distal
Volume : l/j	4.0 – 6.0	1.5 – 3.0	0.5 – 1.0
Na ⁺	80 – 100	100 – 120	100 – 120
Cl ⁻	80 – 100	70 – 90	70 – 100
K ⁺	5 – 10	5 – 10	5 – 10
HCO ₃ ⁻	10 – 20	20 – 40	20 – 40

Les concentrations ioniques sont indiquées en mOsm/l.

1.1.2.3.2 Fonctions intestinales

L'absorption optimale des nutriments requiert un temps de contact suffisant entre ceux-ci et les villosités intestinales. Il est ainsi intéressant de constater que, chez l'homme, la propulsion est 3 fois plus lente au niveau iléal qu'au niveau jéjunal ³² même après résection de la valvule iléo-cæcale ³³. La perfusion de lipides dans le duodénum chez le chien ³⁴ et dans l'iléon chez l'homme ³⁵ freine le transit intestinal d'amont. Le temps de transit du grêle (tête de la colonne) est plus rapide pour les liquides chez des patients avec grêle court avec et sans côlon, ainsi que pour les solides chez les patients sans côlon, par rapport à des contrôles sains ³⁰. Chez des patients ayant une jéjunostomie terminale, il a été constaté que l'absorption jéjunale des protéines solides (caséine) est ainsi meilleure que celle des protéines liquides (lactoglobulines), ce qui concorde bien avec le fait que la vidange gastrique est plus lente pour les protéines solides que pour les protéines liquides ³⁶.

On estime qu'au moins 50% de l'eau extracellulaire corporelle est sécrétée et réabsorbée chaque jour au niveau de l'intestin (cycle entérosystémique de l'eau), le volume des sécrétions intestinales étant difficile à mesurer. L'absorption nette des liquides est quasi

complète à la partie terminale de l'iléon, puisque seuls environ 1000 ml entrent dans le côlon chaque jour. Les liquides sont absorbés soit à la partie proximale du grêle, soit de façon plus distale, en fonction de l'osmolarité des repas³⁷. Les mouvements passifs d'eau sont couplés au transport actif des ions (sodium et anions associés essentiellement) et des nutriments (glucose, AA et oligo-peptides). Le transport d'eau et de sodium du plasma vers la lumière intestinale peut être augmenté, soit par les petites molécules à fort pouvoir osmotique (comme le lactose)³⁸ soit, pour le sodium, par la présence de liquide hypotonique (eau plate)³⁹, car le milieu intraluminal tend à être isotonique au plasma. Ce transport prédomine dans le jéjunum, où les jonctions intercellulaires serrées sont plus perméables que dans l'iléon. La présence d'eau au niveau intraluminal est ainsi la conséquence de deux mouvements opposés que sont, d'une part le transport «secondairement actif» de glucose couplé au sodium (par la protéine SGLT1 de la bordure en brosse) et d'AA couplés au sodium et, d'autre part, le mouvement de diffusion hydro-électrolytique dans le sens plasma-lumière. L'efficacité de l'absorption d'eau est estimée à respectivement 44% et 70% dans le jéjunum et l'iléon, et à 13% et 72% pour le sodium^{11,37}. En cas de résection iléale, la capacité d'absorption du chlorure de sodium est diminuée, particulièrement si le milieu intraluminal est hypotonique⁴⁰. Ainsi, l'iléon joue-t-il un rôle majeur dans l'absorption de l'eau et des électrolytes, et son absence ne peut être que partiellement compensée par la conservation du côlon au cours du SGC.

1.1.2.3.3 Fonctions spécifiques de l'iléon

Les sels biliaires sont réabsorbés, en dehors de la réabsorption passive tout le long de l'intestin des acides biliaires non conjugués, au niveau de la partie distale de l'iléon (transport actif couplé au Na⁺)⁴¹. La concentration de sels biliaires ne peut atteindre sa concentration micellaire critique intraluminaire dans les heures qui suivent un repas comportant des lipides que si les sels biliaires sont absorbés activement avec recyclage entéro-hépatique. Ainsi, la malabsorption des acides gras à longue chaîne, responsable d'une stéatorrhée et d'une carence en vitamines liposolubles, est une conséquence inéluctable des résections iléales atteignant ou dépassant 100 cm⁴². La rupture du cycle entéro-hépatique laisse entrer dans le côlon une quantité plus importante que la normale de sels biliaires, du fait d'une augmentation de leur synthèse hépatique, ainsi que de lipides, malabsorbés par le grêle ; ces sels biliaires et ces lipides en excès réduisent la capacité de réabsorption colique d'eau et de sodium. De plus, la flore colique produit des sels biliaires déoxylés qui induisent une sécrétion hydro-électrolytique colique. En fait dans les résections iléales étendues (> 100 cm), contrairement aux résection iléales courtes (< 100 cm), la concentration de sels biliaires -dilués dans un flux liquidien augmenté- arrivant dans le côlon est faible. À l'inverse, la résection isolée de moins

de 70-80% du jéjunum, avec conservation de l'iléon, plus rare en pratique, n'entraîne ni malabsorption notamment lipidique, ni diarrhée.

La vitamine B₁₂ est surtout absorbée par transport facilité au niveau de l'iléon terminal. Toutefois le site de haute affinité vitamine B₁₂-facteur intrinsèque a été objectivé sur les 60% distaux de la muqueuse du grêle⁴³. Le récepteur intestinal du complexe facteur intrinsèque-vitamine B₁₂ (la cubiline) a été isolé, cloné et séquencé⁴⁴.

1.1.2.3.4 Adaptation intestinale

Après résection du grêle, le processus d'adaptation de la flore bactérienne intestinale sous alimentation orale se fait en quelques semaines⁴⁵. De fait, après rétablissement de la continuité colique, on constate que la diminution du débit fécal survient dans les premières semaines qui suit la reprise de l'alimentation orale ou entérale⁴⁶. Cela n'empêche pas qu'une adaptation intestinale plus tardive, se traduisant par une amélioration de l'absorption par unité de longueur, reste possible⁴⁷. Le fait que l'adaptation intestinale proprement entérique soit difficile à démontrer chez l'homme ne prouve pas son absence. Le processus d'«hyperadaptation», qui dépend de la présence des aliments dans la lumière digestive, ne doit pas être masqué par un processus opposé, «hypoadaptatif», secondaire soit à une malnutrition systémique, soit à la privation de la nutrition intraluminaire⁴⁸⁻⁵². Il a été montré qu'une hyperphagie compensatrice de la malabsorption^{53,54} se développe au cours de l'évolution à moyen et long terme chez le patient adulte ayant un SGC. L'administration d'hormones et de facteurs trophiques intestinaux pourrait améliorer cette réponse «hyperadaptative» du grêle⁵⁵⁻⁵⁷.

1.1.2.3.5 Fonction adaptative du côlon

Le côlon absorbe très efficacement, jusqu'à 95% d'une perfusion constante cœcale étalée dans le temps de 6000 ml/24 h, l'eau et le sodium⁵⁸. Cette capacité d'absorption est probablement réduite si des aliments malabsorbés pénètrent dans le côlon après résection iléale. Toutefois, les glucides -mais également une partie des protides- malabsorbés dans l'intestin grêle peuvent être métabolisés par la flore colique, leur «hyperfermentation» liée à l'augmentation de la masse bactérienne aboutissant à la formation d'acides gras à chaîne courte. Ceux-ci sont alors absorbés au niveau colique, avec de l'eau, du sodium et du potassium⁵⁹. Après constitution du SGC, il y a adaptation de la flore bactérienne colique avec augmentation de la production et de l'absorption des acides gras à chaîne courte⁴⁵. Au total, cela permet une épargne de l'énergie provenant des glucides, même en cas de résection colique partielle^{27,45,54,60,61}. Le côlon est ainsi non seulement très utile pour la réabsorption d'eau et d'électrolytes, mais aussi pour la récupération énergétique des substrats énergétiques

malabsorbés, glucidiques et probablement protéiques mais pas lipidiques ²⁷, chez les patients avec SGC.

1.1.2.4 Conséquences nutritionnelles : l'insuffisance intestinale chronique

La résection intestinale étendue réduit l'absorption des nutriments et s'accompagne d'une diarrhée liquidienne traduisant l'augmentation des pertes digestives d'eau, d'électrolytes et de micronutriments. La sévérité du SMA dépend de l'étendue de la résection, du site de la résection, de la conservation ou non du côlon ainsi que de l'intégrité (caractère sain ou pathologique) de l'intestin restant. Les facteurs spécifiques de l'intensité du SMA après constitution du grêle court sont l'accélération de la vidange gastrique, en particulier pour les liquides, la réduction du temps de transit intestinal (composante motrice), l'hypersécrétion gastrique acide, la perte des fonctions spécifiques d'absorption iléale (vitamine B₁₂ et sels biliaires) et la conservation ou non du côlon. Les facteurs non spécifiques sont les déficits en minéraux et micronutriments tels que potassium, magnésium, calcium, vitamine B₁₂ et zinc qui sont susceptibles de limiter l'absorption optimale du grêle. Par ailleurs l'antibiothérapie, en modifiant la flore, peut altérer la récupération colique des nutriments. Quand la longueur de grêle restant est inférieure ou égale à 150-200 cm, le risque de perte de poids, de déshydratation et de dénutrition sévère devient important.

La quantification des pertes et des entrées permet d'établir les **bilans digestifs**. De nombreuses études de bilan, hydro-électrolytique et protéino-énergétique, ont été publiées chez les patients souffrant de SGC ^{13,19,51,62-65}. L'absence d'autonomie orale, c'est-à-dire la dépendance à la NP, correspondant à l'insuffisance intestinale, doit être comprise comme un bilan hydro-électrolytique négatif lequel peut ou non s'associer à un bilan énergétique négatif ^{13,63}. En cas de grêle restant inférieur à 200 cm, on observe un bilan hydro-électrolytique négatif chez respectivement 13% et 33% des patients avec (n=31) ou sans (n=40) côlon restant ²⁶. Le bilan hydro-électrolytique se négative en général rapidement (quelques heures à quelques jours) et nécessite un traitement urgent. Le bilan énergétique négatif, s'il survient, est généralement plus tardif (quelques semaines à quelques mois) et de diagnostic plus difficile : il faut le rechercher (mesures du poids, des plis cutanés, de la composition corporelle par impédancemétrie notamment) lors de la mise en route ou des changements du mode de support nutritionnel. Il a été proposé de définir l'insuffisance intestinale chronique soit en mesurant les pertes énergétiques fécales sous une alimentation standardisée ⁶⁶, soit en combinant le pourcentage d'absorption énergétique nette rapportée à la dépense énergétique de repos (DER) théorique calculée (bilan énergétique) et la différence pondérale des ingesta et du poids de selles (bilan hydro-électrolytique). Dans ce dernier travail les valeurs seuils

discriminantes entre patients dépendant ou non de la NP étaient respectivement de 84% de la DER et 1.4 kg/j¹³.

1.1.2.4.1 Bilan hydro-électrolytique

Les pertes hydro-électrolytiques digestives (stomie, diarrhée) doivent être quantifiées au cours du SGC. Les pertes hydriques varient de la normale (< 300 ml/j) à 12 000 ml/j avec 600 mmol/j de pertes sodées (duodénostomie). On peut estimer les pertes électrolytiques digestives au cours d'une entérostomie en considérant que les concentrations ioniques de l'effluent sont proches de celle du plasma^{37,38,40}. En cas de colostomie ou au niveau des selles, le pourcentage de côlon réséqué ou hors circuit est positivement corrélé à la concentration de chlorure de sodium et négativement corrélé à la concentration de potassium¹⁹. Si le côlon est conservé, les pertes fécales de potassium s'accompagnent de pertes de bicarbonate et d'une tendance à l'acidose métabolique qui n'est pas toujours compensée par une hyperproduction et une hyperabsorption d'acétate (cet acide gras à chaîne courte, lorsqu'il parvient au plasma, génère une quantité équimolaire de bicarbonate). Le risque de déplétion potassique est majoré chez les patients ayant une entérostomie terminale située à moins de 50 cm de l'angle de Treitz⁶³. La déplétion de potassium est alors secondaire à l'hyperaldostéronisme par déplétion hydrosodée, et s'accompagne d'une alcalose métabolique avec augmentation des pertes potassiques urinaires⁶². Le bilan net digestif hydrosodé est négatif lorsque la longueur de grêle restant est inférieure à 1 mètre et le plus souvent positif au-delà⁶³. Le déficit en magnésium est très fréquent en cas de SGC¹⁷. Il est susceptible d'entraîner en quelques semaines une déplétion du pool potassique intracellulaire de l'ordre de 25%, avec augmentation de l'eau extracellulaire et œdèmes⁶⁷, ainsi qu'une hypocalcémie réfractaire à la vitamine D mais répondant à l'administration de sels de magnésium combinée à celle des métabolites actifs (1- α) de la vitamine D⁶⁸.

1.1.2.4.2 Bilan énergétique (Tableau 2)

La détermination du bilan énergétique nécessite une bombe calorimétrique ; on l'exprime habituellement sous forme de bilan net (entrées - sorties) ou en % des ingesta [(entrées - sorties)/ sorties]^{13,54,63}. Dans le SGC, le bilan énergétique net peut être négatif, mais il est rarement normal (>90-95% des ingesta). Les pertes endogènes peuvent expliquer certains bilans énergétiques négatifs, ce qui reste rare⁶³. Dans le SGC, si le côlon est en place, l'absorption lipidique est inférieure à celle de l'azote qui elle-même est inférieure à celles des glucides⁵⁴.

Chez 15 patients ayant un SGC et une entérostomie terminale avec un jéjunum restant de 90 cm en moyenne et ingérant une alimentation qui représentait 1.8 fois leur DER,

l'absorption nette a été de 44 % des ingesta⁶³. Chez 10 patients avec grêle restant de 75 cm et côlon restant de 67 %, ingérant une alimentation hypercalorique hyperprotéique qui représentait 2.5 fois leur DER, l'absorption nette a été de 67 % des ingesta⁵⁴. Dans cette étude, l'absorption nette des glucides était significativement supérieure à celle des lipides et des protéines, ce qui a fait évoquer une récupération énergétique colique des glucides, donnée ultérieurement confirmée⁴⁵. En comparant l'absorption nette entre ces deux types de grêle court, on constate une différence de 50% dans le bilan énergétique exprimé par rapport à la DER, ce bilan étant de 0.8 et de 1.5 fois la DER selon qu'il existe une entérostomie terminale ou un côlon en circuit^{54,63} (**Tableau 2**).

Tableau 2. Bilan digestif net de patients avec syndrome de grêle court (adapté de Messing B, Crenn P, Vahedi K in Traité de Gastroentérologie, JC Rambaud ed, Flammarion-Médecine Sciences, Paris 2000)

	Entérostomie ^a terminale	Anastomose ^b jéjuno(iléo)colique
Ingesta : kcal/j	2500 (900 - 4800)	3100 (1700 – 4500)
Pertes fécales : kcal/j	1400 (550 - 2700)	970 (340 – 1600)
Coefficients d'utilisation digestive : en %	44 (-10 - 75)	67 (41 - 85)
Absorption nette : kcal/j	1100 (-200 - 2800)	2130 (750 – 3500)
Absorption nette : % de la DER ^c	0.80 (-0.2 – 2.0)	1.50 (0.55 – 3.3)

^aType 1 (n=15) et ^bType 2 et 3 (n=10) : données calculées respectivement à partir des références⁵⁴ et ⁶³ En a longueur de grêle restant de 90(25 - 140) cm de jéjunum et en b de 75(0 - 200) cm. En b, longueur de l'iléon restant de 15(10 - 30) cm dans 4 cas et absent dans les 6 autres cas, pourcentage de côlon restant : 67(0 - 100) %.

^c DER = dépense énergétique de repos.

1.1.2.5 Evolution

L'évolution post-chirurgicale du SGC est schématiquement scindée en trois périodes successives : a) période postopératoire d'une durée de 2 à 3 semaines ; b) période adaptative d'une durée de quelques mois à 2 ans environ, et c) période de stabilisation, dite des séquelles^{11,15}.

1.1.2.5.1 Période postopératoire

Après résection intestinale étendue, le débit de selles ou de stomie avec pertes digestives d'eau et d'électrolytes est majeur et en partie lié à une hypersécrétion gastrique acide. Compenser les pertes hydro-électrolytiques (sodium, potassium, magnésium et calcium) est ici primordial et requiert un monitoring précis, comportant la mesure du poids, le bilan des entrées et des sorties et le dosage des électrolytes sériques et urinaires. La réanimation hydro-électrolytique et le recours à la NP postopératoire réduisent la perte de masse maigre, évitent la perte de

poids sévère et améliorent la survie à long terme ²⁵. L'administration intraveineuse d'un anti-H2 ou d'un inhibiteur de la pompe à protons est recommandée car elle réduit hypersécrétion gastrique acide et le débit intestinal ^{63,69}.

1.1.2.5.2 Période adaptative : malades «sécréteurs» et «absorbeurs»

Après stabilisation du bilan hydro-électrolytique et reprise du transit, la priorité est l'optimisation de l'alimentation par voie entérale-orale, et le maintien ou la correction de l'état nutritionnel, tous deux permettant de promouvoir l'adaptation intestinale. L'autonomisation par la seule voie orale étant souvent longue et difficile à obtenir en cas de grêle restant inférieure à 1 m ^{24,25,51}, il peut être éventuellement proposer dans ces cas une gastrostomie d'alimentation placée en peropératoire. Cette recommandation repose sur les résultats obtenus dans une série de 62 patients où l'utilisation précoce de la nutrition entérale à débit constant, d'une durée moyenne de deux semaines, a fait apparaître une autonomie entérale-orale précoce, la NP ayant pu être arrêtée après une durée moyenne de 87 jours ⁵¹. D'après cette étude et d'autres travaux similaires, il n'y a pas d'avantage à utiliser des diètes élémentaires par rapport aux diètes polymériques ⁷⁰.

La méthode des bilans a permis d'élaborer une classification clinique utile des patients avec intestin court de type 1 (entérostomie), que l'on sépare en deux groupes, les «sécréteurs» dépendants de la NP, et les «absorbeurs» pouvant en être sevrés. Les sécréteurs sont les patients ayant des pertes intestinales dépassant les entrées orales, et qui nécessitent, du fait d'un bilan hydro-électrolytique net spontanément négatif, des perfusions liquidiennes intraveineuses. Ils tendent à avoir une longueur intestinale < à 100 cm, à absorber moins de 35% de leurs ingesta énergétiques, et à être en bilan hydrosodé négatif pouvant parfois dépasser 400 mmol/j de sodium. Leur homéostasie hydro-électrolytique repose donc sur une compensation intraveineuse ⁶³. Chez les absorbeurs, les ingesta oraux dépassent les pertes intestinales, avec donc un bilan d'absorption net positif ; ces patients peuvent perdre jusqu'à 200 mmol/j de sodium, mais ils compensent cette perte par une supplémentation orale avec une solution de glucose/électrolytes. Cette solution, très utile chez les patients ayant un débit de jéjunostomie de 1,5 à 2 l/j, entraîne généralement une diminution des pertes entérostomiales. On recommande habituellement une solution de glucose/électrolytes contenant 90 mmol/L de sodium (solution OMS). Elle peut être administrée par petites quantités réparties au cours de la journée, jusqu'à un volume de 2 litres. Des essais comparatifs avec de faibles effectifs n'ont pas montré d'avantage en faveur des solutions à base de polymères de glucose *versus* les solutions à base de glucose, et toutes les solutions polymériques ont l'inconvénient d'une saveur désagréable. Les solutions sans bicarbonate de

sodium et sans sels de potassium, mieux acceptées par les patients, ne diminuent pas l'absorption de sodium ³⁹. Il faut impérativement administrer du sodium si la natriurèse est inférieure à 5 mmol/l. Malgré l'utilisation de solutions de glucose/électrolytes et de médicaments pour réduire le débit intestinal (oméprazole, octréotide), il n'y a pas, à cette date, de traitements susceptibles de convertir les sécréteurs en absorbeurs à partir du moment où la fonction digestive s'est stabilisée ⁷¹. Quand les pertes dépassent 1,5 l/j, l'équilibre des patients est précaire et un stress intercurrent est susceptible de les rendre transitoirement dépendants de suppléments intraveineux hydrosodés ⁶³. L'octréotide peut être utilisé à titre temporaire dans le but de réduire (d'environ 30%) un haut débit d'entérostomie ⁷¹. Son utilisation à dose anti-sécrétoire (200 à 300 µg/j) au long cours n'est pas conseillée puisque d'une part il y a échappement thérapeutique ⁷², d'autre part l'octréotide exerce un effet anti-trophique intestinal ⁷³.

Quel que soit le type anatomique de grêle court, la nutrition entérale à débit constant normocalorique permet de prévoir l'autonomisation ultérieure en alimentation orale : un débit de selles > à 2000 ml/j fait porter le diagnostic d'«intestin dépassé» et l'indication à la NPAD ; un débit < à 2000 ml laisse en revanche espérer, à plus ou moins longue échéance, l'autonomisation orale ⁷⁴. En effet, plus grand est l'effluent fécal, plus probables seront les problèmes hydro-électrolytiques et nutritionnels et la dépendance à la NPAD ^{39,74}.

Il est préférable, après la constitution du grêle court, de corriger ou d'éviter la dénutrition par l'utilisation de la NP jusqu'à l'obtention d'une autonomie nutritionnelle complète, plutôt que de mettre en route cette NP après échec de l'autonomie orale alors invariablement compliquée de malnutrition. Ainsi dans notre expérience et celle d'autres auteurs ²⁵, il est préférable pour le patient de recourir à une NPAD complémentaire minimale jusqu'à ce que l'autonomisation par voie orale soit obtenue dans de bonnes conditions, c'est-à-dire avec un état nutritionnel au moins subnormal, tout en prévenant avec vigilance un éventuel déficit électrolytique ¹⁷. La réévaluation au 3^e, 6^e, 12^e et 24^e mois du bilan d'absorption, tandis que l'adaptation progresse, devrait idéalement être réalisée tant que l'autonomisation par voie orale n'est pas acquise. En fonction des résultats de ces bilans, on réduit progressivement les apports parentéraux. Mais ceux-ci doivent être repris à leur niveau antérieur si on ne peut empêcher par les traitements médicamenteux et l'utilisation des suppléments oraux la négativation du bilan hydrosodé et/ou protéino-énergétique ^{11,17,25}.

1.1.2.5.3 Période des séquelles

A ce moment la situation peut être considérée comme fixée et donc peu susceptible d'amélioration. Lorsque le recours à la NP de longue durée semble inéluctable et que

l'insuffisance intestinale est permanente et irréversible se discute l'indication de traitements alternatifs à la NPAD définitive.

1.1.2.5.4 Complications spécifique du SGC

L'ulcère gastro-duodéal (lié à une hypersécrétion gastrique acide avec hypergastrinémie), la lithiase biliaire (favorisée par la résection iléale et le repos digestif), la lithiase rénale (dont un des facteurs de risque est l'hyperoxalurie, elle-même reflet indirect de la stéatorrhée) et l'encéphalopathie D-lactique (par production de D-lactate par la flore bactérienne colique sans métabolisme systémique) sont des complications connues du SGC ²⁶. Les deux dernières complications ne sont observées que chez les patients ayant un côlon restant en continuité ²⁶. L'encéphalopathie D-lactique est liée au fait que le D-lactate joue le rôle d'un faux neurotransmetteur ; cette complication pourrait être plus fréquente chez les patients qui ingèrent une grande quantité de laitages (augmentation possible de la quantité de lactobacilles), en cas de déficit en vitamine B1 et parfois lors de l'utilisation d'antibiotiques qui, prescrits pour d'autres motifs, modifient la flore bactérienne colique ⁷⁵.

1.1.2.6 Traitement

1.1.2.6.1 Traitements toujours indiqués

Dietétique

Les repas fréquents et peu copieux sont à conseiller dans le SGC ¹². Les boissons hypotoniques (eau, thé, café) majorent le débit d'entérostomie et les pertes hydrosodées : elles sont mieux tolérées en petites quantités ou il faut les faire précéder de prise de sel. Le régime ne doit pas empêcher une alimentation hypercalorique et hyperprotéique qui, visant à compenser la malabsorption, est un objectif prioritaire ⁵⁴. Il semble que, dans les limites de l'hyperphagie observée (environ 3 à 3.5 fois la DER), il n'y ait pas de réduction du coefficient d'absorption (bilan net ou coefficient d'utilisation digestive des ingesta = CUD) des macronutriments : plus l'alimentation est hypercalorique, plus le bilan net digestif est positif ^{54,64,65,76}. Les laitages sont conseillés (apport de calcium et de calories sous forme solide) mais non le lait (accélération de la vidange gastrique des liquides avec intolérance au lactose) ^{36,77}. Si l'on tient compte du mode de régulation de la vidange gastrique au cours du SGC ³⁰, certains arguments seraient plus en faveur d'une alimentation «solide» par rapport à une alimentation «liquide». Néanmoins, il peut y avoir indication à poursuivre une nutrition entérale à la période adaptative du SGC, lorsque l'alimentation spontanée est manifestement insuffisante.

Chez les patients avec jéjunostomie à haut débit, des suppléments lipidiques peuvent constituer une bonne source d'énergie sans augmenter la charge osmotique, ce qui permet de

ne pas alourdir le vécu social par l'augmentation du débit de stomie ^{76,78}. Quand la continuité colique est présente, les lipides peuvent être moins bien tolérés car ils augmentent la diarrhée et la perte des cations divalents et facilitent l'absorption colique d'oxalates. Il faut donc adapter l'apport de lipides de façon à éviter une diarrhée par trop importante, et encourager l'apport de glucides complexes ^{27,54}. Ainsi, une alimentation riche en glucides complexes et relativement pauvre en lipides peut à la fois réduire le débit de selles et épargner des calories *via* l'absorption colique des acides gras à chaîne courte ^{27,45,54,55}.

Supplémentation en minéraux et en micronutriments

L'hypokaliémie est secondaire soit au déficit hydrosodé, soit au déficit magnésique. Les cations divalents endoluminaux sont fixés sur les acides gras malabsorbés et forment des savons non diffusibles. L'hypocalcémie est secondaire au déficit magnésique et/ou en vitamine D. Le traitement de cette hypocalcémie repose sur le traitement par les métabolites actifs de la vitamine D (1- α OH en particulier) et des suppléments en magnésium ^{11,79}. Il est possible de rencontrer des difficultés lors de la supplémentation en magnésium car les sels de magnésium ont un effet laxatif que l'on a observé à différentes doses. En pratique, le magnésium oral peut être donné sous forme de gluconate ou de pyroglutamate jusqu'à une dose de 20 mmol/j. En cas d'échec, il faut recourir à la voie parentérale.

Un débit fécal supérieur à 1000 ml/j nécessite des suppléments oraux de zinc (22 mg de zinc élément par jour) sous forme de gluconate ou pyroglutamate et non de sulfate car ce dernier, inabsorbable, est laxatif ¹¹. La malabsorption lipidique s'accompagne d'une malabsorption des vitamines liposolubles (A, D, E, K) dont la supplémentation doit être systématique, de même que celle de la vitamine B₁₂ (1000 μ g/3 mois) après résection iléale étendue ^{11,80}.

Traitement médicamenteux

Les médicaments prolongeant le temps de transit intestinal, tels le lopéramide ou la codéine, réduisent de façon variable les débits de stomies ou de diarrhée ^{11,12}. Si de fortes doses de lopéramide (12 gélules/j) s'avèrent inefficaces, on peut essayer la codéine (10 à 60 mg/j). Ces traitements sont contre-indiqués en cas de sténose digestive. Il faut administrer des suppléments calciques (2 à 3 g/j) en cas de grêle court avec côlon conservé, pour prévenir l'hyperoxalurie secondaire à la malabsorption lipidique et sa complication potentielle qu'est la lithiase rénale oxalique ²⁶. Les traitements par chélateurs des sels biliaires (cholestyramine) n'ont pas leur place en cas de SGC responsable d'une stéatorrhée notable (> à 20 g/j). L'équipe d'Hofman a proposé l'utilisation de la cholylsarcosine, un analogue d'acide biliaire conjugué résistant à la déconjugaison et à la dihydroxylation bactériennes, pour améliorer

l'absorption lipidique dans ce cas⁸¹. Il n'y a pas d'insuffisance pancréatique secondaire au grêle court.

1.1.2.6.2 Traitements parfois indiqués

Nutrition parentérale à domicile

Après une période de NP réalisée à l'hôpital, la NPAD est le traitement de référence de l'insuffisance intestinale permanente, mais également dans certains cas transitoire le temps du développement de l'adaptation intestinale, secondaire au SGC^{20,22,82}. Il s'agit d'une thérapeutique hautement spécialisée et onéreuse. Elle doit être non exclusive, *i.e.* complémentaire à l'alimentation orale. Nous n'en détaillerons pas ici les aspects théoriques ni les modalités pratiques et complications^{5,83}. Chez ces patients la survenue possible d'une hépatopathie cholestatique sévère, de mécanisme multifactoriel et de thérapeutique délicate, constitue un facteur important dont nous avons récemment modélisé les facteurs de risque et le devenir⁸⁴. L'amélioration de la qualité de vie est aujourd'hui l'un des objectifs majeurs de la prise en charge de ces patients.

Alternatives à la NP de longue durée pour insuffisance intestinale chronique permanente

En cas d'insuffisance intestinale chronique jugée permanente et irréversible, il est important de rechercher des options thérapeutiques alternatives à la NP de longue durée^{11,12}. Ce sont d'une part les facteurs trophiques tels que l'hormone de croissance, d'autre part la chirurgie reconstructrice du grêle telle que la duplication d'une anse intestinale chez l'enfant^{47,85} ou le montage d'un court segment jéjunal terminal en antipéristaltique chez l'adulte⁸⁵⁻⁸⁷, voire la transplantation intestinale^{82,88-90}.

Facteurs trophiques

En cas de SGC, la première option thérapeutique avec les facteurs de croissance intestinaux est l'administration pendant quelques semaines d'hormone de croissance recombinante humaine (rhGH), stimulant de la croissance tissulaire, du transport ionique et de la synthèse protéique et dont des récepteurs sont présent sur les entérocytes⁹¹ associée au long cours, d'une part, à une nutrition enrichie en glutamine par voies intraveineuse et orale, d'autre part, à un régime modifié enrichi en glucides fermentescibles par le côlon⁵⁵. Avec un tel schéma thérapeutique, Byrne et coll. ont obtenu dans une étude non contrôlée chez 47 adultes en NP de longue durée depuis 6 ans en moyenne, pour un grêle restant inférieur à 100 cm sans côlon et de 50 cm avec côlon, après un suivi d'un an, un sevrage de la NPAD dans 40% des cas et une réduction de la fréquence des perfusions nutritives là encore dans 40% des cas. Cette utilisation conjointe de substrats spécifiques de l'intestin et d'hormone de croissance paraît prometteuse, bien que la part respective des uns et des autres, pour obtenir le sevrage à la NP

de longue durée n'ait pas été établie. Cependant une étude contrôlée, réalisée chez 8 patients ayant une insuffisance intestinale permanente, aux mêmes doses que l'étude précédente (0.14 mg/kg.j) et avec les mêmes modifications diététiques, en périodes croisées de 3 semaines, n'a pas été significative bien que trois - ceux ayant une anastomose jéjuno-colique - des 8 malades étudiés aient présenté une amélioration notable de l'absorption intestinale ⁹². Une autre étude contrôlée en périodes croisées de 4 semaines, sur 8 malades à la dose de 0.12 mg/kg.j avec supplémentation orale et parentérale de glutamine, n'a pas non plus retrouvé de bénéfice sur l'absorption intestinale ⁹³. Nous avons également réalisé un essai thérapeutique contrôlé avec l'hormone de croissance à plus faible dose (0.05 mg/kg.j sans modifications diététiques ni ajout de glutamine) chez 12 patients porteurs de SGC. Nos résultats ont montré un effet favorable sur l'absorption intestinale (amélioration de 14% pour l'absorption énergétique totale) ⁵⁷. Il semble donc que la dose de rhGH et les modifications diététiques associées puissent influencer les résultats, le schéma optimal n'étant pour l'instant pas établi.

D'autres facteurs trophiques pourraient être proposés mais leur utilisation chez l'homme insuffisant intestinal n'a pas, à notre connaissance, été tentée :

- le GLP-2 (glucagon-like peptide 2), un peptide trophique spécifique de l'intestin, notamment pour le jéjunum chez le rongeur où il augmente la prolifération cellulaire et diminue l'apoptose entérocytaires ⁹⁴, produit essentiellement au niveau de l'iléon distal et du côlon droit par les cellules entéroendocrines L après maturation post-traductionnelle du proglucagon (le GLP-1 en dérive également, alors que le peptide YY est aussi originaire des cellules L). Le GLP-2 intervient notamment dans le frein iléal et il est libéré en réponse à une charge calorique chez l'homme ⁹⁵. Chez les patients avec grêle court sans iléon un défaut de libération de ce peptide après un repas, alors que les valeurs basales étaient non différentes de celles des sujets contrôles, a été montré ⁹⁵. Après résection intestinale chez le rat le GLP-2 promeut l'adaptation intestinale ⁹⁶. Il est possible que ce facteur hormonal entérotrophique ait un avenir dans la thérapeutique de certaines affections intestinales.
- l'IGF-1 (insulin-growth factor 1), médiateur de l'action de la GH par action locale ou systémique
- l'EGF (epidermal growth factor), qui semble avoir des effets additifs à ceux de la glutamine et de la GH

L'importance de ces facteurs reste à déterminer indépendamment de facteurs nutritifs spécifiques intestinaux tels que la glutamine et les acides gras à chaîne courte pour le grêle et le côlon respectivement ⁵⁶.

Chirurgie reconstructrice du grêle restant

Nous n'envisagerons ici que l'anse jéjunale antipéristaltique. Il a aussi été proposé, en particulier chez l'enfant, la construction d'une néovalve ou l'interposition colique isopéristaltique pour ralentir le transit, la duplication intestinale et l'anse circulaire (cette dernière étant peu efficace) pour augmenter la surface d'absorption. L'interposition d'une anse jéjunale antipéristaltique ou anse reverse, a montré chez l'animal en cas résection intestinale une amélioration de l'absorption intestinale et de la survie, mais chez l'homme les résultats avant l'ère de la NP sont anecdotiques et controversés. Il s'agit, chez l'adulte, de la mise en place en anisopéristaltique d'un segment de grêle de 8 à 12 cm de long au niveau du jéjunum distal, anastomosé en termino-terminal à la partie proximale du côlon restant⁸⁶. Cette intervention n'est à envisager qu'en cas d'insuffisance intestinale permanente probable et en l'absence d'iléon et de valvule iléo-cæcale restants. Le court segment de grêle antipéristaltique ralentit le transit et améliore l'absorption, ce qui facilite le sevrage lorsque la longueur de grêle restant est < 100 cm⁸⁶. Dans notre expérience de 11 patients dont la longueur de grêle restant était de 40 (20-70) cm, il a été obtenu un sevrage chez 4 patients dont la durée de suivi était supérieure à 4 ans et une réduction de la fréquence des perfusions nutritives dans les 7 autres cas (cf. 6.1.1).

Transplantation intestinale

Contrairement aux deux options précédentes, cette modalité thérapeutique est susceptible d'intéresser une grande partie des patients âgés de moins de 60 ans souffrant d'insuffisance intestinale irréversible²¹. Les résultats récents de cette technique d'allogreffe laissent en effet penser que, dans un avenir proche, elle pourra être proposée et effectuée plus largement dans les cas sélectionnés des centres de référence. Dans la publication du registre international de transplantation intestinale, pour 180 transplantations effectuées entre 1985 et 1995 chez 178 patients, dont 50% avant l'âge de 5 ans, 66% avant 20 ans et 10% après 40 ans, 64% l'ont été pour grêle court, 13% pour SMA «médical» (diarrhée grave rebelle), 13% pour tumeur, et 8% pour POIC^{21,89}. La survie a été meilleure lorsque l'immunosuppression était assurée par le tacrolimus ou FK506 (n=131) par rapport à la ciclosporine A (n=49). La survie a ainsi été sous tacrolimus à 1 et 3 ans respectivement de 83%/47% pour l'intestin seul, de 66%/40% pour intestin + foie et de 59%/43% pour la transplantation multiviscérale. Parmi les 86 survivants (38%), 78% étaient sevrés de toute NP, indiquant la bonne fonctionnalité absorptive et nutritionnelle du greffon malgré la dénervation, les troubles moteurs et l'interruption du drainage lymphatique⁸⁸, 12% avaient une réduction de la fréquence des perfusions et 10% étaient sous NPAD après détransplantation. La complication la plus

fréquente est le rejet aigu (70 à 80% des transplantations), pouvant conduire à une atrophie villositaire mais traitable médicalement si le diagnostic est précoce. Il existe une tendance qui indique une survie des greffons inférieure lors des transplantations isolées du grêle par rapport aux transplantations combinées (55% vs. 63% à 1 an dans les transplantations réalisées depuis 1995) ^{21,21,88,90}. La plupart des décès ont été attribués aux complications dues au manque de spécificité de l'immunosuppression (septicémie, syndrome lymphoprolifératif...). A l'extrême, il est toujours possible de détransplanter le patient pour le remettre en NP ^{21,89}. Les données réactualisées du registre confirment ces tendances et soulignent l'importance de l'expérience des centres (plus de 10 transplantations) dans le pronostic ^{21,90}. A titre de comparaison, les patients alimentés par NPAD, candidats potentiels à la transplantation du fait d'un grêle restant < 50 cm et âgés de moins de 60 ans (n=41), ont eu dans l'étude franco-belge une probabilité de survie à deux ans de 90% ⁶. Ainsi, chez l'adulte avec SGC, il semble actuellement raisonnable de réserver la transplantation intestinale aux patients insuffisant intestinaux non adaptables qui courent un risque majeur lors de la NP de longue durée, c'est-à-dire ceux présentant une hépatopathie cholestatique et fibrosante évolutive ^{21,84} ou ceux chez qui la NPAD est impossible à entreprendre ou à poursuivre, notamment du fait de la difficulté de l'abord vasculaire ^{21,97}. A l'heure actuelle plus de 300 transplantations (dont plus de 100 chez l'adulte) de l'intestin grêle isolé ou combiné au foie ainsi qu'à d'autres organes ont été réalisé à travers le monde, essentiellement aux Etats-Unis, en France et au Canada.

1.1.3 Autres causes d'insuffisance intestinale chronique

Les causes d'insuffisance intestinale pouvant être permanente sont mentionnées sur le **Tableau 3**. Nous n'en détaillerons ici que quelques caractéristiques. Elles représentent environ 20% des indications de NP de longue durée. Certaines de ces pathologies pourraient, chez l'adulte, devenir une indication à la transplantation intestinale. Dans les 14 centres agréés de NPAD chez l'adulte en France, les 524 nouveaux patients inclus en 1993-1995 souffraient, à parts égales, des pathologies suivantes : maladie de Crohn, infarctus mésentérique, entérite radique, cancer, SIDA et diverses autres causes (dont complications postopératoires, POIC et malabsorptions médicales sévères non-SIDA) ⁷.

Tableau 3. Causes des insuffisances intestinales chroniques en dehors du SGC [d'après ⁹⁸]

Maladies dysimmunitaires

Maladie cœliaque non répondeuse au régime sans gluten (sprue réfractaire...)
 Sclérodermie systémique et connectivites apparentées
 Lymphome intestinal diffus ; jéjuno-iléites ulcéreuses
 Réaction du greffon contre l'hôte
 Maladies inflammatoires diffuses avec lésions cicatricielles (maladie de Crohn...)
 Entéropathie VIH et divers déficits immunitaires^a
 Entéropathie auto-immune (exceptionnel chez l'adulte)

Maladies non dysimmunitaires

Pseudo-obstruction intestinale chronique primitive (myopathies et/ou neuropathies viscérales)
 Entérite radique, lésions ischémiques chroniques...
 Certaines formes de diarrhées graves rebelles de l'enfance (atrophie microvillositaire, dysplasie épithéliale...)

^anotamment, chez l'adulte, le déficit immunitaire commun variable

1.1.3.1 Entéropathie muqueuse étendue**1.1.3.1.1 Causes**

Les SMA sévères non post-chirurgicaux imposant le recours à une NPAD sont fréquemment liées à un mécanisme immunopathologique ⁹⁸. Ils représentent moins de 10% des indications de NPAD. Les lésions pariétales non chirurgicales du grêle sont ainsi notamment les atrophies villositaires totales ou subtotaales (en particulier au cours de la maladie cœliaque) étendues, résistantes au traitement médical (régime sans gluten, corticothérapie...), les lymphomes du grêle diffus de phénotype B, indifférencié ou surtout T souvent associés à une entéropathie préexistante et/ou à une atrophie villositaire adjacente ou diffuse, et les complications intestinales du SIDA ou entéropathies VIH primitives ou secondaires, dorénavant rares dans les pays occidentaux depuis l'avènement (1996) des antiprotéases améliorant l'état immuno-virologique et permettant l'éradication des infections opportunistes notamment digestives à protozoaires (cryptosporidioses...) de ces patients ^{21,99}.

Dans les pays occidentaux la principale cause, de prévalence variable en fonction des régions, d'entéropathie médicale aboutissant à une malabsorption est la maladie cœliaque. Il s'agit de la forme classique, «patente» (symptomatique ou silencieuse), de l'hypersensibilité au gluten. Chez les sujets prédisposés (refléte par certains haplotypes HLA DQ) les fractions protéiques solubles dans l'alcool ou prolamines -résistantes aux enzymes duodéno-

pancréatiques et riche en glutamine et en proline- des céréales du blé (gliadine), de l'orge, du seigle et de l'avoine sont susceptibles d'induire des lésions intestinales. La maladie cœliaque est diagnostiquée sur une conjonction d'arguments histologiques (notamment atrophie villositaire) et immunologiques (notamment positivité des anticorps sériques anti-endomysium et anti-transglutaminase tissulaire -tTG- de classe IgA, en dehors du suivi d'un régime sans gluten) et la réparation plus ou moins (chez l'adulte) complète des lésions histologiques, sur une période pouvant aller jusqu'à 2 ans (période «adaptative»), après un régime sans gluten strict ¹⁰⁰. Les lésions histologiques se constituent de «haut en bas», *i.e.* du duodénum vers l'iléon, et se réparent de «bas en haut» ¹⁰¹. L'étendue des lésions en hauteur sur l'intestin conditionne l'expression clinique ¹⁰¹. Chez l'adulte un sous-groupe de cœliaques (au maximum 5 à 10% des formes «patentes») peut développer une insuffisance intestinale sévère, très symptomatique, quand les lésions s'étendent à l'ensemble du grêle, pouvant alors imposer une NP parfois de longue durée ^{98,100}. Ces malades, résistants au régime sans gluten bien suivi -les écarts à ce régime étant la principale cause de non-réponse clinique, histologique et biologique- peuvent être atteints d'une «sprue réfractaire» ou d'un lymphome invasif du grêle ¹⁰². Il a été montré que certaines carences biologiques (notamment cholestérolémie totale, albuminémie, calcémie et taux de prothrombine) était plus marquées dans les formes étendues (duodéno-jéjuno-iléales) que dans les formes, habituelles, uniquement proximales duodéno-jéjunales. Par contre les explorations fonctionnelles intestinales, comme le dosage de la stéatorrhée et de l'azote fécal, ainsi que le test au D-xylose (dosage de la xylosémie à 2 heures) sont peu discriminantes, à l'exception du test de Schilling ¹⁰³.

1.1.3.1.2 Histopathologie

A partir des lésions constatées dans les modèles animaux de réaction du greffon contre l'hôte, ce syndrome chez l'homme pouvant induire une insuffisance intestinale sévère surtout aiguë ¹⁰⁴, Marsh a conceptualisé le panel et l'évolution des lésions histologiques intestinales des entéropathies pouvant s'accompagner d'une entéropathie atrophiante et donc d'une malabsorption ⁹⁸. En effet on peut considérer que l'atrophie villositaire, dont nous ne discuterons pas ici les diverses théories physiopathogéniques ⁹⁸, est la «voie finale commune» des réponses à un grand nombre d'agression sur l'intestin grêle : il s'agit du **syndrome d'atrophie villositaire** (SAV) ¹⁰⁵. Marsh a proposé de classer les lésions intestinales de ces entéropathies, habituellement liées à un mécanisme immunitaire cellulaire T, selon 5 types histopathologiques (**Figure 3**) que nous avons utilisé et modifié pour nos travaux, de façon à disposer d'un indice anatomique de la masse entérocytaire dans ces pathologies. Cette

classification est indépendante de l'extension des lésions sur le grêle dont l'évaluation nécessite, en toute rigueur, la réalisation de biopsies étagées (par diverses capsules et sondes hydrauliques autrefois, par l'entéroscopie aujourd'hui). D'autres classifications ont été proposées¹⁰⁶. Comme on peut le voir sur la **Figure 3** l'hypersensibilité au gluten ne résume pas les causes du SAV^{98,106}.

- Le type 0 de la classification de Marsh correspond à une muqueuse normale, tant pour l'architecture villositaire (rapport villosité/crypte = 2 à 3 pour 1 dans le duodénum, 4 à 5 pour 1 dans le jéjunum, 2 pour 1 dans l'iléon) que pour l'absence d'infiltration lymphocytaire épithéliale.

- Le type 1 est le stade infiltratif où seule une hyperlymphocytose T CD3⁺, et à 80% CD8⁺, intra-épithéliale (> 30/100 cellules épithéliales, N=6-30), à faible activité mitotique est notée. Ces malades, asymptomatiques, ont une forme «latente». Ils pourraient représenter les deux tiers des hypersensibles au gluten⁹⁸.

- Le type 2, infiltratif-hyperplasique, comporte une hypertrophie cryptique avec augmentation de l'activité mitotique et infiltration polymorphe du chorion (lymphocytes notamment T CD3⁺-CD4⁺, plasmocytes, polynucléaires éosinophiles...). Conceptuellement important, ce type est en fait très rarement observé en pratique. Les malades ayant une atrophie villositaire partielle (rapport villosité/crypte = 1 à 2 pour 1), non explicitement individualisés dans la classification de Marsh, s'en rapprochent. Il s'agit du stade qui suivrait celui que nous venons de décrire : nous l'avons classé en type 3a.

- Le type 3b, atrophique-hyperplasique, correspond à l'aspect histologique actif classique, évocateur mais non spécifique, de la maladie cœliaque. L'architecture villositaire y est détruite. On y classe l'atrophie villositaire subtotala (rapport villosité/crypte inférieur à 1) et l'atrophie villositaire totale (absence de villosité visualisable). Chez ces patients l'hyperplasie cryptique témoigne d'un renouvellement cellulaire intestinal augmenté (augmentation de l'expression de Ki67, marqueur de prolifération nucléaire, traduisant l'intense activité mitotique). De même dans la maladie cœliaque active la vitesse de synthèse protéique intestinale est multipliée par 2 par rapport au sujet sain¹⁰⁷. On note de plus des altérations entérocytaires (cuboïdaux voire desquamés) dont la réparation sous régime sans gluten se fait en quelques jours. Si les lésions ne sont pas étendues sur le grêle distal ces patients peuvent être asymptomatiques et n'avoir biologiquement qu'un tableau monocarentiel (fer, calcium...).

- Le type 4, atrophique-hypoplasique, est rare et considéré comme irréversible. Il associe atrophie villositaire habituellement totale et hypoplasie cryptique. Cet état,

habituellement responsable d'une insuffisance intestinale sévère liée à une extension pangrêlique des lésions, peut s'accompagner d'ulcérations et/ou de lymphome du grêle avec infiltration lymphocytaire T oligo ou monoclonale (jugée sur le réarrangement des chaînes du TCR). Les lésions histologiques cryptiques sont assez similaires à celles de la réaction du greffon contre l'hôte aiguë ¹⁰⁵.

Il faut remarquer qu'en fonction des causes du SAV, les anomalies des cryptes intestinales et les altérations épithéliales (entérocytaires et lymphocytaires) peuvent être très différentes de celles de la maladie cœliaque. Les lésions des SAV non cœliaques sont fréquemment diffuses sur le grêle. La masse entérocytaire est abaissée dans les formes sévères et/ou étendues de SAV ¹⁰⁸.

1.1.3.1.3 Traitement

En dehors du traitement symptomatique, notamment nutritionnel, le traitement «étiologique» des entéropathies diffuses est difficile et le pronostic réservé. Il peut, en fonction de la cause, faire appel à diverses manipulations du système immunitaire (immunosuppresseurs...) ¹⁰⁰.

FIGURE 3. Types histopathologiques de la muqueuse intestinale dans les principales entéropathies, habituellement liées à une réaction immunitaire de type cellulaire T, qui peuvent conduire à une atrophie villositaire totale (adapté de la référence ⁹⁸).

	Type 0 pré-infiltratif (normal)	Type 1 Infiltratif	Type 2/3a infiltratif- hyperplasique	Type 3b Atrophique- hyperplasique	Type 4 Atrophique- hypoplasique
Hypersensibilité au gluten					
Dermatite herpétiforme	+	+	+	(+)	-
Maladie cœliaque	+	+	+	+	+
Giardiase	-	+	+	+	-
Colonisation bactérienne chronique	+	+	+	(+)	-
Entéropathies tropicales	-	+	-	-	-
Sprue et parasitoses tropicales	-	+	+	+	-
Réaction du greffon contre l'hôte	-	+	+	+	(+)
SIDA, déficits immunitaires	+	+	+	+	-
Entéropathie auto-immune	-	?	+	+	+
Allergies alimentaires à diverses protéines (lait, soja...) (enfants)	-	+	+	+	-
Diarrhées graves rebelles (enfants)	-	+	+	+	-
Kwashiorkor (enfants)	-	+	+	+	-

1.1.3.2 Dysfonction motrice intestinale sévère (syndrome de pseudo-obstruction intestinale chronique)

A part les sténoses organiques (15% à 30% des indications de NPAD), tumorales ou non, le plus souvent «curables» chirurgicalement (insuffisance intestinale transitoire), il s'agit de maladies rares, parfois génétiquement déterminées et survenant dans l'enfance ou l'adolescence et dans les autres cas acquises, notamment chez l'adulte. Elles se manifestent par l'association d'une subocclusion intestinale récidivante et d'une dénutrition progressive parfois majeure sans lésion macroscopique obstructive de l'intestin grêle. Ces maladies

(syndrome de pseudo-obstruction) sont fréquemment systémiques car elles se caractérisent par une atteinte neurologique et/ou musculaire non réversible à tropisme non spécifiquement intestinal (grêle et/ou côlon). Chez l'enfant et l'adolescent il s'agit principalement d'altérations musculaires et/ou neurologiques primitives dont la nosologie complexe est en cours de démembrement, alors que chez l'adulte elles sont plus souvent secondaires, notamment à une sclérodermie systémique ou au cours d'un syndrome paranéoplasique ¹⁰⁹. En plus de la réduction des ingesta (insuffisance orale due notamment aux vomissements) une malabsorption, pas toujours facile à quantifier mais semblant rarement sévère, est présente. En dehors des résections la malabsorption y est essentiellement due à la colonisation bactérienne (nombre de micro-organismes > 10⁵/ml dans le grêle proximal) chronique du grêle ¹¹⁰. Le traitement des POIC sévères, combinant support nutritionnel, antibiotiques, prokinétiques et chirurgie est particulièrement délicat. Ceci est notamment le cas si les apports oraux sont impossibles, pouvant imposer l'entérectomie totale. Les POIC, qui constituent 5-10% des patients en NP de longue durée, peuvent devenir une indication à la transplantation intestinale ¹¹¹.

En synthèse des points saillants concernant l'insuffisance intestinale chronique nous retiendrons :

1. L'insuffisance intestinale se caractérise par une réduction de la masse intestinale fonctionnelle, *i.e.* entérocytaire absorptive, en dessous de laquelle l'absorption des aliments ne permet plus de maintenir un état nutritionnel adéquat.
2. L'insuffisance intestinale chronique résulte le plus souvent d'une résection étendue de l'intestin grêle dont la première cause chez l'adulte est l'ischémie mésentérique. Dans le SGC responsable d'une insuffisance intestinale chronique, la longueur de grêle restant est habituellement inférieure à 150-200 cm, soit moins de 50% de la longueur minimale normale d'un intestin d'adulte. Les 2 autres grands groupes de causes d'insuffisance intestinale sont les maladies étendues de la muqueuse de l'intestin grêle (s'accompagnant le plus souvent d'une atrophie villositaire : SAV) et les dysfonctions intestinales motrices sévères (POIC).
3. L'évaluation de l'importance d'une insuffisance intestinale consécutive à une résection intestinale étendue comprend le recueil : a) de la mesure de l'intestin grêle restant, difficile en pratique, b) du type d'anastomose intestinale, entérostomie terminale, anastomose jéjuno-

colique ou jéjuno-iléo-colique, c) et l'évaluation de la longueur du côlon restant car ce dernier joue un rôle nutritionnel important de récupération énergétique des glucides.

4. Le traitement de référence de l'insuffisance intestinale chronique sévère est la Nutrition Parentérale à Domicile associée à l'optimisation de l'absorption résiduelle de l'eau, des électrolytes et des nutriments. Les options complémentaires à la NPAD incluent les facteurs trophiques et la chirurgie reconstructrice du grêle dans le but d'accroître les capacités absorbatives et de tenter d'obtenir le sevrage de la NP. L'alternative radicale à la NPAD pour insuffisance intestinale irréversible est la transplantation intestinale.

Il n'y a pas de marqueur biochimique de la masse entérocytaire utilisable en pratique courante. Nos travaux nous ont porté à nous focaliser sur la piste des AA. Nous allons revoir dans la prochaine partie les interrelations métabolisme protéique-intestin grêle.

1.2 Métabolisme protéique et des acides aminés et intestin grêle

En dehors de ses fonctions de digestion-absorption, motrices, endocrines et de «barrière» spécifique (tissu immunitaire) ou non, l'intestin grêle, tissu à renouvellement cellulaire rapide, est impliqué dans le métabolisme, notamment énergétique, des lipoprotéines, protéique et des AA. La reconnaissance de l'importance de cette fonction date des années 1970.

Le tube digestif, et singulièrement l'intestin grêle, joue un rôle important dans le métabolisme protéique (15 à 25% du renouvellement protéique de l'organisme chez le rat et probablement chez l'homme contre 10% pour le foie)^{112,113} et dans les échanges interorganes d'AA. La masse protéique intestinale ne représente pourtant qu'environ 1 à 2% de la masse protéique corporelle, soit aux alentours de 150 g. Sans revenir ici sur le rôle du tube digestif dans le catabolisme des protéines, exacerbé dans les pathologies s'accompagnant de fuite digestive protéique (ou gastroentéropathies exsudatives) ni sur l'absorption des AA et des peptides (cf. 4.2.1.1) nous nous focaliserons sur le rôle du grêle dans le métabolisme de certains AA (que nous appellerons AA à «métabolisme intestinal privilégié») après avoir rappelé les techniques d'étude du métabolisme protéique *in vivo* chez l'homme.

1.2.1 Exploration *in vivo* du métabolisme protéique

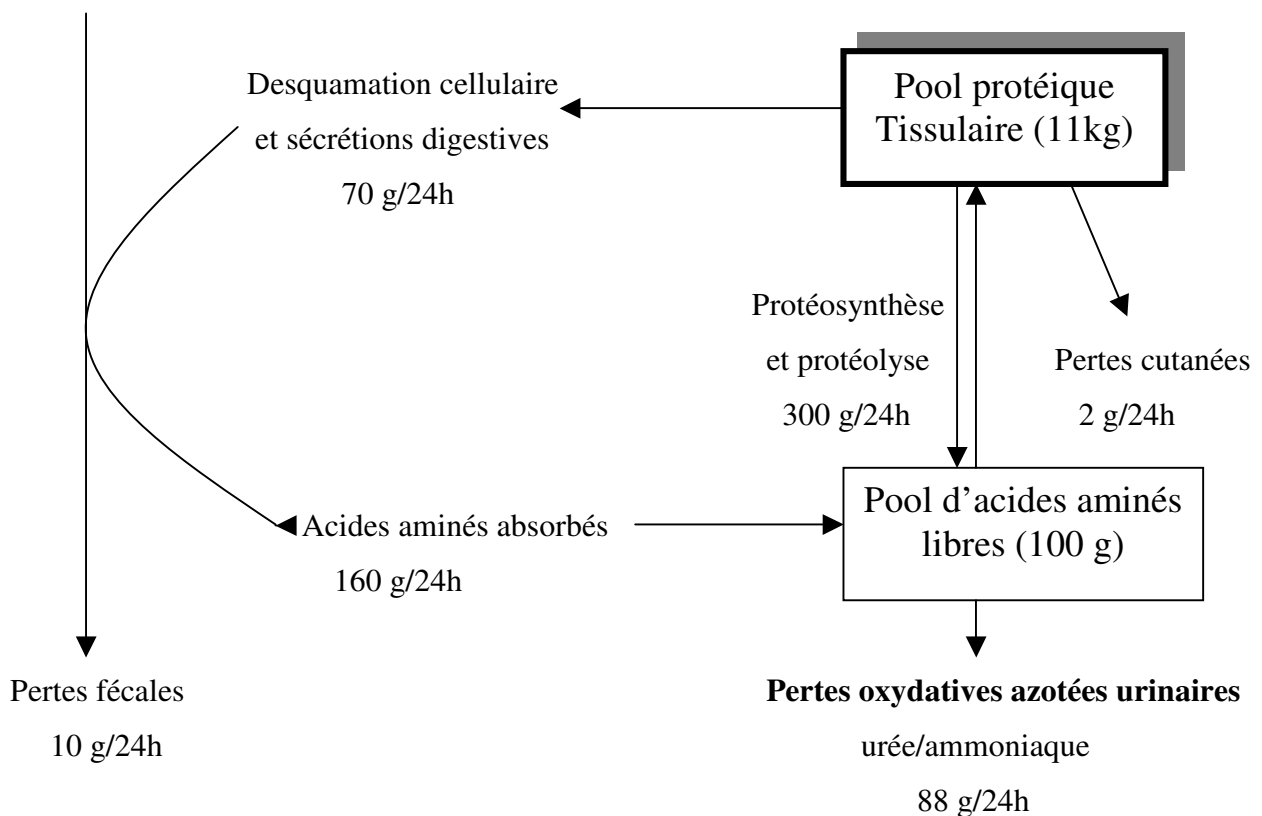
1.2.1.1 Généralités

Le métabolisme protéique peut être étudié *in vivo* par des méthodes «conventionnelles», bilan azoté et dosages des concentrations circulantes des AA avec ou sans cathétérisme vasculaire.

Ces techniques ne permettent pas l'étude des mécanismes gouvernant la synthèse et la dégradation protéique au niveau du «corps entier». En effet l'une des caractéristiques majeures des protéines de l'organisme est leur renouvellement (remodelage ou turnover) (**Figure 4**), tandis que les AA subissent des échanges interorganes permanents : ces 2 pools sont en équilibre dynamique. Les techniques des traceurs isotopiques donnent une approche cinétique globale du métabolisme et en particulier du métabolisme protéique. Il s'agit d'une méthodologie lourde : cette technique est difficilement applicable pour l'étude de grandes séries de malades ou pour valider un marqueur. Par contre elles sont d'un grand intérêt à visée physiologique et physiopathologique de part les renseignements semi-quantitatifs qu'elles procurent.

FIGURE 4. DYNAMIQUE DU METABOLISME PROTEIQUE [d'après ¹¹⁴].

Ingesta oraux (100 g/24)



1.2.1.2 Exploration du métabolisme protéique «corps entier» *in vivo* chez l'homme à l'aide des traceurs administrés par voie veineuse

L'exploration du métabolisme protéique *in vivo* chez l'homme a comme méthode de référence la perfusion veineuse continue à débit constant de traceurs isotopiques. Du fait de leur innocuité les traceurs sont des AA marqués aux isotopes stables ¹¹⁵ (**Tableau 4**). Pour les AA essentiels,

non synthétisés par l'organisme, l'AA le plus utilisé est la L[1-¹³C] leucine ¹¹⁵ : on en détermine l'enrichissement plasmatique (méthode des «précurseurs»). La perfusion de ce traceur permet, couplée aux mesures d'oxydation (détermination du ¹³CO₂ expiré), grâce une méthode de calcul simple (principe de la dilution isotopique), à l'état stationnaire (plateau d'enrichissement isotopique), en utilisant un modèle stochastique faisant abstraction de toute compartimentation de la molécule tracée, de calculer les paramètres cinétiques (débit de renouvellement ou turnover ou flux, dégradation, oxydation, synthèse) du métabolisme protéique «corps entier». La plupart des hypothèses inhérentes à ce modèle ont été validées. Pour s'affranchir de l'imprécision de la mesure d'air expiré, un modèle alternatif au modèle leucine a été proposé, il s'agit de la perfusion veineuse de phénylalanine, dont l'oxydation hépatique fournit de la tyrosine mesurable au niveau plasmatique ¹¹⁶.

La perfusion veineuse d'un autre traceur, par exemple de glutamine, couplée à la leucine permet le calcul des paramètres cinétiques du métabolisme de la glutamine (flux total, le plus élevé de tous les AA, environ 350 µmol/kg.h, synthèse *de novo*, *i.e.* non liée à la protéolyse, flux de glutamine liée à la protéolyse). C'est ainsi que la plupart des AA ont vu leur flux déterminé *in vivo* chez l'homme ¹¹⁷, dont certains ces dernières années (notamment l'arginine, l'ornithine, la citrulline et la taurine).

Tableau 4. Justification de l'utilisation des isotopes stables dans les études métaboliques chez l'homme.

Les molécules marquées aux isotopes stables sont naturellement présentes dans l'alimentation.

Qu'ils soient marqués sur le carbone (¹³C) ou sur l'azote (¹⁵N), les isotopes injectés à doses traceuses sont, par leur nature stable, non radioactifs, et d'une parfaite innocuité.

Ils sont d'une innocuité identique à celle du produit tracé, leur permettant d'être utilisé à tout âge, même chez la femme enceinte et l'enfant.

Ils sont présents en petite quantité dans les composés organiques et dans le corps humain.

Ils suivent les mêmes voies métaboliques et ont la même cinétique que le produit tracé.

Ils sont facilement identifiables grâce à une caractéristique physique donnée.

1.2.1.2.1 Principe de l'étude du renouvellement (flux) protéique «corps entier» à l'aide des traceurs : modèle stochastique à l'état stationnaire

C'est le modèle théorique le plus utilisé ¹¹⁷. Il fait appel à l'hypothèse d'un «pool» unique de la substance à tracer ; lorsque le système est à l'état stationnaire la taille du pool ne varie pas du fait de l'équivalence du flux de substance entrant dans le système et en sortant. Si on introduit

dans ce pool une substance traceuse (substance identifiable ne modifiant pas la taille du pool), en particulier isotopique, à un débit connu et constant (i), en pratique par voie veineuse, ce traceur va se diluer dans le pool (principe de la *dilution isotopique*). Après un temps variable dépendant du débit du traceur et de la taille du pool du tracé, la concentration de ce traceur dans le système atteint une valeur constante (*plateau*). A l'état stationnaire le rapport débit du traceur/débit du tracé entrant dans le pool est égal au rapport de concentration du traceur/concentration du tracé dans ce même pool (traceur/tracé). On peut ainsi calculer le flux de substrat entrant (ou R_a), et donc sortant (ou R_d), qui sont par hypothèse équivalents. Lorsque le traceur est marqué avec un isotope stable le rapport traceur/tracé correspond à l'enrichissement isotopique, l'analyse nécessite une chromatographie couplée à la spectrométrie de masse.

En fonction de la teneur en l'AA tracé dans les protéines de l'organisme, par exemple 8% pour la leucine ¹¹⁵, le flux d'un AA essentiel permet d'estimer le débit de renouvellement («turnover») protéique : celui-ci est de l'ordre de 4g/kg par jour chez l'homme adulte sain à l'état post-absorptif soit 250 à 300 g/j pour un poids de 60-70 kg (cf. **Figure 4**).

1.2.1.2.2 Modèle de la L-[1-¹³C] leucine ¹¹⁵

Principe

La leucine est un AA essentiel, c'est l'un des trois AA ramifiés (avec l'isoleucine et la valine). Son premier carbone naturel peut être remplacé par un isotope stable (le carbone 13) de façon à en faire un traceur. Le carbone 13 est présent en quantité faible dans les molécules organiques où il représente 1.1% des carbones (abondance naturelle). Après perfusion du traceur au débit i l'enrichissement par rapport à l'abondance naturelle des échantillons prélevés peut être calculé après passage en spectrométrie de masse. Le catabolisme intracellulaire de la leucine passe par une transamination avec formation d' α -céto-iso-caproate (KIC). Cette étape est réversible. Le radical carbone ainsi formé peut être utilisé dans des voies métaboliques énergétiques (cétogenèse, cycle de Krebs) ou être réaminé, dans la cellule, pour former de la leucine utilisée pour la synthèse protéique, essentiellement dans le muscle. L'autre devenir du KIC est de subir une décarboxylation, étape enzymatique irréversible et limitative, suivie de la dégradation complète de la molécule. Le CO_2 produit par cette décarboxylation rejoint le «pool» de bicarbonate de l'organisme avant d'être éliminé par l'appareil respiratoire sous forme de CO_2 . On voit ainsi que la proportion de CO_2 provenant de cette décarboxylation est un reflet de la proportion de la leucine oxydée qui ne participe pas à la synthèse protéique.

L'estimation du flux de leucine (Q = turnover ou débit de renouvellement) suppose de considérer que l'ensemble de la leucine libre de l'organisme constitue un compartiment (ou

pool) unique et est en état stationnaire. En période nourrie la leucine qui entre dans le compartiment peut venir de deux sources : apports exogènes (I = intake ou ingesta) et dégradation protéique (B = breakdown ou protéolyse) ; à jeun elle ne vient que de la protéolyse. La leucine sort du compartiment par deux voies : synthèse protéique (S) et oxydation (Ox). Si on peut reconnaître la molécule de CO₂ issue de la décarboxylation de la leucine et en mesurer le flux dans l'organisme, et que parallèlement on mesure le flux de leucine entrant ou sortant du compartiment central de leucine, on peut en déduire le flux de leucine allant vers la synthèse protéique. *L'état stationnaire est déterminé par l'obtention des plateaux d'enrichissement plasmatique et d'air expiré. Le plateau peut-être défini par un coefficient de variation [CV = (écart type/moyenne arithmétique) x 100] des enrichissements inférieur à 10%* ¹¹⁸. Les paramètres cinétiques suivants sont alors calculés :

$$Q = B + I = S + Ox, \text{ ou } Q = Ra = Rd$$

Q = turnover de la leucine

B = dégradation protéique ou protéolyse («breakdown») ; I = ingesta («intake»)

S = indice de la synthèse protéique, c'est la partie non oxydée du flux de leucine (ou NOLD : «nonoxydative leucine disposal»)

Ox (ou C : catabolisme irréversible) = oxydation

Ra = flux d'apparition («rate of appearance»)

Rd = flux d'utilisation ou de disparition («rate of disappearance»)

Ces paramètres sont exprimés en $\mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ou $\mu\text{mol.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

A jeun l'apport exogène (I) est nul, donc $Ra = B$; le flux de leucine est un indice de la protéolyse. En période nourrie l'apport exogène (I) doit rester constant et connu de façon à obtenir un état stationnaire. Ceci ne peut être réalisé qu'en nutrition continue parentérale ou entérale ¹¹⁹.

Mesure de l'oxydation protéique

Pour calculer le flux d'oxydation d'un substrat pendant la perfusion de substrat marqué au ¹³C on doit mesurer la production de CO₂ (la VCO₂) et l'enrichissement en ¹³C dans l'air expiré. La méthode de référence pour le calcul de l'oxydation d'un traceur marqué au ¹³C utilise un sac de Douglas dans lequel on recueille l'air expiré par le sujet. On mesure la VCO₂ à partir du débit expiratoire (VE) et de la fraction de CO₂ de l'air expiré (FeCO₂). L'enrichissement du CO₂ expiré est analysé à l'aide d'un spectromètre de rapport isotopique. La mesure de l'enrichissement de l'air expiré en ¹³CO₂ fait intervenir un pool supplémentaire différent de celui du tracé : c'est le «pool à renouvellement lent» (principalement osseux). Pour le saturer on

injecte au début de l'épreuve une dose de ^{13}C bicarbonate de façon à obtenir plus rapidement le plateau d'enrichissement dans l'air expiré. Néanmoins les injections de ^{13}C bicarbonate ont montré que seule une partie, augmentant de l'état post-absorptif (0.7) à l'état nourri et l'exercice physique modéré (0.8), corrélée la production de CO_2 , était récupérée dans l'air expiré sous forme de $^{13}\text{CO}_2$.

1.2.1.2.3 Aspects techniques

GCMS : mesure de l'enrichissement plasmatique en L-[1- ^{13}C] leucine

Le GCMS (Gas Chromatography Mass Spectrometry ou chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) permet l'identification des molécules qui sont repérées par les masses spécifiques de leurs ions les plus représentatifs. Ainsi l'AA marqué au ^{13}C est différencié de l'AA naturel (^{12}C). Il est nécessaire au préalable de transformer le composé plasmatique en dérivés volatils analysables par chromatographie gazeuse. Les dérivés sont séparés par chromatographie gazeuse (GC). La séparation est ensuite révélée par spectrométrie de masse (MS) après fragmentation par bombardement électronique. Les ions obtenus sont caractéristiques des dérivés et donc de la leucine introduite dans le GC.

Les différentes étapes pour cette analyse sont : a) l'extraction de la leucine du plasma, b) la dérivatisation qui rend volatil la molécule en masquant les groupes polaires par des chaînons alkylés, c) le passage au GCMS. L'appareil GCMS que nous avons utilisé comporte en série un chromatographe en phase gazeuse et un spectromètre de masse quadripolaire (NERMAG R1010T). A la sortie du GC le spectromètre de masse révèle la séparation. Le temps de rétention des différents fragments correspondant à un AA est caractéristique de chaque isotope d'AA dérivatisé. A la sortie du GC les différentes molécules entrent dans la chambre d'ionisation du spectromètre de masse où par impact électronique elles sont fragmentées en molécules caractéristiques et ionisées positivement. Le bombardement des molécules est assuré par un flux d'électrons dont l'énergie fournit toujours la même série d'ions, constituant leurs **spectres de masse** caractéristiques. Avant le recueil dans l'analyseur un champ magnétique perpendiculaire au trajet des ions les sépare en fonction de leurs rapports masse/charge (m/z).

L'enrichissement plasmatique (Ep), en pourcentage de mole en excès (mpe ou mole percent excess) est calculé par la formule :

$$E_p = [\Delta R_t / (1 + \Delta R_t)] \times 100 \quad \text{où } \Delta R_t = (R_t - R_0)/k \quad (R_t = \text{rapport des surfaces } ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}),$$

$$k = \text{pente de la droite d'étalonnage}$$

L'Ep au plateau est ensuite calculé en faisant la moyenne des enrichissements plasmatiques calculés aux divers points. On peut également calculer l'Ep après avoir calculé un ΔR moyen sur l'ensemble des prélèvements. Ce mode de calcul donne des résultats identiques.

Calorimétrie indirecte : mesure de la production de CO₂

Notre laboratoire a mis au point une méthode pour mesurer l'oxydation de la leucine en utilisant une enceinte ventilée («canopy») couplée à la mesure des paramètres de calorimétrie indirecte ¹²⁰. Cette méthode permet simultanément de mesurer la VCO₂ et la VO₂ (consommation d'oxygène) et de prélever des échantillons de l'air expiré pour mesurer l'enrichissement du ¹³CO₂. La mesure des échanges gazeux respiratoires est ainsi effectuée au moyen d'un appareil de calorimétrie indirecte à circuit ouvert.

IRMS : mesure de l'enrichissement du CO₂ expiré

Le CO₂ de l'air expiré est recueilli en sortie du canopy, introduit dans un sac de Douglas, puis 5 ml sont injectés dans des tubes à pressions basses. Le rapport ¹³CO₂/¹²CO₂ est mesuré directement par IRMS (Isotope Ratio Mass Spectrometry ou spectrométrie de rapport isotopique) après séparation sur colonne chromatographique des différents gaz de l'air contenus dans les 5 ml. L'analyse est réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse IRMS (Tracer Mass, Europa Scientific). La séparation des gaz est effectuée sur un Roboprep[®] (Europa Scientific) couplé au spectromètre de masse. Le spectromètre possède 3 collecteurs pouvant mesurer 3 masses consécutives. Dans notre cas les collecteurs reçoivent les molécules de masse 44, 45, 46. Les molécules de masse 44 et 45 contenues dans l'air expiré sont exclusivement du ¹²CO₂ et du ¹³CO₂. La mesure du rapport isotopique 45/44 est comparée à un gaz étalon d'enrichissement connu et proche de l'échantillon à analyser. La valeur de ce rapport est ramenée à un standard : le PDB (Pee Dee Belemnite). Les résultats sont ainsi exprimés en delta ‰ PDB.

Le rapport isotopique molaire ¹³CO₂/¹²CO₂ au plateau (R_{jp}) peut ainsi être calculé :

$$R_{jp} = [(\delta \text{‰ PDB}/1000) + 1] \times 0.0112372$$

L'enrichissement en ¹³CO₂ de l'air expiré (ECO₂), en MPE, est calculé selon la formule

$$ECO_2 = \frac{\Delta Re}{\Delta Re + 1} \times 100$$

$$\text{où } \Delta Re = R_{jp} - R_{jo}$$

R_{jo} est le rapport isotopique ¹³CO₂/¹²CO₂ au temps 0

1.2.1.3 Autres méthodes d'étude *in vivo* du métabolisme protéique

1.2.1.3.1 Bilan azoté (Figure 4)

C'est une technique robuste, qui reste une méthode de référence bien que globale, ne donnant aucun renseignement sur la modalité (synthèse et dégradation protéique) et le lieu de l'effet observé. Il consiste à mesurer les entrées et sorties (à 80-90% dans les urines) d'azote de l'organisme. L'équation de base du bilan (ou balance) azoté est :

$$\text{Bilan} = \text{apport alimentaire} - (\text{azote urinaire} + \text{azote fécal} + \text{autres pertes azotées})$$

(exprimés en g d'azote par 24 heures)

Pour une réalisation correcte il nécessite un recueil soigneux et complet des urines pendant plusieurs jours (3 à 5), avec au minimum un dosage d'urée urinaire (qui représente environ 80% de l'excrétion azotée urinaire chez l'adulte en nutrition orale mais qui peut baisser au profit notamment de l'ammoniaque en fonction des situations : acidose, états cataboliques, jeune, NP) et éventuellement des pertes fécales si celles-ci sont supposées augmentées (entéropathies, fistules). Les pertes extra rénales non digestives ne peuvent qu'être estimées. Le dosage d'azote total fait appel des méthodes robustes (mesure sous forme de sulfate d'ammonium après minéralisation = technique de Kjeldahl tendant à être remplacée par la pyrochimiluminescence, plus rapide et moins onéreuse)¹²¹. Globalement les apports ont tendance à être surestimés -l'erreur en valeur absolue augmentant avec le niveau des apports- et les pertes sous-estimées, le bilan étant donc surestimé.

1.2.1.3.2 Méthodes dynamiques locales

C'est la mesure, invasive, de différences artério-veineuses d'AA de part et d'autre d'un organe ou d'un tissu avec mesure concomitante du débit sanguin. Chez l'homme cette méthode a surtout été développée pour l'étude du métabolisme protéique musculaire au moyen du cathétérisme artériel et veineux de l'avant-bras. On peut coupler à ces explorations la perfusion de traceurs et éventuellement biopsier un tissu pour mesurer la synthèse protéique fractionnelle tissulaire. Cette dernière technique peut aussi être réalisée après perfusion systémique du traceur pour mesurer la synthèse fractionnelle de protéines spécifiques (albumine, apolipoprotéines...).

1.2.1.3.3 Aminoacidogramme plasmatique

Décrit pour la 1^{ère} fois en 1954¹²², l'acidoaminogramme est une technique relativement délicate (contrôle de qualité indispensable, normes européennes...). Une quantité d'1 ml de plasma est suffisante. Avant analyse une première décantation (centrifugation) rapide doit permettre de séparer les protéines des AA libres. Si le prélèvement ne peut être analysé rapidement il doit être conservé à - 70°C après déprotéinisation¹²³. Le dosage plasmatique

des AA est difficile, fait appel à des appareils onéreux (chromatographie échangeuse d'ions en particulier) ou à des technologies complexes (chromatographie liquide en phase inverse avec dérivation par l'orthophtaldéhyde, le PITC, le FMOC, le chlorure de dansyl ; électrophorèse capillaire...) et est donc réservé à des laboratoires spécialisés. Un chromatogramme complet des AA est coûteux (BHN 500 soit environ 900 FF). Aujourd'hui le temps de passage dans la colonne de chromatographie a été réduit à environ 2h, le rendu des résultats pouvant se faire dans la journée. Un exemple de chromatogramme d'AA est présenté sur la **Figure 5**. Parmi les limites souvent avancées pour l'interprétation des résultats des aminoacidogrammes nous citerons :

- le nombre important des AA (20 AA contenus dans les protéines et 3 AA non protéiques : citrulline, ornithine et taurine). Il existe de nombreux échanges interorganes qui peuvent rendre difficile l'interprétation des valeurs.

- la manipulation de concentrations, ce qui impose en toute rigueur de tenir compte de l'état d'hydratation (dilution ou contraction du secteur plasmatique selon les situations). De plus l'observation de concentrations ne constitue qu'un reflet de l'équilibre entre la synthèse et le catabolisme.

- le site de prélèvement, artériel *versus* veineux. Les résultats diffèrent en cas de contribution significative du territoire musculaire périphérique au métabolisme de l'AA considéré. Les résultats peuvent également être différents selon la nature (sang total ou plasma) de l'échantillon analysé ce qui rend compte de la compartimentation du métabolisme de nombreux AA entre secteur cellulaire et secteur extracellulaire.

- la petitesse du pool échantillonné, le pool plasmatique, par rapport à celui des AA libres intracellulaires avec lequel il est en équilibre. Ce dernier pool est lui-même petit face à la quantité d'AA contenus dans les protéines (**Figure 4**). Cette dernière limitation tombe pour les 3 AA non protéiques : la protéolyse n'en fournit pas. La taurine est le 2^{ème} AA intracellulaire après la glutamine. Par contre l'ornithine et la citrulline ont de faibles concentrations intracellulaires¹¹⁴.

Au même titre que ce que nous avons vu pour les flux d'AA évaluables par la technologie du marquage aux isotopes stables, l'aminocidémie est la résultante de la vitesse d'apparition (production) des AA dans le plasma (R_a), pour la plupart des AA d'origine musculaire, et de leur vitesse de disparition (utilisation) (R_d), le plus souvent splanchnique. Très souvent il est proposé d'interpréter les résultats par groupe d'AA (par exemple essentiels *vs.* non essentiels...).

FIGURE 5. Aminoacidoigramme plasmatique séparé par chromatographie échangeuse d'ions

Interprétation de l'aminocidémie

Nous prendrons l'exemple de l'hypoaminacidémie. Deux situations sont possibles. La diminution de Ra (avec $Ra < Rd$) résulte d'une diminution des apports et/ou d'une insuffisance des réserves mobilisables (diminution de la production). Elle peut s'observer dans les dénutritions chroniques et prédomine alors sur les AA essentiels ¹²⁴. L'augmentation du Rd est caractéristique des situations d'agression et de dénutrition aiguë (stress métabolique). Elle résulte surtout de l'augmentation de l'utilisation notamment hépatique des AA et concerne surtout les AA glucoformateurs (alanine, glutamine...) par oxydation ou incorporation dans les protéines.

Nous verrons dans la suite de cette thèse comment il est possible d'interpréter une hypocitrullinémie, AA non protéique donc quasiment absent de l'alimentation ou des solutés de nutrition artificielle entérale ou parentérale. Nous avons développé son utilisation comme marqueur de la fonctionnalité de l'intestin grêle, et donc comme marqueur de l'insuffisance intestinale, sous réserve de l'absence d'insuffisance rénale ou d'un état d'hypercatabolisme sévère. Dans le même ordre d'idée l'hyperphénylalaninémie est un marqueur de l'insuffisance hépatique ^{125,126} car dans cette situation il existe un défaut spécifique de catabolisme hépatique des AA aromatiques (utilisé dans le rapport de Fisher).

1.2.1.3.4 Masse protéique

Le capital protéique (environ 10 000 protéines différentes dans l'organisme) est de 11 kg pour un individu de 70 kg (15% du poids du corps), majoritairement contenu dans la masse maigre (= non grasse) notamment au niveau des muscles périphériques (40% du poids du corps et environ la moitié des protéines de l'organisme) et du compartiment viscéral (cœur, poumons, foie, intestin, cerveau, rein), ce dernier étant un déterminant majeur de la DER.

Masse maigre, masse cellulaire active

Elles sont déterminées par les techniques biophysiques de mesure de la composition corporelle. La masse cellulaire active [poids corporel – (masse grasse + eau extracellulaire + os)] est déterminée notamment par la mesure du potassium corporel total (⁴⁰K) ou échangeable (⁴²K). L'azote corporel total est mesurable par activation neutronique.

Masse musculaire

-Créatininurie : la créatinine provient de la transformation non enzymatique de la créatine musculaire et est excrétée par le rein à débit constant. L'excrétion urinaire d'un gramme de créatinine (8.84 mmol) est le reflet d'environ 20 kg de muscle. On peut aussi utiliser l'indice créatininurie/taille ou poids. Les limites de cette méthode sont en particulier l'insuffisance rénale, un état catabolique et un mauvais recueil urinaire.

-3-méthyl-histidinurie : il s'agit, pour plus de 90%, d'un marqueur de la protéolyse musculaire, produit de méthylation post-traductionnelle de l'histidine des fibres contractiles d'actine et de myosine, très peu réabsorbé après filtration rénale. Rapporté à la créatininurie il s'agit d'un indice de la protéolyse myofibrillaire par unité de masse musculaire.

L'excrétion urinaire de ces 2 marqueurs augmente en cas d'alimentation carnée.

1.2.1.3.5 Anabolisme protéique. «Protéines nutritionnelles»

Tous les marqueurs biochimiques qualifiés de «protéines nutritionnelles» sont ambivalents. Les 2 protéines, dites de transport, dosées dans le sang circulant, les plus utilisées en pratique sont l'albumine (à turnover lent : 20 jours) et la préalbumine ou transthyrétine (à turnover rapide : 2 jours), de synthèse hépatique. La technique immunonéphélométrique est recommandée pour le dosage. Du fait de problèmes de spécificité il faut, pour pouvoir interpréter les valeurs, y rajouter un ou plusieurs marqueur(s) inflammatoire(s), comme la CRP ou l'orosomucoïde ce qui permet la construction d'un score (comme le PINI : indice pronostic nutritionnel et inflammatoire). Lors d'un syndrome inflammatoire les cytokines proinflammatoires (IL6...) inhibent l'ARNm de ces protéines «nutritionnelles» au niveau hépatocytaire, bien que la synthèse hépatique totale puisse être augmentée. Dans ces situations l'hypoalbuminémie est aussi liée à son transfert dans le secteur extravasculaire et à un hypercatabolisme. Ces dosages statiques ne permettent pas d'explorer le métabolisme protéique mais peuvent, sous certaines conditions, fournir des renseignements sur l'état nutritionnel (protéino-énergétique). Néanmoins, en dehors des états inflammatoires, ces protéines, notamment l'albumine, sont également influencées par l'état hépatique (cirrhose), rénal (glomérulopathie), intestinal (gastroentéropathie exsudative, malabsorption) voire cutané (brûlures, ulcères) et par l'hydratation (hémodilution, perméabilité capillaire). En fait l'albuminémie doit être utilisée comme marqueur pronostique (au seuil de 35 g/l)¹²⁷ et la préalbuminémie (au seuil de 0.2 g/l ou 0.3 g/l en cas d'insuffisance rénale) comme marqueur de l'efficacité d'une renutrition (reflet des ingesta)¹²⁸. Les autres «protéines nutritionnelles» qui ont été proposées sont le RBP (rétinol binding protein), la transferrine, la fibronectine, l'IGF-1 (= somatomédine C).

1.2.2 Exploration *in vivo* du métabolisme protéique splanchnique

A la différence de la nutrition parentérale, l'alimentation orale ou entérale rencontre initialement le «territoire splanchnique», composant du compartiment viscéral regroupant l'intestin grêle et le foie. Ce territoire joue un rôle important au sein du métabolisme, en

particulier protéique ¹²⁹, quantitativement et qualitativement. L'étude *in vivo* de ce territoire est difficile car ses 2 composants ne peuvent être dissociés à moins d'un cathétérisme splanchnique. Chez le porc le flux sanguin splanchnique augmente de 50% en période post-prandiale où il représente 1/3 du flux sanguin total, médié par diverses neurohormones dont le neuropeptide Y et le NO° (monoxyde d'azote). L'importance de ce territoire est majeure dans le métabolisme énergétique : chez l'homme il a été montré que l'aire splanchnique consomme 35% de l'O₂ à l'état basal post-absorptif et 40% à l'état post-prandial (3.2 vs. 4.2 mmol/min) ¹³⁰, indiquant sa grande contribution à la dépense thermogénique induite par l'alimentation.

Dix pour cents de la masse sanguine est située dans l'intestin, le débit sanguin pouvant être augmenté jusqu'à 8 fois en post-prandial. La dépense énergétique de l'intestin est estimée à 20% de la dépense énergétique quotidienne totale ¹³⁰. A l'état post-absorptif la synthèse fractionnelle des protéines de la muqueuse duodénale est 10 à 20 fois supérieure à celle du muscle squelettique ¹¹³. Les substrats énergétiques majeurs de l'intestin grêle sont la glutamine, le bêtahydroxybutyrate (corps cétonique) et le glucose. Ils diffèrent quantitativement entre l'état de jeune et l'état nourrit et entre les périodes avant et après le sevrage ¹³¹. L'intestin est consommateur de nutriments (endogènes ou exogènes de l'alimentation), en particulier de glutamine qui est son carburant majeur. Il est aussi producteur de métabolites, notamment à partir de la glutamine : alanine, citrulline et proline en particulier. Contrairement à la glutamine et au glucose, les acides gras à longues chaînes ne sont qu'une source énergétique mineure (oxydation < 10% de leur utilisation) pour la muqueuse intestinale où ils y sont estérifiés. Au contraire les acides gras à chaînes courtes, en particulier le butyrate, sont fortement oxydés dans les colonocytes. Les acides gras à chaîne moyenne (nombre de carbone < 12) quant à eux sont utiles en cas de déficience de la fonction digestion-absorption car ils sont absorbés sans l'aide des enzymes pancréatiques et des sels biliaires. En comparaison aux acides gras à longues chaînes, ils ne semblent pas augmenter la synthèse protéique intestinale ¹³².

1.2.2.1 Exploration du métabolisme protéique splanchnique par cathétérisme vasculaire

Il s'agit d'une méthode invasive (cathétérisme d'une veine sus-hépatique et d'une artère d'un membre en particulier au niveau fémoral) qui ne peut être utilisée que dans certains protocoles de recherche ou chez des patients opérés, pour lesquels une mesure directe des débits sanguins et des prélèvements pour mesure des concentrations artérielles et veineuses peut être envisagée. Chez l'homme sain, non opéré, il n'a jamais été possible de différencier *in vivo* le métabolisme hépatique et intestinal. Le métabolisme splanchnique du sujet sain a beaucoup été étudié par l'équipe de Felig et Warren mais une bonne partie de nos connaissances viennent d'études animales.

A titre de synthèse sur la géographie des échanges interorganes des AA nous indiquerons ici les données suivantes. A jeun le territoire splanchnique produit de la citrulline (différence artérioveineuse hépatique négative) : c'est le seul AA produit à jeun par le territoire splanchnique ($37 \pm 12 \mu\text{mol}/\text{min}$)¹²⁹ (cf. 5.4). La production splanchnique de citrulline diminue non significativement après ingestion d'un repas protéique¹²⁹. Le territoire splanchnique joue un faible rôle dans le métabolisme des AA à chaînes ramifiées (leucine, isoleucine, valine) qui, peu extraits par le territoire splanchnique après un repas protéique, sont fortement consommés dans le territoire périphérique (muscle). De plus à jeun ou en post-prandial l'aire splanchnique consomme de l'alanine (un des précurseurs de la néoglucogenèse) et de la glutamine ainsi que de la phénylalanine et de la tyrosine. D'un autre côté c'est le territoire périphérique qui produit, surtout à jeun, la glutamine et l'alanine, alors qu'il n'a aucun effet sur la balance de citrulline. Le territoire splanchnique joue un faible rôle pour la production d'arginine. Par contre le rein est quantitativement l'organe producteur majeur de l'arginine synthétisée *de novo*, donc hors protéolyse¹³³.

Malheureusement ces travaux ne différencient pas l'intestin et le foie. Néanmoins une étude réalisée chez 7 sujets a montré que la concentration de citrulline dans le sang portal (prélevé à partir de la veine ombilicale) est supérieure de 30% par rapport au sang systémique, suggérant une production intestinale, tandis que la glutamine est inférieure (15%), suggérant une consommation intestinale. Dans ce travail il n'y avait pas de différence pour tous les autres AA testés¹³⁴. Windmueller a montré chez le rat que c'est l'intestin et non le foie qui produit la citrulline circulante¹³⁵ (cf. 5.4).

1.2.2.2 Exploration du métabolisme protéique splanchnique *in vivo* chez l'homme à l'aide des traceurs administrés par voie digestive

1.2.2.2.1 Données de la littérature

Méthode des produits terminaux

La première méthode utilisée pour déterminer la cinétique du métabolisme protéique chez l'homme utilisait l'administration en particulier orale ou intragastrique d'un AA marqué sur l'azote (¹⁵N glycine). L'épreuve durait 2 à 3 jours et l'enrichissement était mesuré dans les produits urinaires terminaux du métabolisme protéique, ammoniacque ou urée. Certaines hypothèses faites par ce modèle sont contestables : le maintien d'un état stationnaire métabolique sur plusieurs jours est en particulier difficile à admettre lors de l'alternance physiologique des phases nourries et des phases de jeune. Cette méthode d'exploration du métabolisme protéique à l'aide des produits terminaux est aujourd'hui abandonnée pour être

remplacée par la méthode des «précurseurs» qui raccourcit les épreuves et qui étudie les AA circulants.

Méthode des précurseurs

Elle est utilisée lors de la perfusion veineuse d'AA marqués aux isotopes stables comme la L-[1-¹³C] leucine. Les tentatives d'administration digestive par voie gastrique des traceurs du métabolisme protéique se compliquent d'une difficulté à obtenir un plateau : l'état stationnaire est ainsi difficilement atteint. Ceci est reflété par un important CV des enrichissements plasmatiques obtenus. Dans la majorité des études publiées les CV ne sont pas précisés. Néanmoins une étude permet de calculer des CV intra sujets pour la ¹³C leucine intragastrique qui vont jusqu'à 40% à l'état post-absorptif alors que ceux-ci ne dépassent pas 15% à l'état nourri ¹³⁶. Il est à noter que plusieurs auteurs ¹³⁷⁻¹³⁹ ont utilisé pour déterminer que le plateau obtenu était correct une méthode de régression linéaire, en postulant qu'une pente non significativement différente de 0 (corrélation non significative avec $P > 0.05$) permettait de juger de l'obtention du plateau. Néanmoins cette modalité de calcul apparaît moins rigoureuse que le calcul du CV car : a) la pente peut n'être pas différente de 0 alors que les enrichissements varient en fonction du temps, b) une pente non différente de 0 ne veut pas dire qu'elle est égale à 0 (l'hypothèse nulle d'un test ne peut être acceptée mais est seulement rejetée ou non).

1.2.2.2.2 Concept et principe de l'extraction splanchnique (Figure 6)

L'administration (simultanée ou non), par perfusions continues intraveineuses et digestives (le plus souvent gastrique), d'AA marqués aux isotopes, pour l'étude *in vivo* chez l'homme du métabolisme protéique splanchnique à l'état post-absorptif ¹³⁶⁻¹⁴¹ et à l'état nourri par voie entérale a montré, en cas de débits d'administration identique des traceurs veineux et digestifs, des enrichissements plasmatiques après administration digestive constamment plus faibles que les enrichissements obtenus après perfusion veineuse. Bien que ceci ne soit pas formellement démontré l'absorption du traceur est supposée totale, ainsi l'absorption de glutamine atteint déjà plus de 80% sur un segment jéjunal humain de 30 cm ¹⁴². La différence des enrichissements obtenus entre les 2 voies est alors expliquée par l'effet de premier passage splanchnique, intestinal et hépatique, de l'AA. En tenant compte des enrichissements et débits de perfusion des traceurs veineux et digestifs, le calcul de l'«extraction splanchnique de premier passage» (coefficient f) ^{137,139} est ainsi possible. Celui-ci correspond aux réactions de transamination, oxydation (uréogénèse) et/ou d'incorporation dans les synthèses protéiques. Les tissus intestinaux et hépatiques utilisant de façon différente les AA - par exemple : utilisation notamment énergétique de la glutamine par l'intestin, oxydation de la phénylalanine en tyrosine par le foie - les fractions respectives d'extraction de premier passage splanchnique sont

différentes d'un AA à l'autre. Son complément à 1 est la biodisponibilité. En résumé, l'extraction splanchnique concerne 60 à 80% des AA absorbés, notamment pour la production d'urée, à l'exception des AA branchés. Elle permet à l'aminoacidémie de rester dans les limites physiologiques même au cours d'une charge protéique orale élevée.

A l'état post-absorptif les valeurs moyennes suivantes de f ont été retrouvées chez l'homme sain : 20% pour la leucine ^{137,138}, 30% pour la phénylalanine ¹⁴⁰, 45% pour l'arginine ¹⁴¹, 50 à 75% pour la glutamine ^{139,143}, 90% pour l'acide glutamique ¹³⁹. A l'état nourri le calcul des coefficients d'extraction splanchnique varie de 15% à 29% ^{136,138,139} pour la leucine chez l'adulte, 48% pour la leucine chez le prématuré, 30% pour la lysine, 31% à 58% pour la phénylalanine ^{144,145}, 35% pour l'arginine ¹⁴¹. Les coefficients d'extraction splanchnique semblent varier d'un sujet à l'autre : CV inter sujet à 82% à jeun contre 46.6% à l'état nourri. Ils pourraient également varier en fonction de la situation nutritionnelle ^{136,141,144}, de la croissance, des différents traceurs d'un même AA ¹⁴⁶.

Ainsi les difficultés d'obtention du plateau (surtout à l'état post-absorptif) et l'extraction splanchnique caractérisent l'exploration du métabolisme protéique lors de l'administration digestive de traceurs. C'est ainsi que selon les modalités décrites le coefficient d'extraction splanchnique calculé *in vivo* est d'utilisation difficile. L'exploration du métabolisme par voie digestive nécessite donc une amélioration des conditions du modèle. Ils nous ont incité à proposer une optimisation de l'administration digestive des traceurs, ce qui a été notre 1^{ère} étape vers la recherche d'un marqueur de la masse intestinale absorbative.

FIGURE 6. Principe de l'extraction splanchnique (d'après Matthews : Am J Physiol 1993 ; 26 : E110).

1.2.3 Acides aminés à «métabolisme intestinal privilégié»

Le grêle, du fait de ses nombreuses fonctions métaboliques, nutritionnelles et immunologiques et de ses besoins protéino-énergétiques élevés liés à son intense renouvellement cellulaire et protéique, joue un rôle dans le métabolisme de la plupart des AA. Néanmoins il joue un rôle prépondérant pour certains d'entre eux, notamment pour la production de la quasi-totalité de la citrulline circulante, à partir d'un précurseur, la glutamine^{135,147}. Il est ainsi au premier chef impliqué dans le métabolisme de certains AA, que nous appellerons à «métabolisme intestinal privilégié» par analogie à ce qui est décrit pour le foie (phénylalanine-tyrosine) ou le muscle (AA à chaîne ramifiée). Parmi ces AA à «métabolisme intestinal privilégié» une abondante littérature a été consacrée au métabolisme intestinal de la glutamine, pour lequel le grêle est un organe cible majeur. En préambule signalons que les activités enzymatiques et les diverses voies métaboliques intestinales sont susceptibles d'être modifiées en fonction des conditions et du moment d'étude. Ainsi par exemple le sevrage de l'allaitement se caractérise par une maturation enzymatique au passage d'une alimentation essentiellement lipidique à une alimentation essentiellement glucidique¹⁴⁸.

1.2.3.1 Méthodes d'étude de la fonction métabolique de l'intestin

In vitro Les cultures cellulaires sur lignées humaines établies (Caco2, HT-29...), d'origine colique et donc du compartiment des cryptes intestinales, en sus de problèmes de polarisation –sauf lors d'utilisation de «monocouches»– sont d'origine néoplasique et donc potentiellement métaboliquement différentes des entérocytes «natifs». Les entérocytes isolés de l'épithélium intestinal après dissociation des couches non muqueuses et «lavage» de la lumière intestinale sont à durée de vie limitée (quelques heures). Les biopsies (étude *ex vivo*) permettent par exemple la détermination des activités enzymatiques maximales potentielles et l'expression ou la synthèse d'enzymes ou de transporteurs dans des conditions d'études données. Les études sur vésicules de bordure en brosse et de membranes basolatérales sont utiles pour préciser les caractéristiques du transport entérocytaire d'un substrat. Les préparations d'intestin isolé et perfusé (vaisseaux mésentériques supérieurs et lumière), intermédiaires entre le *in vivo* et le *in vitro* (il faut divers agents pharmacologiques pour le maintien en survie des préparations), combinées à l'utilisation de traceurs, ont fourni la preuve que l'intestin avait des fonctions métaboliques très actives¹⁴⁹. L'étude d'intestins isolés, voire de biopsies, en chambre de Ussing, préservant la polarisation, permettent l'étude couplée du transport et du métabolisme intestinal¹⁵⁰. Ces préparations ne permettent pas de différencier la part de ce qui revient aux entérocytes ou aux lymphocytes.

In vivo Le cathétérisme avec mesure des concentrations et débits à divers sites (notamment artériel et portal) est uniquement utilisable chez l'animal ou en peropérateur dans des conditions non forcément physiologiques. Les tests respiratoires (breath tests) peuvent fournir un indice indirect de certains aspects du métabolisme intestinal et sont utilisés en clinique. Chez l'homme les techniques de mesure de synthèse protéique fractionnelle, reflet de la vitesse d'incorporation d'un traceur isotopique dans la muqueuse intestinale prélevée sous endoscopie, se sont développées^{113,151}.

Dans nos travaux nous avons travaillé *in vivo* chez des malades avec insuffisance intestinale chronique en normalisant les facteurs possibles de variation (autres insuffisances viscérales, caractéristiques anatomiques, apport oraux et parentéraux, stabilité métabolique, état nutritionnel).

1.2.3.2 Glutamine

La glutamine est l'AA le plus abondant de l'organisme (dans le plasma ou les tissus), la première navette azotée entre les organes, le principal carburant des cellules à renouvellement rapide, un précurseur majeur pour la néoglucogenèse et l'uréogenèse, le précurseur de l'ammoniogenèse rénale, et un donneur d'azote pour la synthèse des acides nucléiques. Parmi ces rôles physiologiques multiples, la glutamine participe au maintien de la balance azotée. En outre foie et intestin sont des «organes cibles» privilégiés de la glutamine car a) par ses deux radicaux azotés, la glutamine est le précurseur majeur de l'uréogenèse hépatique et b) par son squelette carboné, elle est à la fois le principal précurseur de la néoglucogenèse hépatique et la première source d'énergie de l'intestin grêle. Il est estimé qu'environ 20 à 35% de la production, essentiellement d'origine musculaire, de glutamine est utilisé par l'intestin. La glutamine paraît, au moins chez l'animal, également indispensable au maintien de la trophicité de l'épithélium duodéno-jéjunal. La connaissance de ces rôles physiologiques fait entrevoir l'utilisation potentielle de la glutamine en thérapeutique, soit comme agent anabolisant dans les situations de catabolisme azoté, soit comme agent trophique pour l'intestin¹⁵².

Le rôle physiologique de la glutamine dans l'intestin (**Tableau 5**) est étudié de façon intensive chez l'animal depuis une trentaine d'années. Dans de multiples espèces animales, la glutamine est captée par l'intestin en plus grande quantité qu'aucun autre AA : son extraction par l'intestin atteint 20% de la glutamine circulante chez le rat.

Tableau 5. Principaux rôle de la glutamine dans l'intestin.

Carburant des entérocytes (1/3 à 2/3 des besoins métaboliques entérocytaires)
Précurseur pour la synthèse d'alanine
Stimulation de l'absorption du sodium (voie luminale)
Stimulation de la synthèse protéique (effet trophique) ; incorporation dans les protéines
Précurseur des bases puriques et pyrimidiques
Effet sur le système immunitaire intestinal ?
Précurseur du glutathion
Interconversion en AA (voie de la P5CS ^a)

^a pyrroline-5-carboxylate synthase (appartient au «glutamate crossway»). Cet aspect sera détaillé plus loin (cf. 5.4). Cette voie pourrait concerner approximativement 5% du flux de la glutamine, contre environ 50 à 75% du flux de glutamine destiné à l'intestin pour l'oxydation.

Glutamine : carburant de l'entérocyte

La glutamine est la première source d'énergie des entérocytes ¹⁵³. Chez le rat à jeun, son oxydation (pôle vasculaire) en CO₂ couvre 35% des besoins énergétiques de l'intestin grêle contre 50% pour les corps cétoniques ; cette contribution s'accroît à plus de 70% en phase nourrie (pôle luminal et vasculaire). L'enzyme responsable de l'entrée de la glutamine dans le cycle de Krebs pour la fourniture d'énergie est l'alanine aminotransférase qui catalyse la formation d'alanine (précurseur de la néoglucogénèse hépatique) et d' α -cétoglutarate, ce dernier entrant dans le cycle de Krebs. Lorsque glutamine et glucose sont apportés par voie luminale chez le rat, et bien que l'intestin capte des quantités voisines de glucose et de glutamine, le glucose apparaît en majeure partie (97%) intact dans la circulation portale et contribue peu au métabolisme énergétique de la muqueuse, puisqu'il est oxydé en CO₂ que pour une fraction minime (3%) par l'intestin ; en revanche 66% de la glutamine captée dans la lumière sont oxydés en CO₂ dans la muqueuse. La glutamine est utilisée d'avantage dans le jéjunum que dans l'iléon. Ce gradient décroissant d'utilisation reflète l'activité décroissante de la glutaminase phosphate dépendante (EC 3.5.1.2), enzyme mitochondriale de déamidation de la glutamine en glutamate, le long du tube digestif, et se traduit par des concentrations de glutamine libre plus faibles (2 à 3 mmol/l) dans les entérocytes jéjunaux qui utilisent activement la glutamine que dans les colonocytes (8-10 mmol/l) qui l'utilisent moins ¹⁵⁴. La glutaminase a un Km 10 fois plus faible dans l'intestin que le foie. De plus la muqueuse jéjunale est le tissu de l'organisme où la glutaminase a la plus forte activité ¹³¹. La captation et l'utilisation de glutamine (ainsi que l'expression de la glutaminase) s'accroît dans l'intestin de

rat traité par les corticoïdes, alors que celle du glucose est réduite, et dans l'intestin de chien soumis à un stress chirurgical. Par contre l'utilisation de glutamine est réduite par l'infection ou l'injection d'endotoxine ¹⁵⁵, parallèlement à une diminution de l'extraction intestinale d'oxygène. Ceci favoriserait un «stress métabolique» de l'intestin et la translocation bactérienne. La glutamine intracellulaire musculaire et circulante est abaissée au cours du stress. L'effet de la voie d'apport nutritionnel sur l'utilisation des carburants intestinaux reste discuté ¹⁵⁶.

Glutamine et transport de sodium

Le transport de la glutamine au niveau de la bordure en brosse des entérocytes est couplé au sodium ¹⁵⁷. Les solutés contenant de la glutamine sont capables de stimuler l'absorption d'électrolytes lors des diarrhées expérimentales induites par des bactéries ¹⁵⁸ ou le rotavirus ¹⁵⁹. Cet effet est additif avec celui du glucose et a fait envisager l'utilisation de solutés à base de glutamine dans le traitement des diarrhées, en association avec les solutés classiques à base de glucose de l'OMS ¹⁶⁰. Par rapport au glucose, la glutamine a pour avantage théorique d'apporter, en plus d'un stimulus de l'absorption de sodium, une source d'énergie pour la muqueuse malade. Dans le SGC de type 1 (jéjunostomie) la solution de réhydratation avec glutamine et maltodextrines n'améliore pas l'absorption sodée par rapport à une solution OMS classique isotonique ¹⁶¹.

Glutamine, trophicité muqueuse et «barrière» intestinale

La glutamine améliore la trophicité de la muqueuse de l'intestin grêle dans plusieurs modèles expérimentaux. Ainsi l'infection et le «repos digestif» par mise sous NP totale exclusive entraînent une atrophie muqueuse rapide chez le rat (mais ce fait n'a jamais été démontré chez l'homme). Cet effet est atténué par l'addition de glutamine à la NP ^{162,163}. De même, la glutamine atténue l'entérite toxique induite par la chimiothérapie au méthotrexate chez le rat ¹⁶⁴. Cet effet pourrait impliquer une stimulation de la synthèse protéique intestinale mesurée *in vivo* ¹⁶³, ou *in vitro* sur entérocytes isolés de rat ou des préparations de muqueuse iléale ou colique humaine *in vitro* ¹⁶⁵. La stimulation de la synthèse protéique pourrait être liée à l'apport d'énergie puisque l'effet est aboli lorsque la glutamine est apportée en même temps qu'un inhibiteur de son oxydation, et reproduit par les corps cétoniques, autres substrats énergétiques de l'entérocyte de rat. L'apport de glutamine empêche l'atrophie muqueuse liée à l'irradiation si elle est apportée à titre préventif, mais n'est pas capable de corriger l'atrophie une fois les lésions constituées.

L'intestin grêle normal représente une barrière efficace à la pénétration des bactéries intestinales dans la circulation. L'alimentation par des régimes «élémentaires» augmente la

«translocation» bactérienne de l'intestin vers le sang circulant chez le rat ; l'atténuation de la translocation par la supplémentation en glutamine est controversée. L'effet trophique de la glutamine a suscité des études dont l'objectif était d'augmenter la masse cellulaire muqueuse après résection intestinale ou transplantation intestinale. Mais chez le rat ayant subi une résection de 70% du jéjuno-iléon, la supplémentation d'un régime oral en glutamine pendant 2 semaines n'a pas amélioré la trophicité de l'épithélium restant, jugée sur le contenu en ADN et en protéines et l'activité de la sucrase-isomaltase ¹⁶⁶. Au contraire, dans une autre étude, les mêmes critères étaient nettement améliorés par une semaine de NP exclusive supplémentée en un dipeptide de glutamine, chez des rats ayant subi une résection intestinale étendue ¹⁶⁷. Après transplantation intestinale chez le rat la hauteur villositaire et l'absorption intestinale de glucose dans le greffon étaient améliorées par la supplémentation en glutamine, qu'elle soit entérale ou parentérale ¹⁶⁸.

Les mécanismes de l'effet trophique et protecteur potentiel de la barrière intestinale aux germes par la glutamine ne sont pas bien élucidés. Ils pourraient impliquer l'un des mécanismes suivants ou une combinaison de plusieurs d'entre eux :

- un effet purement nutritif car l'apport d'énergie augmente la synthèse de protéines intestinales ;
- une stimulation de la synthèse d'acides nucléiques, puisque la glutamine est un donneur d'azote pour la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, dans toutes les cellules à multiplication rapide comme les cellules en culture ;
- une stimulation du système immunitaire intestinal ou de l'ensemble de l'organisme, puisque la glutamine est le carburant principal des lymphocytes et macrophages ¹⁶⁹ et augmenterait la sécrétion d'IgA ¹⁷⁰ ;
- une augmentation du débit vasculaire dans le territoire splanchnique ¹⁷¹ ;
- une synthèse accrue d'arginine, synthétisée dans le rein à partir de la citrulline, elle-même produite dans la muqueuse du grêle à partir de la glutamine ¹³⁵ (cf. 5.4.1) ; l'arginine est un précurseur de NO^o et a des effets immunostimulants ;
- une synthèse accrue de glutathion : ce tripeptide (γ -glutamyl-cystéyl-glycine) est synthétisé en abondance dans le foie et l'intestin ¹⁷², et joue un rôle crucial dans la défense contre les agressions par le stress oxydant ; sa synthèse semble dépendre de l'apport en cystéine, mais pourrait être stimulée aussi par la glutamine ;
- une synthèse accrue de polyamines, car *in vitro* sur lignée intestinale animale la glutamine est un puissant stimulant l'ODC (ornithine décarboxylase) ¹⁷³

- une potentialisation de l'action de divers facteurs de croissance et un effet mitogénique direct (action sur les MAP-kinase et JN-kinase) ¹⁷⁴
- une amélioration de l'état nutritionnel et/ou du bilan azoté qui pourrait renforcer les défenses immunitaires de façon non spécifique. Cet effet anabolique de la glutamine pourrait être soit un effet direct, par exemple via des modification du volume cellulaire («swelling») ¹⁷⁵, soit médié par une sécrétion accrue d'hormone de croissance ¹⁷⁶.

La glutamine dans l'intestin humain

Les données concernant l'espèce humaine sont fragmentaires. Les entérocytes humains isolés oxydent la glutamine avec autant d'avidité que ceux du rat ¹⁷⁷. L'utilisation de glutamine au niveau du corps entier, mesuré par perfusion intraveineuse de glutamine marquée aux isotopes stables, est abaissée de 20% chez des patients adultes ¹⁷⁸ ou enfant ¹⁷⁹ ayant subi une résection intestinale étendue (SGC). Cette réduction s'observe même chez les patients en bon état nutritionnel, à distance de la chirurgie, et sevrés de la nutrition artificielle : elle suggère à contrario que la consommation de glutamine circulante par l'intestin grêle humain intact à jeun représente au moins 20% du flux de glutamine au niveau du corps entier soit 17 g/j (le flux interorgane de glutamine mesuré par méthodes de dilution isotopique est d'environ 350 $\mu\text{mol/kg.h}$ soit 85 g/j ¹⁸⁰).

La glutamine est présente dans les protéines alimentaires. On peut estimer son apport quotidien aux alentours de 5 à 7 g/j chez un adulte consommant 100 g de protéines par jour. Elle est absorbée très efficacement dans l'intestin grêle humain : plus de 80% de doses de glutamine représentant 2 à 4 fois un apport quotidien moyen sont absorbés sur 30 cm de jéjunum ¹⁴² ; les paramètres cinétiques de cette absorption très rapide sont proches de ceux du glucose. Lorsque la glutamine naturelle est apportée par voie digestive, l'utilisation d'un double marquage (2 traceurs de glutamine apportés, l'un par voie veineuse, l'autre par voie entérale) montre qu'environ 75% d'une faible dose et 50% d'une forte dose de glutamine sont extraits dans le territoire splanchnique, tant chez l'adulte ^{139,143} que chez le nouveau-né ¹⁸¹. Le reste, 25 à 50%, apparaît dans la circulation générale : cela suggère que la voie entérale puisse, en théorie, être utilisée pour apporter la glutamine non seulement à l'intestin, mais aussi au reste de l'organisme. Si l'on administre du glutamate 90% de ce dernier, neuromédiateur excitateur potentiellement toxique, est extrait par le territoire splanchnique ¹³⁹, probablement (chez le porc) plus par l'intestin que par le foie, notamment pour la synthèse de glutathion ¹⁸².

En dehors des situations d'agression (hypercatabolisme), les bénéfices de la glutamine semblent faibles et/ou difficiles à déceler. Ainsi l'apport de glutamine, sans GH, paraît sans

bénéfice chez des patients stables en NPAD au long cours, et une discrète élévation des transaminases et de l'ammoniémie est observée ¹⁸³. Par contre, chez le sujet malade, son adjonction aux solutés de NP pourrait améliorer la trophicité de l'intestin en jeune luminal ¹⁵².

Influence de la résection intestinale sur le métabolisme de la glutamine

Chez l'homme en état nutritionnel stabilisé le flux de glutamine est réduit de 20% après résection intestinale massive alors que ses concentrations ne sont pas abaissées ^{178,184}. Dans les heures qui suivent une résection intestinale chez le chien la concentration de glutamine artérielle s'élève, par augmentation de la production musculaire liée au stress chirurgical et à la chute de la consommation intestinale. La glutaminémie s'abaisse secondairement ¹⁸⁵ et l'extraction de glutamine par gramme de grêle restant est accrue dans les jours suivant la résection ¹⁸⁶. Ces travaux suggèrent donc que l'organisme s'adapte à long terme à la disparition d'un organe consommateur en réduisant la production endogène de glutamine. Cette adaptation pourrait faire intervenir un rétrocontrôle de la concentration circulante de glutamine, élevée à la phase initiale, sur la production en particulier musculaire de glutamine.

1.2.3.3 Citrulline-arginine

Cet aspect sera particulièrement développé plus bas (paragraphe 5.4) avec les aspects métaboliques qui nous ont servi de rationnel pour proposer la citrullinémie en tant que marqueur de la masse intestinale absorptive.

1.2.3.4 Autres acides aminés

Proline

Il s'agit d'un AA non essentiel apporté par l'alimentation (car contenu dans les prolamines notamment) et contenu dans les protéines endogènes (collagène en particulier d'où son importance pour la cicatrisation). La proline endogène peut être néosynthétisée à partir de l'acide glutamique [voie faisant intervenir la P5CS ou pyrroline 5 carboxylate synthase, complexe enzymatique bidirectionnel de la membrane interne mitochondriale d'expression majoritairement intestinale (cf. 5.4.1)] ou de l'ornithine (voie de l'OAT ou ornithine aminotransférase). Le P5C (pyrroline-5-carboxylate) est le précurseur intracellulaire de la proline, cette dernière étant formée après réduction du précurseur par la P5CR (enzyme cytosolique). La voie du glutamate («glutamate crossway»: glutamate-P5C-proline) est essentiellement intestinale ¹⁸⁷. La conversion de proline en glutamate y est peu importante, contrairement au foie. La voie de l'ornithine (ornithine-P5C-proline) serait surtout hépatique et musculaire. La dégradation de la proline est essentiellement hépatique : conversion en ornithine pour l'uréogénèse ou en glutamate pour la néoglucogénèse. Il semble probable qu'après résection intestinale d'autres organes puissent prendre le relais de l'intestin (foie,

muscle) pour la production (néosynthèse et protéolyse) de proline car sa concentration plasmatique est inchangée tant chez l'animal ¹⁸⁸ que chez l'homme [résultats personnels]. Par contre l'insuffisance hépatique chronique s'accompagne d'une hypoprolinémie ¹²⁶. En fait les études isotopiques *in vivo* chez l'homme suggèrent que la synthèse *de novo* de proline est faible ou négligeable par rapport à la protéolyse et aux apports exogènes ¹⁸⁹. Chez le poulet et le jeune porc la proline est un AA semi-essentiel, peut être du fait de l'absence de P5CS intestinale.

Ornithine

L'ornithine, AA non protéique, est utilisé dans l'intestin : c'est un précurseur pour les polyamines et la proline mais très peu pour la citrulline après administration orale ¹⁹⁰. Il stimule la sécrétion de GH et donc d'IgF1. Après résection intestinale massive l'ornithinémie n'est pas significativement différente des sujets contrôles [¹⁸⁸, résultats personnels].

Taurine

La taurine est le produit terminal de la dégradation des AA soufrés (méthionine et cystéine), dont la concentration plasmatique est diminuée en cas de SGC ¹⁹¹. Cet AA non protéique intervient dans la composition des acides biliaires primaires tauro-conjugués. Une carence en taurine est notée chez les patients ayant subi une résection iléale longue, du fait de l'interruption du cycle entéro-hépatique. Il est probable que la carence en taurine et le déficit en acides biliaires tauro-conjugués qu'elle entraîne du fait de la diminution de son pool splanchnique, interviennent dans la pathogénie de la cholestase associée à la NP de longue durée, dont la prévalence pourrait diminuer après supplémentation parentérale en taurine.

En ce qui concerne les AA à métabolisme intestinal privilégié on retiendra donc tout particulièrement que le grêle est l'organe cible de la glutamine qui est l'AA le plus abondant de l'organisme. Son rôle dans l'entérocyte y est multiple.

1.3 Outils et objectifs de la recherche

1.3.1 Outils de la recherche

Dans nos travaux personnels nous avons notamment utilisé les techniques suivantes :

- les méthodes biostatistiques uni et multivariées, indispensable à toute modélisation des phénomènes bio-médicaux, acquis par les certificats de maîtrise de Sciences Biologiques et Médicales, le CESAM et au cours du DEA. Ces analyses biostatistiques ont été effectuées essentiellement au moyen du logiciel SPSS (Chicago, Illinois, USA) version 7.5. Nous rappellerons en préalable que ces méthodes, notamment celles utilisant les coefficients de

corrélation, ne fournissent pas la «preuve» d'une causalité : seules la force des associations et la plausibilité biologique basée sur des expériences extrinsèques donnent une cohérence fortement en faveur des hypothèses testées.

L'indice validé de dénutrition que nous avons utilisé, pour tous nos travaux, a été l'indice clinique de Detsky ¹⁹². En effet les indices biologiques de dénutrition sont moins performants que les indices cliniques : l'indice de Detsky a, après apprentissage, une bonne (78%) reproductibilité entre observateurs indépendants et une meilleure valeur prédictive positive et négative de complications post-opératoires que des variables biologiques nutritionnelles isolées ou associées à l'anthropométrie ¹⁹³. L'indice de Detsky permet de classer les patients selon un «rang» de dénutrition (normal, dénutrition modérée, dénutrition sévère) donné subjectivement après recueil de l'anamnèse et de l'examen. Nous n'avons pas utilisé l'indice de Buzby ¹⁹⁴, qui combine variations de poids et albuminémie, ni l'indice de Reilly ¹⁹⁵ qui est un score de risque nutritionnel.

- la méthode des traceurs isotopiques stables pour l'étude du métabolisme protéique, acquis au cours de notre DEA, de façon à proposer une méthode pour étudier avec précision le métabolisme splanchnique.

- la méthode des bilans d'absorption intestinale sur 3 jours. Les bilans d'absorption ont été réalisés avec le concours de Mme M.C. Morin, diététicienne, pour les enquêtes alimentaires, et du laboratoire de Biochimie du groupe hospitalier Lariboisière-Saint-Lazare (responsable : Dr F. Thuillier).

- la méthode des aminoacidogrammes, exploration métabolique utilisable sur de grandes séries de malades. Le dosage plasmatique des AA a été effectué dans le laboratoire spécialisé de Biochimie de l'Hôpital Saint-Antoine (Dr C. Coudray-Lucas, Pr. L. Cynober).

Nos travaux ont été réalisés sur des volontaires sains (**Article 2**), à l'unité INSERM 290, et sur des patients adultes (**autres Articles**), inclus pour un certain nombre d'entre eux dans le programme de Nutrition Parentérale à Domicile du centre agréé d'Ile de France (responsable : Pr. B. Messing), basé dans le groupe hospitalier Lariboisière-Saint-Lazare.

1.3.2 Objectifs de la recherche

Plusieurs étapes ont structuré l'évolution de nos travaux.

1.3.2.1 Détermination des facteurs de mortalité et de dépendance à la nutrition parentérale dans le syndrome de grêle court

Il s'agit de la *modélisation clinique de l'insuffisance intestinale*. Elle a pris pour base de malades la sous-population majoritaire des insuffisants intestinaux, les patients porteurs d'un

SGC. En effet il n'existait dans la littérature, avant nos travaux, aucune donnée actuarielle sur la survie et la dépendance à la NP chez ce type de patient. Nous avons appliqué pour notre modélisation, sur la base des patients avec grêle court suivi depuis 1980 dans 2 centres agréés de NPAD français, celui d'Ile-de-France et celui de la région Poitou-Charente (coordonné par le Dr P. Beau), les modèles de survie que sont la méthode de Kaplan-Meier (avec le test du log-rank pour l'analyse univariée) et le modèle de Cox (pour l'analyse multivariée) avec l'objectif de préciser et de quantifier les divers paramètres explicatifs des 2 variables à modéliser. Par ailleurs nous avons déterminé, au moyen de la méthode de classification des données par «analyse linéaire discriminante», les césures («cutoff») séparant au mieux, en fonction de la longueur de grêle et du type d'anastomose, les patients insuffisants intestinaux permanents et les patients insuffisants intestinaux transitoires dont nous avons proposé une définition.

1.3.2.2 Optimisation de l'administration digestive des traceurs isotopiques pour l'étude du métabolisme splanchnique des acides aminés

Le territoire splanchnique et l'intestin grêle jouant un rôle quantitatif et qualitatif important dans le métabolisme protéique et les échanges interorganes d'AA notre approche du problème a été d'améliorer la méthode d'exploration du métabolisme splanchnique. La perfusion digestive des traceurs du métabolisme protéique se caractérisant par une difficulté dans l'obtention de l'état stationnaire, notre objectif a été ainsi d'optimiser, chez le sujet sain, l'administration des traceurs dans le tube digestif, en utilisant diverses modalités d'administration des traceurs isotopiques.

1.3.2.3 Validation d'un marqueur biologique de la masse entérocytaire, la concentration plasmatique de citrulline, après évaluation anatomique et fonctionnelle de la masse intestinale

Après nous être intéressé au métabolisme splanchnique des AA, nous sommes plus spécifiquement focalisé sur les AA à «métabolisme intestinal privilégié», plus susceptible d'être spécifiquement perturbés dans l'insuffisance intestinale. C'est ainsi qu'à l'articulation de ces 2 thèmes, la citrulline nous est apparu, sur la base des pré-requis biochimiques et physiologiques des modèles animaux (cf. 5.4), prometteur. Nous avons fait l'hypothèse originale que sa concentration plasmatique post-absorptive pouvait constituer un marqueur de la masse entérocytaire et donc de l'insuffisance intestinale. Un tel marqueur, utilisable en pratique, était inexistant dans la littérature avant nos travaux.

Après avoir anatomiquement, par mesure sur radiographie du grêle, déterminé la masse intestinale restante, puis physiologiquement, par l'intermédiaire des bilans

d'absorption, déterminé les facteurs explicatifs de l'absorption intestinale des lipides et des protéines, et étudié le rôle de l'hyperphagie dans l'adaptation intestinale, nous avons eut pour objectif de valider la citrullinémie comme marqueur de la masse entérocytaire dans le SGC. Nous avons poursuivi notre validation de la citrullinémie dans un 2^{ème} type d'affection pouvant s'accompagner d'insuffisance intestinale, le SAV. Il s'agit de la *modélisation biochimique de l'insuffisance intestinale*. Le 3^{ème} type d'insuffisance intestinale (POIC), dans lequel la masse entérocytaire pourrait être normale, sera présenté sous forme de quelques résultats préliminaires. Nous avons également vérifié sur une cohorte de patient dénutris «purs» (marasme de type anorexie mentale) la non influence directe de l'état nutritionnel sur la citrullinémie. Enfin nous avons confirmé notre hypothèse après transplantation intestinale pour insuffisance intestinale permanente chez l'homme.

2 MODELISATION CLINIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE POST-CHIRURGICALE

Article 1 LONG-TERM SURVIVAL AND PARENTERAL NUTRITION DEPENDENCE IN ADULT PATIENTS WITH THE SHORT BOWEL SYNDROME

Gastroenterology 1999; 117: 1043-50

2.1 Présentation de l'étude

Avant nos travaux il n'existait dans la littérature aucun chiffre actuariel des facteurs pronostics pour la survie et la dépendance à la nutrition parentérale dans le SGC de l'adulte, 1^{ère} cause d'insuffisance intestinale chronique. Un travail ²⁴ a étudié, par méthode actuarielle, le rôle des facteurs anatomiques influençant l'autonomie nutritionnelle orale dans le SGC mais non la dépendance à la NP proprement dite. Les études américaines ^{196,197} et française ⁶ ont étudié le pronostic des patients en NPAD sans spécifier les chiffres pour le SGC.

2.1.1 Population étudiée. Justificatif. But

Nous avons étudié par questionnaire les patients avec SGC (n=124) issus de 2 centres agréés de NPAD, recrutés sur une période de 13 ans, représentatifs des patients pouvant développer une insuffisance intestinale sévère ⁶ et exempt d'atteinte extra-intestinale sévère initiale et de néoplasie évolutive. La mesure de grêle restant a utilisé l'opisométrie sur transit baryté du grêle [¹⁸, **Article 3**]. Notre but a été de fournir les facteurs prédictifs chiffrés des 2 variables, survie et dépendance à la NP, pour obtenir une approche plus rigoureuse dans la sélection des patients éventuellement candidat à une thérapeutique alternative à la NPAD.

2.1.2 Méthodes statistiques d'analyse (modélisation)

Nos logiciels de travail ont été SPSS et BMDP.

Analyse univariée de la survie et de la dépendance à la NP

Le calcul et la représentation de la survie et de la dépendance à la NP a utilisé la méthode de Kaplan-Meier. Les taux de survie (ou de survenue d'un événement binaire, ici également celle du sevrage effectif, *i.e.* prolongé sans constitution d'une dénutrition sur un période d'au moins 1 an après l'arrêt de la NP) en fonction du temps ont été estimés par un calcul de probabilités conditionnelles. Il s'agit de la probabilité de survivre X+1 jours sachant qu'on a survécu X

jours. Graphiquement la courbe de survie se compose de paliers successifs. Les 2 modèles ont eut un point d'origine potentiellement différent en fonction des patients. La survie a été calculée à partir du moment de la résection. De façon à tenir compte du temps de développement potentiellement maximum de l'adaptation intestinale la dépendance à la NP a été calculée à partir du dernier montage chirurgical, *i.e.* en tenant compte d'un éventuel rétablissement de continuité secondaire qui a concerné 52 patients soit 42%. Il s'agit de données dites «censurées à droite» car la majorité des sujets étaient vivants à la date des dernières nouvelles et une partie toujours dépendant à la NP, que nous avons alors considérée comme permanente ou «irréversible», le recul minimum étant de 40 mois par rapport à la fin de l'inclusion, sauf pour les patients décédés. La comparaison univariée des courbes de survie a utilisé le test du log-rank. Cette statistique suit une loi du χ^2 .

Analyse multivariée de la survie et de la dépendance à la NP

Elle a utilisé le modèle de Cox ¹⁹⁸. Ce modèle, à la structure mathématique relativement complexe et à l'utilisation délicate, permet d'étudier simultanément plusieurs facteurs explicatifs d'une variable binaire à modéliser, sans donner aux fonctions de survie (prises dans leur définition large) des formes paramétriques précises. Il permet d'identifier les facteurs statistiquement «indépendants», en éliminant les facteurs redondantes, et détermine la force des associations («odd ratio», ou par approximation «risque relatif», avec intervalle de confiance à 95%).

Survie relative (univariée et multivariée)

Cette méthode permet un ajustement sur la mortalité d'une cohorte fictive de même structure d'âge et de sexe issu de la population générale, ici Française, pendant la période considérée ¹⁹⁹ : il s'agit donc d'un ajustement sur la mortalité attendue. Cette analyse a été effectuée par le logiciel RELSURV 1.0 (Strasbourg, France).

Analyse linéaire discriminante de la dépendance à la NP

Il s'agit d'une méthode de classification des données permettant de déterminer s'il existe une césure («cutoff») pour une variable quantitative (ici la longueur de grêle restant) séparant avec une sensibilité (peu de faux négatifs) et une spécificité (peu de faux positifs) optimales les observations par rapport à une variable binaire (ici le sevrage effectif ou non de la NP, avec analyse séparée en fonction des 3 types anatomiques).

2.2 Résultats et perspectives

L'insuffisance intestinale permanente, *i.e.* irréversible ou définitive, atteint moins de 50% des patients avec SGC, plus de la moitié des patients ayant présenté une insuffisance intestinale

transitoire (au bout du compte partiellement ou totalement réversible car «adaptable») qui a permis un sevrage de NP dans les mois suivant l'intervention chirurgicale. Ce travail nous a permis d'établir les facteurs pronostics du SGC «non malin» et une *définition clinique* de l'insuffisance intestinale chronique. L'insuffisance intestinale se manifeste par un bilan énergétique et/ou hydro-électrolytique négatif avec la nécessité de poursuivre, pour obtenir l'équilibre ou positiver le bilan, soit une NP complète (*i.e.* totale), soit un apport hydro-électrolytique intraveineux sous forme de suppléments. Nous proposons d'utiliser le critère du sevrage effectif ou non de la NP tel que nous l'avons défini : l'absence de constitution d'une dénutrition significative dans l'année suivant l'arrêt de la NP signifie que le patient a présenté une insuffisance intestinale transitoire (et donc aiguë ou subaiguë), dans le cas contraire il s'agit d'une insuffisance intestinale chronique permanente, sous réserve pour cette catégorie du respect de la période adaptative (2 ans). Chez les patients ayant présentés une insuffisance intestinale aiguë ou subaiguë un certain degré de malabsorption peut persister (cf. **Articles 4 et 5**). Il est clair que notre définition de l'insuffisance intestinale est «qualitative» et qu'elle ne quantifie pas la dépendance à la NP, comme nous l'avons fait dans notre modélisation biochimique (cf. **Article 5**) : la sévérité de l'insuffisance intestinale chronique des patients restant à 2 perfusions de NPAD par semaine n'est pas la même que ceux qui en nécessitent 6 à 7 par semaine.

Nous avons montré qu'il est possible de classer ces patients en deux sous groupes : ceux dont l'insuffisance intestinale est permanente et ceux dont l'insuffisance intestinale est transitoire : 48% de nos 124 patients se sont avérés ainsi dépendants de la NP dont la durée a été en moyenne de 44 (1-160) mois. Cependant 47% des patients s'avérant *in fine* non dépendants de la NP (24% de l'ensemble des patients) ont retrouvé une autonomie nutritionnelle orale complète après une durée supérieure à 1 mois [3 (1.5-46)] de NPAD. Ces patients ont pu librement ingérer une alimentation orale et ont probablement pour la majorité développés secondairement une hyperphagie (cf. **Article 4**), moment à partir duquel on peut considérer qu'ils ont atteint leur capacité absorptive maximale (**Article 4**). C'est ainsi que dans ce travail 25% et 19% des patients insuffisants intestinaux transitoires (soit 13% et 10% de l'ensemble des patients) ont été sevré après 3 et 6 mois de NP respectivement. Donc, contrairement à ce que rapportent d'autres données de la littérature ⁴⁶, ces faits suggèrent que l'adaptation intestinale –quelque soit son(es) mécanisme(s)- puisse survenir au-delà des 3 mois suivant la résection avec rétablissement de la continuité digestive. Chez les patients non dépendants de la NP, le sevrage a été obtenu dans 95% des cas après un délai de 24 mois. Ce délai de 2 ans peut donc servir de seuil pour séparer deux sous groupes : insuffisance

intestinale transitoire (sevrage avant le 24^e mois : aiguë avant le 1^{ère} mois, subaiguë du 1^{ère} au 24^{ème} mois) et insuffisance intestinale chronique permanente (absence de sevrage dans un tel délai : 94% d'entre eux n'ont pu être sevré ultérieurement). Il peut de plus apparaître comme un seuil permettant de proposer au malade une alternative chirurgicale²⁰⁰.

Sur cette série de 124 patients souffrant de SGC sans maladie évolutive néoplasique, la probabilité de dépendance vis-à-vis de la NP était donc d'environ d'un cas sur deux ; mais lorsque la longueur de grêle restant était supérieure à 100 cm (n=42), la probabilité de dépendance à la NP n'était plus que d'environ 10% avec une survie élevée (93%) à 5 ans. Par contre une longueur de grêle restante inférieure à 100 cm était hautement prédictive d'une dépendance à la NP, variable toutefois en fonction du circuit digestif restant. En analyse multivariée nous avons montré que le caractère transitoire ou permanent de l'insuffisance intestinale était significativement relié à la longueur d'intestin grêle restant, laquelle variait selon les 3 principaux types d'anastomose digestive^{24,25,25,26}. La longueur de grêle était de 100 cm pour le type 1 (jéjunostomie), donnée concordante avec ce que l'on observe pour l'obtention de bilans hydro-électrolytiques et énergétiques positifs par voie orale, permettant donc le sevrage de la NP^{24-26,63}. Les longueurs de grêle autorisant le sevrage étaient pour les types anastomotiques 2 (jéjuno-colique) et 3 (jéjuno-iléale), de respectivement 65 et 30 cm, attestant de l'effet d'épargne énergétique soit colique pour le type 2, soit iléo-colique pour le type 3^{26,27,45,54,60}. Il est intéressant de noter que nos données actuarielles sont en accord avec les données non actuarielles de la littérature puisqu'il est considéré qu'il est possible de sevrer les patients adultes ayant des grêles court de types 2 et 3 quand les longueurs de grêle restant saines sont respectivement de 50-70 cm et de 30-35 cm²⁴⁻²⁶. Logiquement ces longueurs sont plus importantes en cas de lésions résiduelles, évaluées sur la radiographie, sur le grêle restant (90 cm), plusieurs mécanismes pouvant l'expliquer.

Les modèles de survie montrent que celle-ci est dépendante des facteurs anatomiques liés au sevrage de la NP mais non à la dépendance à la NP par elle-même, et au terrain (maladie vasculaire notamment artérielle). De plus l'ajustement sur la population générale montre que l'âge par lui-même n'est pas un facteur péjorant le pronostic. Une grande partie des causes de décès sont ainsi liée à la maladie ayant entraînée l'insuffisance intestinale mais non au traitement nutritionnel et aux conséquences nutritionnelles de la malabsorption : en dehors de 3 patients décédés du fait des conséquences d'une cachexie, tous nos patients ont retrouvé un état nutritionnel normal ou subnormal selon la classification de Detsky¹⁹². Ce travail permet d'individualiser les sous groupes de patients qui pourraient bénéficier de traitement alternatif à la NPAD : patients ayant les caractéristiques anatomiques proches des

seuils, patients jugés définitivement dépendant à la NP. Idéalement l'ensemble de ces données serait à tester de façon prospective sur une cohorte de patients ayant un SGC.

L'obtention de ces données nous montre que, dans les mains d'équipes spécialisées, le pronostic de cette affection grave, non cancéreuse, est relativement bon : survie à 5 ans 75% tous groupes confondus, 61% vs 87% chez les insuffisants intestinaux permanents et transitoires respectivement. La probabilité de survie des SGC insuffisant intestinaux permanent est non différente de celle des patients en NPAD de l'étude multicentrique franco-belge ⁶, le SGC en étant la cause majoritaire. Néanmoins ces chiffres incitent à rechercher des thérapeutiques améliorant le pronostic et le vécu ainsi que d'autres facteurs encore plus discriminant pour modéliser la sevrabilité de la NP, notamment en cas d'anastomose jéjunocolique (cf. Table 4, **Article 1**).

3 ACIDES AMINES ET METABOLISME SPLANCHNIQUE : OPTIMISATION DE L'ADMINISTRATION DIGESTIVE DES TRACEURS DU METABOLISME PROTEIQUE

**Article 2 DUODENAL VERSUS GASTRIC ADMINISTRATION OF
LABELED LEUCINE FOR THE STUDY OF SPLANCHNIC
METABOLISM IN HUMANS**

Journal of Applied Physiology 2000; 89 : 573-80

3.1 Présentation de l'étude

3.1.1 But

Comme en atteste les données de la littérature^{136,138,201} l'exploration du métabolisme protéique par voie digestive (estomac) dans les conditions de la perfusion intraveineuse (à faible débit) se complique, à l'état post-absorptif, d'une difficulté à obtenir l'état stationnaire.

Nous avons essayé de nous placer dans les meilleures conditions en prenant en compte les données connues de la physiologie digestive (lois de la vidange gastrique, hauts débits liquidiens dans le tube digestif). Notre objectif a donc été d'optimiser, à l'état post-absorptif, l'administration digestive des AA en utilisant la leucine marquée aux isotopes stables de façon, à partir d'une perfusion continue à débit constant, à obtenir des *plateaux* d'enrichissement plasmatique satisfaisants, reflets de l'état stationnaire métabolique. Cette étude a été réalisée sur un total de 11 volontaires sains lors de 2 protocoles (A et B). Cette simulation par voie digestive de la cinétique obtenue par voie veineuse, en tenant compte de la physiologie digestive, devait permettre, par comparaison aux résultats obtenus après administration intraveineuse, de déterminer précisément la part splanchnique (intestin et foie) du métabolisme protéique.

3.1.2 Particularités des épreuves digestives pour l'administration des traceurs

Pour les épreuves digestives le traceur a été préparé dans une solution isotonique au plasma, la solution «plasma-like»²⁰², dont la composition est indiquée dans l'article. Les traceurs ont été

administrés par sonde naso-gastrique ou naso-duodénale dont la position était vérifiée par radiographie.

Perfusion gastrique

- Protocole A. La perfusion gastrique de leucine a été effectuée simultanément à la perfusion veineuse au débit de 6 ml/h pendant 4 h (n=6 sujets).
- Protocole B. La perfusion gastrique a été effectuée séparément. La perfusion de la solution «plasma like» contenant le traceur a été effectuée au débit de 4 ml/min (240ml/h) pendant 6 h (n=5 sujets).

Perfusion duodénale (protocole B)

Une sonde naso-duodénale lestée par 20 g de mercure, a été posée la veille de l'épreuve. La solution plasma-like a été perfusée pendant 6 h au niveau de l'angle duodéno-jéjunal (angle de Treitz) au débit de 4 ml/min (240 ml/h).

NB : Nous avons également effectué sur 3 sujets une perfusion veineuse, gastrique et duodénale de glutamine dont les résultats sont présentés dans l'**Article 2**.

3.1.3 Méthodes analytiques

Elles ont été classiques, comme expliqués dans le paragraphe 1.2 : GCMS, Calorimétrie indirecte et IRMS. Le calcul du coefficient d'extraction splanchnique (f_{Leu} et f_{Gln}) est fonction des enrichissements plasmatiques moyens obtenus après perfusion veineuse et digestive, normalisés par leurs débits de perfusion ¹³⁷. Le pourcentage de leucine administré par voie digestive oxydée dans le lit splanchnique (oxydation splanchnique de premier passage ou f_{ox}) a également été calculé ¹³⁷.

3.1.4 Analyse statistique

L'obtention d'un plateau d'enrichissement (plasmatique et de ¹³C dans l'air expiré) a été jugée par un CV des enrichissements inférieur à 10% ¹¹⁸ et la méthode de régression linéaire. La comparaison de la variance des enrichissements au plateau a été effectuée par analyse de variance à 2 facteurs (sujet, voie d'administration du traceur).

3.2 Résultats et interprétations

Nous avons clairement montré dans ce travail qu'à l'état post-absorptif seule la perfusion digestive en site duodénal des traceurs de leucine ou de glutamine permet d'obtenir un plateau d'enrichissement plasmatique satisfaisant sur une période prolongée (3h30), et un coefficient d'extraction splanchnique reproductible d'un sujet à l'autre. Ceci est attesté par les CV et l'analyse statistique comparative. Ainsi une plus grande précision sur les valeurs individuelles est possible, bien qu'en moyenne nous retrouvions les mêmes résultats que la littérature (extraction splanchnique d'environ 20 et 50% pour la leucine et la glutamine respectivement).

3.2.1 Aspects digestifs

Chez le sujet normal la solution plasma-like évite les sécrétions digestives, *i.e.* les transports d'eau et d'électrolytes entre le milieu intérieur et la lumière digestive ²⁰². Nous avons perfusé par voie naso-gastrique des volumes plus importants (240 ml/h) dans l'objectif d'obtenir une vidange gastrique régulière du liquide administré de façon à avoir une absorption constante du traceur, ce qui n'a pas été le cas. Dans l'épreuve duodénale, effectuée au niveau de l'angle duodéno-jéjunal, la solution plasma-like présente l'avantage d'avoir une composition proche du chyme ²⁰³, le débit choisi de 4 ml/min se situant dans les limites (2 à 6 ml/min) du débit physiologique à ce site ²⁰⁴.

Il est probable que les variations d'enrichissements après perfusion gastrique sont liées à des variations de l'absorption liées à des modifications de la motricité digestive. La motricité digestive et de l'absorption intestinale sont en effet très intriquées. Parmi les facteurs à considérer la vidange gastrique joue un rôle de présélection pour l'absorption intestinale. De plus on sait que l'absorption, comme l'ont montré les modèles de simulation digestive, est modifiée en fonction de l'activité motrice de l'intestin grêle : une stimulation du péristaltisme augmente l'absorption ²⁰⁵. La période inter digestive (état post-absorptif) se caractérise par une activité motrice gastro-intestinale cyclique ²⁰⁶. Aux faibles débits (6 à 12 ml/h) de perfusion dans l'estomac de liquides acaloriques, celle de l'AA étant négligeable du fait de l'utilisation d'une dose traceuse, la vidange gastrique est aléatoire. Cette situation peut être assimilée à la vidange gastrique des sécrétions endogènes (salivaires et gastriques) à jeun dont le passage trans-pylorique varie entre 50 et 100 ml/h chez l'homme ²⁰⁷. Pour de tels volumes la vidange gastrique est soumise au complexe moteur migrant (CMM) de la motricité digestive inter prandiale car de façon cyclique, toutes les 110 minutes en moyenne, les phases III (front d'activité régulière) du CMM accélèrent transitoirement la vidange gastrique ²⁰⁶. En effet le CMM n'est pas aboli lors de la prise de liquides. Il a de plus été montré que le moment

d'administration par rapport à l'activité du CMM du glucose, du lactulose²⁰⁸ et de médicaments influençait significativement leurs passages trans-pyloriques : pendant la phase III du CMM il y a augmentation du passage pylorique. Nous avons tenté d'abolir l'influence du CMM sur l'absorption du traceur en perfusant de plus grandes quantités de solution dans l'estomac. Ceci n'a pas permis d'obtenir le plateau d'enrichissement plasmatique. En pratique les variations de la vidange gastrique expliquent les variations d'absorption.

Seule la perfusion duodénale a permis d'obtenir des plateaux d'enrichissement. La création d'une sorte d'«état stationnaire digestif»²⁰⁹ par la perfusion à débit constant entre 3 et 7 ml/min d'un liquide isotonique au niveau de l'angle duodéno-jéjunal assure une distension du jéjunum permettant au volume perfusé de ne pas modifier le temps de transit (ce qu'on observe aux débits de perfusion plus élevés)²⁰⁹, ces conditions permettent une absorption constante et pratiquement totale de l'AA. Lors de l'alimentation orale la motricité digestive inter prandiale est abolie et la vidange gastrique régule le débit calorique arrivant à l'intestin²⁰⁶. En nutrition entérale à débit constant la vidange gastrique est régulière²¹⁰. Notre interprétation des plateaux relativement plus satisfaisants qu'à l'état post-absorptif fait appel à la régularité de la vidange gastrique en alimentation entérale : elle est égale, après une période d'équilibre variant en fonction du débit calorique, au débit d'infusion majoré de celui des sécrétions endogènes²¹⁰. Chez l'homme lors de l'infusion duodénale de solutions nutritives polymériques ou semi-élémentaires on a montré une réduction du nombre des phases III du CMM. Ceci pourrait expliquer les meilleurs résultats en terme de plateaux d'enrichissements obtenu à l'état nourri, l'absorption étant alors régulière et non pulsatile.

3.2.2 Aspects métaboliques

A l'état post-absorptif l'ensemble de nos résultats dans les épreuves gastriques, à faible et fort débits, montre que le coefficient d'extraction splanchnique f est très variable d'un sujet à l'autre : pour un sujet pris individuellement le f n'est pas utilisable pour d'autres calculs (comme le f_{ox}) car sa valeur est trop aléatoire. Il en résulte que l'étude de variations d'extraction splanchnique doit se faire après perfusion duodénale du traceur.

Il est considéré que l'extraction splanchnique de la leucine est plus liée au métabolisme intestinal qu'hépatique : chez le rat seul 10% de l'extraction est expliqué par la synthèse hépatique. Le métabolisme splanchnique de la leucine est cependant caractérisé par une coopération intestino-hépatique complexe. Le métabolisme splanchnique de la leucine est relativement faible (extraction d'un cinquième du traceur). Pour des traceurs à plus fortes extractions splanchniques comme la glutamine (50% dans notre étude comme dans la

littérature pour la glutamine marquée sur l'azote) il persiste de grandes variations après perfusion gastrique ce qui conforte notre hypothèse sur le rôle probable de l'influence de la motricité digestive car nos résultats ne sont pas fonction d'un AA particulier, fut-il à forte extraction splanchnique.

La détermination des enrichissements plasmatiques après perfusion veineuse et digestive de traceurs d'AA est une méthode indirecte d'estimation du métabolisme protéique splanchnique. La méthode directe par biopsie tissulaire permet de déterminer les vitesses de synthèse fractionnelles («fractional synthetic rate») c'est à dire le pourcentage de protéines synthétisées par heure ou par jour dans un tissu donné ¹¹⁴. Pour l'intestin les biopsies, par voie endoscopique, si possible à l'angle duodéno-jéjunal ou au-delà, peuvent être effectuées après perfusion veineuse et digestive de traceurs ¹¹³. Indépendamment du problème constitué par l'échantillonnage du «bon» pool précurseur, il a été suggéré que la variabilité des enrichissements tissulaires intestinaux après perfusion gastrique ne permette pas le calcul des valeurs individuelles ¹⁵¹ ce qui souligne l'intérêt de faire des perfusions duodénales du traceur, couplées aux perfusions veineuses. En effet les AA luminaux sont surtout utilisés pour la synthèse des hydrolases de la bordure en brosse des villosités, à turnover très rapide, alors que les AA plasmatiques seraient incorporés essentiellement dans la synthèse des protéines constitutives du cytosquelette notamment au niveau des cryptes, à turnover moins rapide ^{112,211}.

Au-delà de ces conclusions ponctuelles, cette étude du métabolisme splanchnique a été le préalable à l'étude plus spécifique des AA à «métabolisme intestinal privilégié».

4 EVALUATION ANATOMO-PHYSIOLOGIQUE DE LA MASSE INTESTINALE ABSORPTIVE DANS LE SYNDROME DE GRELE COURT

4.1 Mesure de la longueur de grêle : évaluation anatomique de la masse intestinale

Article 3 SURGICAL VERSUS RADIOLOGICAL MEASUREMENT OF REMNANT SMALL BOWEL LENGTH IN SHORT BOWEL PATIENTS

En préparation

4.1.1 Comment évaluer macroscopiquement la masse intestinale ?

Ce travail a constitué une condition pour la validation d'un marqueur biochimique de la masse intestinale absorptive, *i.e.* entérocytaire. Notre objectif étant de modéliser l'insuffisance intestinale, et singulièrement la masse intestinale, encore fallait-il établir un ou plusieurs étalons (juge de paix) à partir duquel la validité du marqueur biochimique pouvait être testée. Il importait donc en particulier de proposer un indice macroscopique *in vivo* de la masse intestinale résiduelle *anatomique*. En considérant que la longueur normale de grêle *in vivo* est de 300 cm et son diamètre de 3 cm, ceci permettrait d'estimer la surface d'absorption à environ 0.3 m² en assimilant le grêle à un tube cylindrique. Mais la structure intestinale est telle qu'il y a une augmentation considérable de la surface d'échange entre le contenu luminal et le milieu intérieur²¹². La muqueuse est en effet hérissée de plis permanents transversaux, les valvules conniventes (6 à 8 mm de hauteur, 2 mm de largeur, environ 800 à 900 sur un grêle normal), qui diminuent de taille et de nombre vers l'iléon. Elles multiplient par 3 à 10 la surface de l'anneau intestinal. Les valvules conniventes sont elles-mêmes hérissées de villosités : de 20 à 40/mm² soit un total d'environ 10 millions, dont la hauteur est d'environ 0.5 mm. Les villosités multiplient encore par 10 la surface absorbante en contact avec le contenu luminal. C'est ainsi que celle-ci peut être estimée entre 12 et 20 m² chez l'homme²¹³. Si l'on tenait compte des microvillosités des entérocytes, la surface absorbante serait (x 20, soit au total au moins 600 fois la surface du simple cylindre) de 200 à 400 m². Le nombre d'entérocytes, et donc la masse entérocytaire, n'est connu qu'approximativement. La villosité intestinale (ou «entéron») est l'unité tissulaire essentielle de l'absorption. Sur la base de 4000 à 7000 cellules épithéliales (dont pour simplifier les quatre cinquièmes de cellules absorbantes

ou entérocytes proprement dits et un cinquième de cellules caliciformes) par villosité, la masse entérocytaire villositaire pourrait être de 3.10^{10} à 5.10^{10} cellules. A celles-ci il faudrait rajouter les cellules immatures des cryptes (6 à 20 cryptes par villosité), souvent considérées - à tort- comme non absorbantes, soit 500 à 700 cellules par villosité ²¹³. Ces cellules migrent et subissent une maturation le long de l'axe crypto-villositaire en 4 à 5 jours chez l'homme (vitesse de renouvellement). Il en découle que la masse entérocytaire n'est donc pas directement mesurable et qu'il faut se contenter d'indicateurs approchés. La logique est de mesurer la longueur de grêle restant, 1^{ère} dimension anatomique et, en fait, la seule disponible en pratique. Cette mesure est combinable avec celle du diamètre intestinal de façon à avoir une indication de la surface absorbante interne du grêle (cf. **Article 5**).

Du fait de son innervation extrinsèque et intrinsèque et de ses tuniques musculaires l'intestin grêle est un organe élastique. En pratique la détermination de la longueur de grêle restante est donc une entreprise difficile, dépendante des conditions de mesure. Il n'y a pas de méthodes exemptes de reproches, et donc pas de méthode de référence («gold standard»). Dans la majorité des publications concernant le SGC c'est la longueur mesurée par le chirurgien en peropératoire, méthode directe à ventre ouvert, qui est utilisée. Cette méthode, non référencée et donc empirique, surestime les longueurs de grêle fournies par les méthodes indirectes, par le biais de la relaxation de la musculature lisse contemporaine de l'intervention et de l'anesthésie générale, et fournit des valeurs comparables à celles fournies par les études autopsiques ²¹⁴ ou de pièces d'entérectomie totale. Les méthodes indirectes sont invasives (mesure sur radiographie après intubation intestinale par une sonde en PVC), mais fournissent les valeurs les plus fiables ¹⁶, ou plus simples (mesure sur radiographie abdominale au cours d'un transit baryté du grêle).

Nous avons tenté de valider la méthode indirecte non invasive, rapide et pouvant être répétée : la mesure de la longueur de grêle sur un transit baryté radiologique que nous avons comparé à la méthode chirurgicale chez 57 patients avec SGC. Cette méthode radiologique, qui fournit de plus une indication sur le caractère pathologique ou à priori sain du grêle restant, avait déjà été proposée sur une courte série de 18 malades ¹⁸. Nous avons repris l'idée d'une mesure en utilisant un opisomètre. Il s'agit d'un instrument de mesure des distances sur les cartes, gradué sur un des côtés en centimètres et munit d'une roulette à son extrémité. Une fois le circuit du grêle repéré sur un seul film radiographique, l'application de la roulette de cet instrument en suivant le bord antimésentérique le long du circuit permet de connaître la longueur de grêle restant. Un coefficient de correction, tenant compte des caractéristiques techniques de l'appareillage radiologique et de l'agrandissement éventuel, doit être effectué.

Dans nos travaux celui-ci a été de 0.91. Une représentation de la technique utilisée est donnée sur la Figure 1 de l'**Article 3**. La baryte a été administrée suivant la méthode dite des «grandes quantités» (ingestion orale) et non par entéroclyse, qui outre sa plus grande lourdeur (tubage duodénal) à l'inconvénient théorique possible d'allonger le grêle.

De façon à analyser les données nous ne nous sommes pas contenté d'effectuer une corrélation entre les 2 mesures, chirurgicale et radiologique. Nous avons utilisé la méthode proposée par Bland et Altman ²¹⁵, applicable quand une valeur quantitative est inaccessible directement. Ceci est le cas pour la longueur de grêle, *in vivo*, que se soit à ventre fermé ou à ventre ouvert, en fonction des limitations que nous avons énumérées plus haut pour la chirurgie qui ne mesure pas le grêle dans les conditions physiologiques. Bland et Altman ont proposé une représentation graphique simple pour mettre en relation les 2 méthodes de mesure, basée sur le graphique de la différence des mesures entre les 2 méthodes en fonction de la moyenne des 2 méthodes, cette dernière constituant la meilleure estimation de la valeur recherchée. Il s'agit en fait d'une représentation graphique d'un test t apparié. Ceci permet de visualiser l'intervalle de confiance à 95% de la différence (ou limites d'agrément). Si une relation entre la différence et la moyenne est retrouvée ces auteurs proposent une transformation logarithmique des données ²¹⁵. Dans ce travail (**Article 3**) nous démontrons chez 57 patients que la longueur de grêle restant, indice anatomique de la masse intestinale, peut avec fiabilité, sans biais systématique d'une méthode par rapport à une autre, être déterminée sur un transit baryté du grêle au moyen d'un opisomètre. La mesure du grêle par opisomètre a été utilisée pour les **Articles 1, 4 et 5**.

4.1.2 Résultats et conclusions

Ce travail montre que les mesures radiologiques et chirurgicales du grêle restant sont hautement corrélées, ce qui était attendu. De plus il démontre pour la première fois qu'il n'existe pas de biais systématique d'une méthode par rapport à une autre. Il est à noter que cette méthode radiologique n'est pas validée en cas de grêle non réséqué car dans ce cas l'ensemble des anses (en moyenne 10 à 12) n'apparaît pas sur un seul cliché, de plus elles sont alors l'objet d'un certain nombre de superpositions. Les avantages de la mesure radiologique du grêle restant, complémentaires à la mesure chirurgicale, et à notre sens indispensable en cas de discordance ou de doute par rapport à ce qu'a décrit le chirurgien, sont :

- sa simplicité : sauf en cas d'interpositions d'anses et/ou de grêle très pathologique,

qui rendent la visualisation du circuit difficile ¹⁸, la mesure peut être effectuée une fois le circuit intestinal repéré. En pratique un examen radiologique fait dans de bonnes conditions techniques est indispensable.

- sa reproductibilité : dans notre travail le CV inter observateur moyen a été de 3%.

- son utilisation possible même s'il n'y pas eut de mesure chirurgicale, car elle n'impose que la réalisation d'un transit baryté du grêle, examen non invasif et assez peu irradiant (1mGy par cliché). De même cet examen est répétable dans le temps. Nos résultats suggèrent ainsi que, du moins chez l'adulte, un allongement significatif du grêle n'est pas observé pas dans les suites d'une résection intestinale étendue.

Nous avons montré que même si les 2 méthodes donnent des résultats fortement corrélés ²¹⁵, une petite discordance dans les résultats est néanmoins possible : la mesure radiologique surestime la mesure chirurgicale pour les grêles les plus courts et la sous-estime pour les grêles les plus longs. Les possibles explications en sont donnés dans la discussion de l'**Article 3**. L'absence de biais systématique (de sur ou sous-estimation) et le faible nombre de patients pour lesquels la différence de mesure est au-delà des limites d'agrément autorisent cependant à utiliser cette méthode pour évaluer anatomiquement la longueur de grêle restant. Si la technique radiographique est la même pour tous les patients le coefficient de correction n'a pas besoin d'être systématiquement utilisé car cela ne gêne pas la comparaison ou les analyses quantitatives ultérieures.

Muni de cette évaluation anatomique, utile à la définition selon le type de montage anastomotique des seuils de longueur d'intestin grêle séparant les patients insuffisants intestinaux transitoires et permanents (cf. **Article 1**), nous avons pu progresser vers une évaluation fonctionnelle puis biochimique de la masse intestinale absorptive.

4.2 Etude de l'absorption intestinale : évaluation fonctionnelle de la masse intestinale absorptive-relation avec l'hyperphagie

4.2.1 Rappels sur l'absorption intestinale des macronutriments

L'intestin grêle est le siège de mouvements d'eau (solvant) et de substances dissoutes (solutés), correspondant à des flux entrants (absorption proprement dite) ou sortants (sécrétion) du milieu intérieur. L'absorption se fait par voie paracellulaire (jonctions serrées : cations monovalents, eau et molécules hydrophiles par *solvent drag*) ou transcellulaire (diffusion passive par canaux ou dissolution membranaire, diffusion facilitée par transporteur membranaire, transport actif par transporteur contre un gradient de concentration).

4.2.1.1 Homme sain

Données «macro»physiologiques

Les connaissances classiques sur l'absorption intestinale, ou plutôt sur le couple digestion-absorption car celui-ci est indissociable à ce niveau, *in vivo* chez l'homme, viennent de l'étude de Borgstöm²¹⁶. Ces auteurs ont utilisé la technique des perfusions intestinales pour mesurer à différents sites l'absorption des nutriments en utilisant dans les repas tests le polyéthylèneglycol, non absorbé ou métabolisé, comme marqueur de dilution du repas. Dans cette étude l'absorption des lipides, des glucides simples et des protéines, débutant dès le duodénum, était terminée à 100 cm en aval de l'angle duodéno-jéjunal (en terme de distance par rapport à l'angle de Treitz les lipides étaient absorbés avant les glucides qui eux-mêmes l'étaient avant les protéines). En fait, après un repas, les lipides sont absorbés les derniers par le grêle du fait de la cinétique de distribution des nutriments due à la vidange gastrique²⁰⁶. Pour les glucides une partie (jusqu'à 20% chez le sujet sain), dit glucides à effet fibre (cellulose, amidons résistants...), échappe physiologiquement à la digestion dans le grêle et est fermentée par la flore colique^{45,217}. Le côlon ne joue aucun rôle propre dans l'absorption des lipides²⁷. Alors que le volume liquidien quotidien moyen entrant dans l'intestin grêle est de 9 litres (2 litres d'ingesta et 7 litres des diverses sécrétions, hors sécrétion intestinale), dans le grêle moyen le débit liquidien est de 3 l/24h, alors qu'il est d'environ 1 litre dans l'iléon terminal et inférieur à 0.3 litre au niveau de l'effluent fécal (**Tableau 1**). A l'état physiologique l'intestin fonctionne très en deçà de ses capacités absorptives maximales : ainsi l'intestin grêle et le côlon peuvent réabsorber respectivement 12 et 6 litres de liquide isotonique au plasma. La notion classique d'une absorption quasi complète au niveau du grêle moyen²¹⁶ suggère la présence d'une masse fonctionnelle intestinale de réserve, qui est notamment sollicitée lors des résections intestinales avec intestin restant sain. Cependant, un

travail, dans un modèle canin de fistules intestinales, suggère que l'absorption lipidique est incomplète au niveau du grêle moyen, variant de 65 à 95% de l'apport, et fortement dépendante de la charge lipidique administrée ²¹⁸. Globalement à l'état normal, au niveau du bilan net (CUD), on considère, en dehors du prématuré, que plus de 90-95% des macronutriments sont absorbés. Pour une alimentation de type occidental, peu riche en fibres (< 20 g/j), le contenu énergétique fécal est d'environ 100 à 200 kcal/24h ²¹⁹ ; il est plus élevé mais est très variable en cas de SGC ²⁷. Pour des apports protéiques de 100 g, la perte fécale protéique normale est de 10 g (1.5 g d'azote) (cf. **Figure 4**), le CUD (ou digestibilité) apparent de l'azote des protéines végétales étant inférieur à celui des protéines animales.

Données «micro»physiologiques

Protides (substances hydrosolubles)

La source endogène (sécrétions enzymatiques et glycoprotéines, desquamation cellulaire intestinale) représente 30 à 60% du contenu protéique qui rentre dans l'intestin. La digestion intraluminaire fait appel aux protéases gastriques (pepsine) et surtout pancréatiques (diverses endopeptidases, dont la trypsine et l'élastase, et exopeptidases), activées en cascade par l'intermédiaire initial de l'entérokinase d'origine duodénale. Au niveau de la bordure en brosse de nombreuses peptidases non spécifiques, dont les aminopeptidases et la dipeptidylaminopeptidase IV, sont présentes : elles sont surtout exprimées dans l'intestin grêle distal ²²⁰. Ceci aboutit à environ 60% de peptides (majoritairement di et tripeptides), dont l'absorption est proximale, et 40% d'AA libres, absorbés plus loin. L'absorption (transport) débute au niveau de la membrane apicale : il existe divers transporteurs pour les AA (le plus souvent couplés au Na⁺, *i.e.* cotransport : transport actif dépendant d'un gradient de concentration transmembranaire de Na⁺ généré par les Na⁺K⁺ATPases basolatérales) et notamment le système PEPT-1 pour les peptides (couplé à l'ion H⁺) ²²¹. L'absorption des peptides, saturable, se caractérise par une saturation des transporteurs pour des concentrations élevées en substrats par rapport à celles des AA libres correspondant. Les peptides sont pris ensuite en charge par les peptidases intra-entérocytaires. Au passage l'entérocyte se sert, en particulier en glutamine et glutamate (cf. 1.2.3), pour son propre métabolisme et sa synthèse protéique, d'une quantité estimée à 10% des AA absorbés. Au niveau de la membrane basolatérale il sort de l'entérocyte, par l'intermédiaire de divers systèmes de transport, surtout des AA libres. Il est par ailleurs à noter que certains peptides et macromolécules protéiques, ayant échappés aux protéases, sont transportés intacts, sans être digérés, à travers la muqueuse intestinale : ce transfert «protégé» a une signification fonctionnelle et non nutritionnelle. Il s'agit d'un passage transcellulaire par pinocytose objectivé au niveau des entérocytes,

notamment pour certains médicaments, et au niveau des cellules M (membraneuses, avec très peu de microvillosités) de l'épithélium associé au follicule lymphoïde ou des plaques de Peyer, au sein d'un mécanisme qui jouerait un rôle important dans la tolérance immunitaire par voie orale ²²², et donc dans diverses pathologies immunoinduites.

Lipides (substances hydrophobes)

Avant d'être digérés et absorbés, les lipides alimentaires (notamment les triglycérides qui constituent 95% des lipides ingérés) doivent être émulsifiés puis solubilisés, sous l'action des sels biliaires et des phospholipides. Ceci permet la formation de micelles, dans le but d'augmenter l'interface lipide-eau, si la concentration micellaire critique intraduodénale est suffisante, *i.e.* > 3 à 4 $\mu\text{mol/ml}$. La rupture du cycle entéro-hépatique, circulant physiologiquement 3 à 12 fois/j, après résection iléale longue, diminue donc l'absorption lipidique par épuisement au cours de la journée du pool de sels biliaires, plus ou moins reconstitué pendant la nuit. La digestion luminale fait appel essentiellement à la lipase gastrique et surtout pancréatique : le complexe lipase-colipase hydrolyse les triglycérides au sein des micelles. Les micelles assurent le transport des lipides dans les phases aqueuses luminales et de la couche non agitée. Les lipides libérés des micelles sont dissous dans la membrane phospholipidique apicale entérocytaire. La FABP (fatty acid binding protein) et la FAT (fatty acid translocase), protéines de transport de la membrane luminale, joueraient un rôle important dans le transport des acides gras vers le réticulum endoplasmique de l'entérocyte ²²³. A ce niveau les triglycérides sont reconstitués. Les lipides sortent de l'entérocyte par exocytose, «réencapsulés» sous forme de lipoprotéines après assemblage avec une apolipoprotéine (AI, AIV, B48...) dans l'appareil de Golgi. Cette étape nécessite la présence de la MTP (microsomal transfer protein). Les lipoprotéines sont déversées dans la circulation lymphatique centrovillositaire sous forme de chylomicrons, VLDL et HDL. Les acides gras à chaînes moyennes, plus hydrosolubles, ne nécessitent pas les sels biliaires pour être absorbés et sont déversés dans la circulation portale où ils se lient à l'albumine.

4.2.1.2 Malabsorption

Ce terme désigne les états où l'une ou plusieurs des étapes de la digestion-absorption sont déficients : il s'agit de la conséquence d'une altération des fonctions intestinales qui empêche l'absorption d'une partie des aliments ingérés. Pour les différents nutriments les capacités totales d'absorption des différents étages du tube digestif sont en fait mal connues et cette connaissance est rendue d'autant plus difficile que l'intestin à une taille considérable et une puissance enzymatique colossale, fortement modulée par l'alimentation ²¹³. Les tests fonctionnels d'absorption sont nombreux (D-xylose pour la fonction jéjunale, test de Schilling

pour la fonction iléale...). Le plus souvent le diagnostic d'un SMA est affirmé sur le niveau du débit de graisse fécale. Les arguments biologiques en faveur d'un SMA sont ainsi la présence de l'affirmation d'une diarrhée (poids de selles > 250g/24h) avec stéatorrhée (débit lipidique fécal > 6g/24h, soit CUD < 94% pour des apports de 100 g) et de carences sanguines non spécifiques (anémie macrocytaire ou dimorphe, hypocalcémie...) associées à des tests fonctionnels d'absorption anormaux ²²⁴. La mise en évidence d'une stéatorrhée ²²⁵ nécessite un recueil complet des selles de 3 jours en présence d'un apport alimentaire suffisant en lipides : elle reste donc un examen fastidieux tant pour le service clinique que pour le laboratoire (avec nécessité d'homogénéiser les selles...). Les bilans sur 1 ou 2 jours fournissent des valeurs peu fiables du fait des importantes variations intrasujets ²²⁶. La mesure par bombe calorimétrique des entrées et des sorties, juge de paix pour la malabsorption des macronutriments, est difficilement réalisable dans la pratique courante du fait de sa lourdeur. Signalons que la réserve fonctionnelle iléale peut permettre à une malabsorption jéjunale d'être compensée au niveau du bilan net : ceci se rencontre en particulier dans la maladie cœliaque non étendue.

4.2.2 Rappels sur l'adaptation intestinale

4.2.2.1 Généralités

On peut définir l'adaptation intestinale par les modifications structurales et fonctionnelles de l'intestin, s'exprimant notamment au niveau du transport des molécules vers le milieu intérieur, induites par des stimuli physiologiques (nutritionnels et/ou hormonaux : alimentation, croissance, grossesse, lactation...) ou pathologiques (résections, infections, malnutrition, pathologie générale en particulier hormono-métabolique...) ². En fonction des 2 axes intestinaux (jéjunum, iléon ; crypte, villosité) les mécanismes adaptatifs peuvent être différents. L'adaptation intestinale est très «temps-dépendant» et extrêmement variable d'un sujet à l'autre. Le nombre de situations dans lesquelles il existe une adaptation intestinale sont particulièrement nombreuses ^{2,227}. Ainsi quand le jéjunum est réséqué, l'iléon restant acquiert une adaptation structurale et fonctionnelle. Ce concept a bien été mis en évidence chez le rongeur (accélération du renouvellement épithélial, hyperplasie villositaire et cryptique, hypertrophie des couches musculaires...sans augmentation constante de l'activité spécifique des hydrolases de la bordure en brosse ce qui a fait suggérer une certaine immaturité des entérocytes). Ceci se traduit par une augmentation de la masse intestinale segmentaire notamment muqueuse et une augmentation, en terme de flux net par unité de longueur

intestinale, des capacités absorbatives des divers substrats ²²⁷. Ceci a été confirmé dans cette situation par la démonstration moléculaire de l'augmentation de l'expression des gènes de certaines protéines de transport ^{1,228,229}. L'adaptation intestinale est difficile à démontrer chez l'homme, en particulier adulte. Parmi les facteurs alimentaires, intervenant directement ou indirectement, il a été suggéré chez le rat réséqué ²³⁰ ou non, que les lipides intraluminaux (du fait de la stimulation entéroendocrine, de la synthèse de prostaglandines ou parce qu'ils modulent la composition des membranes cellulaires ?...) ont un effet trophique plus important que les protéines et les polysaccharides. Dans certains modèles, mais ceci est inconstant, les triglycérides à chaînes moyenne seraient plus efficaces sur l'adaptation que les triglycérides à chaînes longues.

Au niveau structural les anomalies mises en évidence chez l'homme sont modestes, contrairement à l'animal, mais les études ont été réalisées sur de courtes durées (1 mois au maximum). Ainsi l'absence de nutrition orale ou entérale s'accompagne, en l'absence de dénutrition grâce au maintien de l'état nutritionnel par la nutrition parentérale, d'une diminution significative de la hauteur des microvillosités duodénales chez le sujet malade ^{152,231}, effet qui semble plus prononcé chez l'enfant ²³², et d'une discrète hypoplasie villositaire chez le sujet sain ²³³. Par contre la dénutrition, tout particulièrement le kwashiorkor (malnutrition chronique par déficit d'apport à prédominance protéique) chez l'enfant, peut entraîner une atrophie villositaire totale avec diminution du renouvellement cellulaire et malabsorption ^{234,235}. Cependant ceci est peut être plus secondaire à des problèmes infectieux qu'à la dénutrition proprement dite ²³⁴. Fonctionnellement, chez l'homme, les modifications sont plus nettes : sous NP l'activité des hydrolases de la bordure en brosse est diminuée de 80% ²³¹ et la perméabilité intestinale est augmentée ¹⁵² après un jeûne luminal total de 2 et 3 semaines respectivement. Ces anomalies sont réversibles après réalimentation orale, notamment grâce à l'induction rapide de proto-oncogènes ²³⁶.

Une difficulté peut résider dans le mode d'expression des résultats des activités enzymatiques : on peut raisonner en activité totale quand on les rapporte à une longueur intestinale ou en activité spécifique quand on les rapporte au contenu en protéines ou en ADN. L'activité totale donne une estimation de la capacité digestive pour le segment considéré alors que l'activité spécifique donne le reflet de l'activité par cellule. Dans l'adaptation intestinale post-réséction chez l'homme, l'activité totale est attendue diminuée (sauf si la malabsorption est entièrement compensée) alors que l'activité spécifique est attendue augmentée.

4.2.2.2 Facteurs de contrôle de l'adaptation intestinale post-résection intestinale

Les médiateurs de l'adaptation intestinale peuvent être d'origine endoluminale [exogènes : nutriments ; endogènes : sécrétions bilio-pancréatiques et de divers facteurs entéro-trophiques, autres (flore bactérienne notamment dans le côlon, polyamines...)] ou systémique (hormones, neuromédiateurs...) et agir localement (action autocrine ou paracrine) ou à distance (action endocrine : insuline, GH...) dans un réseau d'interaction complexe. Tous les travaux insistent sur le rôle majeur de l'apport nutritif oral, le contact aliment-muqueuse stimulant la trophicité intestinale^{49,237}. Sur anse intestinale dérivée et isolée (Thiry-Vella) le rôle de stimulation des fonctions de transfert entérocytaire, que le substrat soit partiellement métabolisé ou non (3-O-méthyl glucose), apparaît important, par rapport au sérum physiologique, ce qui souligne l'implication de la charge fonctionnelle induite par le substrat, indépendante de sa valeur nutritionnelle⁸².

La synthèse des peptides trophiques gastro-intestinaux est induite par les sécrétions bilio-pancréatiques et/ou les nutriments. Le GLP-2 dérive du proglucagon intestinal²³⁸. On citera également le peptide YY, la neurotensine, les facteurs de croissance locaux (EGF, TGF α à effet mitogénique...) à action paracrine et autocrine. L'action des peptides en trèfle («trèfle peptides») synthétisés par les cellules caliciformes à mucus semble être essentiellement la cytoprotection muqueuse. La GH, dont l'action est modulée par l'IGF-I (synthétisé en particulier par les entérocytes) et ses protéines de liaisons, a un rôle trophique intestinal²³⁹ et stimule l'absorption des AA, ce qui a fait envisager son utilisation en thérapeutique humaine (adaptation pharmacologique)^{57,92,93}. L'administration entérale des carburants «spécifiques» (glutamine, butyrate, nucléotides) de la muqueuse intestinale ainsi que d'arginine ou d'oxo-glutarate d'ornithine²⁴⁰ représentent également une voie thérapeutique potentielle, bien que contestée¹⁶⁶. Cependant à l'heure actuelle, chez l'homme, leur intérêt pour promouvoir l'adaptation intestinale après résection n'est pas bien connu, bien que leur association puisse être bénéfique⁵⁵. Les polyamines, composés ubiquitaires médiateurs de l'action de nombreux facteurs de croissance, d'origine exogène alimentaire²⁴¹, du métabolisme bactérien intraluminal, des sécrétions digestives ou synthétisées *in situ* à partir de l'ornithine par l'ODC pourraient être la «voie finale commune» des processus conduisant à l'adaptation intestinale : chez le rat l'inhibition de leur synthèse réduit le processus d'adaptation²⁴² et l'inhibition de leur dégradation²⁴³, leur adjonction luminale²⁴⁴ ou la stimulation de leur synthèse par l'oxoglutarate d'ornithine^{240,245} l'amplifie.

4.2.3 Absorption et adaptation intestinales dans le syndrome de grêle court

Article 4 HYPERPHAGIA AND INTESTINAL ABSORPTIVE ADAPTATION IN ADULT SHORT BOWEL PATIENTS

en préparation

L'adaptation morphologique et fonctionnelle post-résection intestinale a surtout été démontrée chez l'animal ^{227,246}. L'adaptation fonctionnelle est attestée par l'augmentation en fonction du temps de l'absorption des macro et/ou micronutriments, liée à une «up-regulation» des transporteurs. Il est considéré que les phénomènes adaptatifs extragrêliques prédominent chez l'homme après résection intestinale. Il existe néanmoins des arguments histologiques (hyperplasie en cas de côlon restant) ^{48,247} et surtout fonctionnels pour une adaptation entérique survenant plusieurs mois à plusieurs années après la résection. Il a ainsi été montré, en comparaison à des contrôles, qu'il y avait une augmentation de la fonction absorptive segmentaire du glucose ^{248,249} et de l'eau et des électrolytes ²⁵⁰, mesurés par la méthode directe des perfusions intestinales, et une amélioration de l'absorption calcique ²⁵¹, du cholestérol et de la vitamine B₁₂ ²⁵² en fonction du temps. Par contre macroscopiquement, chez l'adulte, il ne semble pas y avoir d'allongement du grêle en fonction du temps (cf. **Article 3**), alors qu'une discrète augmentation du diamètre (dilatation) est parfois observée. Les mécanismes de régulation qui sous-tendent ces processus adaptatifs sont mal connus mais feraient intervenir les modifications morphologiques, la diminution du temps de transit intestinal des nutriments et/ou des événements moléculaires intracellulaires comme l'augmentation de l'expression des diverses protéines impliquées dans l'absorption, le métabolisme et le trafic cellulaire des nutriments ^{1,228}, régulés au niveau pré ou post-traductionnel ^{253,254}. L'adaptation ne s'exprime pas, ou peu, chez les patients en jéjunostomie terminale ⁷³. A l'inverse les patients ayant un iléon et/ou un côlon présent sont ceux qui s'adaptent le mieux ^{27,255} : récupération énergétique fécale à partir des glucides malabsorbés ⁶⁰, diminution des pertes sodés ⁴⁶, grâce notamment à l'hyperfermentation colique et probablement à l'action entérotrophique du GLP-2 ⁹⁴. D'un autre côté notre équipe, chez l'homme adulte, a démontré : a) une adaptation de la flore bactérienne colique ⁴⁵, confirmant expérimentalement l'importance du côlon restant chez ces patients pour la récupération énergétique (jusqu'à 500 kcal/j) colique, et b) la présence d'une hyperphagie compensatrice spontanée ⁵⁴. Ces 2 facteurs jouent un rôle crucial dans l'adaptation post-résection intestinale.

Les modèles animaux montrent en effet que les nutriments, tant dans leurs aspects quantitatifs que qualitatifs, jouent un rôle majeur de stimulation de l'adaptation^{135,174,227,246}. Par contre il y a peu de données démontrant une amélioration de l'absorption des macronutriments au cours du temps passé un délai de quelques mois dans le SGC de l'adulte⁴⁶. C'est ce que nous avons voulu réexaminer dans l'étude suivante.

4.2.3.1 Présentation de l'étude

Nous avons cherché à déterminer les facteurs explicatifs et le rôle de l'hyperphagie - fréquemment observée chez les malades adultes avec SGC- dans l'adaptation intestinale. Par ailleurs nous avons modélisé l'absorption lipidique et protéique, de façon à tester si ces dernières pouvaient être utilisées comme indice de référence pour la masse intestinale fonctionnelle de l'intestin grêle. L'hyperphagie ne fait pas l'objet d'une définition consensuelle. Nous proposons ici de la définir par des apports oraux spontanés supérieurs aux besoins énergétiques théoriques de maintenance, sans tenir compte de la malabsorption, soit supérieurs à la DER x 1.5. En effet il a été montré dans le SGC qu'une telle quantité réellement absorbée et non éliminée dans les urines (énergie métabolisable) est suffisante pour maintenir une balance équilibrée sans NP⁵⁴.

Quatre vingt dix patients ambulatoires en alimentation orale ont été étudiés par l'intermédiaire de bilan d'absorption sur 72 heures, méthode qui a été validé dans notre laboratoire⁵⁴ et qui constitue un bon compromis entre le recueil de 1 et 10 jours²⁵⁶. Seul les protéines et les lipides ont été étudiés, et non l'absorption énergétique totale. Nous avons vu (cf. 1.1.2.4) que le bilan digestif énergétique (bombe calorimétrique) et hydro-électrolytique permet *stricto sensu* de définir fonctionnellement l'insuffisance intestinale. L'absorption lipidique peut par ailleurs constituer un bon index de l'absorption globale²⁵⁷, et -en l'absence de pancréatopathie- refléter la fonction absorptive du grêle. Les ingesta ont été quantifiés et calculés (logiciel BILNUT 4.0) après enquête diététique effectuée par une diététicienne expérimentée. Il a été montré par la méthode des plateaux dupliqués que les résultats de ces enquêtes ne diffèrent pas significativement des quantités mesurées par bombe calorimétrique (pour les calories totales) et analyse biochimique, en dehors d'une sous-estimation pour les protéines⁵⁴. Les techniques de référence d'analyse biochimique des selles après recueil complet sur 72 heures ont été utilisées : méthode de Van de Kamer par gravimétrie pour les lipides²²⁵, chimioluminescence¹²¹, qui remplace la technique de Kjeldahl, pour les protéines. Les résultats des bilans d'absorption ont été exprimés en bilan net ou CUD.

Les questions spécifiques auxquels nous avons tenté de répondre par ce travail sont :

a) Quel est la contribution de chacun des différents facteurs, notamment les structures

digestives, dans l'absorption lipidique et protéique et le poids de selles, de façon à en établir les équations explicatives ? Nous avons également recherché les facteurs explicatifs des ingesta oraux.

b) Quel est quantitativement l'effet du rétablissement de la continuité dans l'amélioration de l'absorption, chaque malade (n=12) étant son propre témoin ? En effet nous avons déjà montré que le fait d'avoir tout ou partie du côlon en continuité est un facteur améliorant le pronostic de ces malades (**Article 1**).

c) Quel est le rôle du temps sur les fonctions d'absorption, *i.e.* une adaptation est-elle démontrable, notamment en tenant compte du degré d'hyperphagie, chez l'homme adulte ? Dans cette analyse 14 patients ont été comparés avant et après le 6^{ème} mois post-réssection.

Les méthodes statistiques que nous avons utilisées ont fait appel aux modèles paramétriques et non paramétriques classiques.

4.2.3.2 Résultats et conclusions

Dans ce travail nous avons étudié l'absorption protéique et lipidique globale (*i.e.* nette) pour lesquelles intervient essentiellement l'intestin grêle^{64,216} avec l'objectif d'utiliser ces 2 coefficients d'utilisation digestive pour modéliser la masse absorptive fonctionnelle de l'intestin grêle. Il est important de souligner que ces modèles ne sont valides qu'en présence d'ingesta suffisant.

En réponse aux 3 questions posées avant ce travail :

a) Nous avons établi, en combinant variables topographiques et ingesta, les facteurs explicatifs de l'absorption intestinale des lipides et des protéines. Ces modèles confirment les données physiologiques classiques : le grêle intervient de façon majeure dans l'absorption de ces 2 macronutriments. Le modèle explicatif du poids de selles indique essentiellement la part revenant au côlon pour la réabsorption hydro-électrolytique, néanmoins il est aussi influencé par la quantité de sucres simples ingérés, probablement par l'effet osmotique de ces derniers. Si une mesure précise de l'intestin grêle est réalisée, ici par opisomètre sur transit baryté du grêle (**Article 3**), une corrélation significative acceptable ($r=0.38$ pour l'azote –notamment en cas d'anastomose jéjuno-iléale-, $r=0.30$ pour les lipides –notamment en cas de jéjunostomie), entre les performances d'absorption et la longueur de grêle est observée, fait rarement rapporté dans la littérature²⁵⁸. Ceci nous autorise à utiliser les bilans d'absorption lipido-azotés dans l'évaluation fonctionnelle de la masse intestinale grêlique. En pratique les bilans d'absorption sont difficiles à réaliser, ils imposent le recueil des selles de plusieurs jours avec une enquête diététique quantitative. En effet se baser uniquement sur les pertes digestives est insuffisant d'autant que nous avons montré que ces patients augmentent leurs ingesta avec le

temps. Un certain nombre d'études antérieures sur ce sujet ont utilisé une alimentation à un niveau calorique fixé, par alimentation entérale ou repas test, ne respectant donc pas les conditions habituelles de vie de ces patients ^{46,66}.

Nous avons confirmé qu'une hyperphagie ^{13,53,54} compensatrice, et en fait comportementale et adaptative, est présente chez la majorité (82%) des patients adultes souffrant de SGC post-chirurgical, à un niveau moyen de 2 fois la DER. Cette hyperphagie est rarement présente dans les autres causes de malabsorption médicales sévères (que le patient soit HIV positif ou négatif) ²²⁶, peut-être du fait de la sécrétion de cytokines à action anorexiantes. La modélisation des facteurs explicatifs de l'hyperphagie suggère que celle-ci a tous les traits d'une adaptation comportementale adaptative homéostasique. C'est une réponse adaptée à la situation nutritionnelle : les apports oraux sont fortement et négativement liés à l'indice de masse corporelle (IMC) et à l'absorption lipidique. Ceci évoque une adaptation du patient à sa malabsorption pour tendre à récupérer un poids normal (théorie du pondéostat, ou «set-point» pondéral). Notre expérience montre que beaucoup de ces patients ont une faim non spécifique, plus qu'une augmentation de l'appétit spécifique. Dans cette situation, le rôle de la leptine (hormone d'origine essentiellement adipocytaire diminuant la prise alimentaire) et des médiateurs du «brain-gut axis», dont le GLP-1, libéré par l'iléon terminal (réséqué chez la majorité des patients) et qui serait impliqué dans la satiété ²⁵⁹, seraient intéressants à étudier. Fait important la NP, qui n'induit pas la phase céphalique de la digestion, ne semble pas freiner l'hyperphagie, confortant nos méthodes de prise en charge de ces patients (cf. 1.1.2.5.2). Dans la littérature l'effet de la NP sur les apports oraux du sujet malade reste très mal connu ²⁶⁰.

b) Comme attendu et déjà connu ^{46,58-60}, le rétablissement de la continuité améliore nettement l'absorption hydro-électrolytique et protéino-énergétique : le côlon est le facteur explicatif majeur du poids de selles, qu'il divise par 3 par l'intermédiaire de sa fonction de réabsorption de l'eau et des électrolytes ⁵⁸ et sa présence, par des mécanismes multiples, multiplie par 2 les coefficients d'absorption des lipides et des surtout des protéines.

c) L'hyperphagie compensatrice, comportementale et adaptative se développe au cours de l'évolution à moyen et long terme chez les patients adultes souffrant de SGC, alors que le poids de selles a tendance à baisser. Ainsi, s'exprimant grâce à une masse intestinale fonctionnelle résiduelle (*i.e.* une longueur de grêle) suffisante et du fait de l'hyperphagie, nous avons montré qu'une tendance à l'adaptation, au moins pour l'absorption protéique mais aussi pour le poids de selles, se développait avec le temps : l'amélioration de l'absorption protéique est corrélée à la longueur de l'intestin grêle restant et non à la différence des ingesta

oraux. L'albuminémie, paramètre biologique multifactoriel, s'améliorait significativement et était corrélée à l'absorption protéique. Sur le plan clinique nous avons montré que le sevrage de la NP pouvait parfois être tardif (47% au-delà de 1 mois, 19% au-delà de 6 mois) (**Article 1**). Ceci restait un critère indirect pour une adaptation retardée chez un certain nombre de patients, probablement lié à un lent développement de l'hyperphagie. Nos résultats sur les bilans d'absorption tendent à confirmer cette hypothèse. Ainsi, s'il est possible de se mettre dans les conditions de pouvoir l'observer, notamment en maintenant l'état nutritionnel par la nutrition parentérale et en favorisant le développement d'ingesta oraux élevés, une adaptation peut se démasquer chez le sujet adulte. En tout état de cause plus l'alimentation est hypercalorique, plus le bilan net digestif est positif.

Ainsi cette double évaluation intestinale, anatomique (**Article 3**) et fonctionnelle (**Article 4**), constituent les bases à partir desquels l'évaluation biochimique de la masse entérocytaire fonctionnelle absorptive devient possible. C'est ce que nous allons développer dans la prochaine partie de notre thèse.

5 LA CONCENTRATION PLASMATIQUE VEINEUSE POST-ABSORPTIVE DE CITRULLINE PLASMATIQUE, MARQUEUR DE LA MASSE ENTEROCYTAIRE : MODELISATION BIOCHIMIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE

5.1 Conditions requises pour les marqueurs candidats de la masse intestinale fonctionnelle, i.e. entérocytaire

Le diagnostic d'un SMA (cf. 4.2.1.2), le plus souvent associé à une réduction de la masse intestinale fonctionnelle, repose sur un ensemble d'arguments cliniques, biologiques (en particulier la stéatorrhée quantitative mais celle-ci est influencée par la fonction pancréatique) et anatomiques (radiologie, endoscopie et histologie) ²²⁴. L'étendue de l'atteinte pariétale grêlique est relativement difficile à évaluer sur les données morphologiques usuelles invasives dont on peut disposer et reste un «défi» pour le clinicien. Bien qu'un certain nombre de candidats ait été proposé, il n'existe pas en pratique clinique de marqueur biologique quantifiant la masse entérocytaire, analogue au facteur V de la coagulation (proaccéléline, synthétisé par les hépatocytes) pour le foie et à la créatinine (ou mieux sa clairance d'élimination) pour le rein, utile pour les SMA d'origine entérocytaire et donc pour la définition de l'insuffisance intestinale. Un tel marqueur doit être apte à détecter avec sensibilité et spécificité ce pourquoi il est indiqué, c'est à dire les variations de la masse et de la fonction (absorptive) de l'intestin grêle et donc des entérocytes. Le marqueur candidat de la masse intestinale fonctionnelle absorptive doit : a) être relié à une ou plusieurs fonctions intestinales, donc peu ou prou à la fonction absorptive globale, b) ne pas être influencé par d'autres pathologies (spécificité), c) ne pas être directement modifié par l'état nutritionnel et les apports alimentaires, en particulier oraux ou entéraux. Il faut s'interroger sur la possibilité effective de ce dernier point car les apports oraux influencent potentiellement la masse entérocytaire ou l'expression de son fonctionnement, en particulier si elle est réduite. C'est ainsi que les apports oraux influencent l'hyperplasie adaptative dans le SGC chez l'animal ^{48,49,237} mais aussi chez l'homme ⁴⁸. Au vu des fonctions intestinales il apparaît logique que ce marqueur soit lié à une fonction métabolique ou hormonale de l'intestin, ce qui est le cas de tous les marqueurs de la masse intestinale qui ont été proposés dans la littérature.

Une fois un marqueur d'intérêt potentiel, basé sur ses caractéristiques métaboliques, identifié, il est nécessaire : a) sur le plan *analytique*, de vérifier sa reproductibilité (variations

sur le même prélèvement analysé des jours différents < 10%) et sa répétabilité (variations sur le même prélèvement analysé le même jour < 1%) ; b) sur le plan *pratique*, de vérifier qu'il est utilisable sans difficultés : aisé à prélever (ce qui implique sa présence dans un fluide biologique accessible facilement, en particulier le sang veineux), avec un rendu des résultats rapide et, si possible, non onéreux ; c) une fois ceci acquis il sera possible en *clinique* établir sa valeur diagnostique en déterminant sa sensibilité (fonction des faux négatifs : c'est l'aptitude à détecter les malades), sa spécificité (fonction des faux positifs : aptitude à détecter les non malades) ainsi que ses valeurs prédictives positives et négatives.

Le marqueur candidat que nous proposons dans nos travaux, la concentration de citrulline plasmatique déterminée au sein d'un aminoacidogramme, moyennant un certain nombre de précautions méthodologiques, nous semble avoir toutes les qualités requises pour être un bon marqueur de la masse entérocytaire. Le rationnel de son choix est basé sur une fonction métabolique de l'intestin (cf. 5.4). Sur le plan pratique, il satisfait aux critères bien qu'il nécessite un laboratoire de Biochimie spécialisé. Sur le plan analytique, il satisfait aux 2 conditions indispensables ²⁶¹.

5.2 Facteurs de variation de la masse intestinale muqueuse fonctionnelle

Il s'agit d'un concept relativement difficile à quantifier, rejoignant l'adaptation intestinale. On en fera ici une synthèse brève. Les facteurs de variations agissent dans une intrication spatio-temporelle et structuro-fonctionnelle complexe ^{135,227,246}. Ainsi diminution de masse ne signifie pas obligatoirement diminution de fonction, notamment absorptive, et *vice versa*. La masse intestinale peut être exprimée sur l'organe entier, par segments d'intestin ou par cellule.

5.2.1 Facteurs physiologiques

L'âge est un premier facteur. Il existe des modifications de la muqueuse intestinale après la naissance. Le lait constitue un stimulant de la croissance intestinale. Une maturation de la muqueuse intestinale s'observe notamment au moment du sevrage. Le grêle s'allonge jusqu'à la fin de la croissance, la relation taille-longueur de grêle devenant linéaire après l'âge de 1 an ²⁶². Le sexe intervient car la longueur de grêle est inférieure chez la femme par rapport à l'homme ²⁶³. Pendant la grossesse des modifications, plus fonctionnelles que structurelles, s'observent au niveau absorbant avec en particulier une meilleure efficacité de l'absorption des micronutriments (calcium, fer...). Pendant la lactation la masse intestinale augmente. Un facteur de variation physiologique majeur, au moins chez l'animal, est la prise alimentaire,

qualitativement (action de nutriments à rôle trophique comme la glutamine et de certains facteurs de croissance comme l'EGF du lait) et/ou quantitativement. L'hyperphagie, et les lésions de l'hypothalamus ventromédian («centre» de la satiété), augmentent expérimentalement la masse intestinale ^{264,265}. Chez le rongeur le jeune total et la NP exclusive induisent rapidement une diminution du renouvellement cellulaire cryptique et une atrophie villositaire réversible, avec une diminution mesurée de 30% de la masse intestinale. Des anomalies aussi nettes n'ont jamais été démontrées chez l'homme ^{231,233}. Par contre la dénutrition, notamment protéique, induit une atrophie villositaire chez l'enfant ^{234,266}. La flore microbienne joue un rôle important pour la trophicité intestinale : les animaux axéniques ont une hypotrophicité muqueuse. Les sécrétions bilio-digestives ^{135,246} et de certaines neurohormones digestives jouent de même un grand rôle trophique sur la muqueuse intestinale

5.2.2 Facteurs pathologiques

- Diminuent la masse intestinale muqueuse : les résections intestinales, les atrophies villositaires (cf. **Figure 3**) et autres entéropathies, certains médicaments (méthotrexate...) et carences en micronutriments (folates, B₁₂, zinc.), le stress métabolique (effet sur la barrière intestinale avec augmentation du risque de bactériémie d'origine digestive)... Cependant il faut tenir compte de l'adaptation qui peut tendre à normaliser la masse (par hypertrophie ou surtout hyperplasie cellulaire muqueuse) et surtout la fonction intestinale. Selon les situations l'adaptation peut ou non s'exprimer.

- L'augmentation de la masse intestinale muqueuse est en pratique rare (certaines tumeurs). Il a été décrit des hyperplasies villositaires dans le cadre de tumeurs sécrétant de l'entéroglucagon ²⁶⁷. D'autres pathologies hormonales pourraient augmenter la masse intestinale (hyperthyroïdie, hypercorticisme, gastrinome, acromégalie) mais il n'y a pas d'élément pour évoquer une hyperabsorption des macronutriments. On peut par ailleurs observer une augmentation de certaines fonctions intestinales sans modification de la masse proprement dite : c'est le cas de l'hémochromatose génétique qui est un syndrome d'hyperabsorption du fer liées aux modifications d'expression de diverses protéines de l'axe crypto-villositaire (DMT1, HFE).

5.3 Marqueurs de la masse entérocytaire proposés dans la littérature

5.3.1 Diamine oxydase post héparine (DAO-PH)

La DAO (ou histaminase) est une enzyme cuivre-dépendante intervenant dans le catabolisme des polyamines et de l'histamine en les déaminant ²⁶⁸. Sa plus haute activité est trouvée dans l'intestin grêle où elle est exprimée par les cellules matures villositaires au pôle basolatéral mais son activité est également élevée au niveau de la moelle osseuse et des tissus néoplasiques. Dans l'intestin son activité est maximale au niveau de l'iléon distal.

Les polyamines, notamment putrescine, spermidine et spermine, sont des substances essentielles pour la prolifération cellulaire. Elles sont d'origine exogène (alimentation) ou endogène. Les polyamines endogènes sont notamment synthétisées à partir de l'arginine convertie en ornithine, elle-même prise en charge par l'ODC qui est l'enzyme limitant. La DAO est une enzyme régulatrice dans tous les tissus à renouvellement cellulaire rapide, incluant la muqueuse intestinale. Durant le phénomène d'adaptation intestinale post-résection l'activité de la DAO s'élève parallèlement à celle de l'ODC. L'inhibition par l'aminoguanidine de la DAO améliore l'adaptation intestinale après résection ²⁴³. Il a été fait de la DAO un marqueur de la maturation cellulaire de la masse muqueuse intestinale ²⁶⁹. Son taux plasmatique est positivement corrélé avec la maturation et l'intégrité de la muqueuse intestinale : il est par exemple bas chez les patients avec SAV ^{270,271}. L'activité plasmatique de la DAO baisse également pendant la grossesse. Dans l'ischémie intestinale son taux plasmatique est augmenté du fait de sa probable libération par les tissus lésés.

Son activité plasmatique, quantifiée par le ¹⁴C-putrescine assay, peut être dosée dans le plasma à l'état basal, mais elle y est spontanément très faible. Il est préférable de la doser après injection en bolus de faibles doses d'héparine (3000 à 15000 unités). L'héparine libère la DAO, de sa liaison sur les sites endothéliaux microvasculaires intestinaux et sur la membrane basolatérale des cellules épithéliales villositaires, vers la circulation périphérique ²⁷². Ce dernier test sensibilise les résultats. Les prélèvements sont effectués toutes les 15 minutes pendant 2 heures, temps de retour à l'état basal. Les résultats sont ensuite exprimés en aire sous courbe. Néanmoins ce marqueur ne semble pas avoir répondu aux attentes mises en lui dans le SAV ²⁷² ainsi qu'après résection intestinale ²⁷³, car les nouvelles études n'ont pas retrouvées les liaisons initialement suggérées. Par ailleurs à notre connaissance il n'y a pas de données concernant la DAO en fonction des performances d'absorption intestinale. Ainsi il est possible que la DAO-PH soit plus un marqueur de la maturation cellulaire que de la masse fonctionnelle absorptive proprement dite. Après avoir suscité des espoirs comme

marqueur de la masse entérocytaire ce marqueur a été abandonné, sauf en recherche. De plus la réalisation d'une épreuve dynamique avec nombreux prélèvements (nécessitant un cathétérisme vasculaire) et un dosage non disponible de manière courante n'ont pas favorisé son développement.

5.3.2 Apolipoprotéines

L'intestin grêle joue un rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines, car il sécrète les chylomicrons, les VLDL intestinales et une partie des HDL²⁷⁴. C'est ainsi que les entérocytes sont le site, unique ou non, pour la synthèse et la sécrétion d'un certain nombre d'apolipoprotéines (AI, AII, AIV, B48, CII, CIII) contenu notamment dans les chylomicrons formés après l'absorption des graisses. Il est à noter que les malabsorptions s'accompagnent fréquemment d'une hypocholestérolémie essentiellement liée à l'interruption du cycle entéro-hépatique des sels biliaires (pour le LDL) mais également à un défaut de synthèse des apolipoprotéines (pour le HDL). Ces particularités ont pu être utilisés dans le traitement chirurgical (by-pass iléal) de certaines hypercholestérolémies sévères. Pour être interprétable le dosage des apolipoprotéines doit être impérativement effectué à jeun, ces protéines étant sécrétées en réponse à l'absorption des graisses alimentaires (notamment acides gras saturés et cholestérol), ce qui augmente leurs concentrations plasmatiques. Dans le cadre de l'évaluation des fonctions entérocytaires les apolipoprotéines théoriquement utilisables sont :

L'apolipoprotéine B48. Elle correspond à 48% du poids moléculaire de l'apolipoprotéine B100 synthétisée uniquement par le foie. Chez l'homme il s'agit d'un produit spécifiquement entérocytaire du gène de l'apolipoprotéine B muni d'un codon stop sur son ARNm. Elle est incorporée dans les chylomicrons. Nous n'avons pas connaissance que l'apolipoprotéine B48 circulante ait été étudiée dans les entéropathies, son taux à jeun étant à l'état de traces. Par contre son dosage après charge orale lipidique a été proposé pour évaluer l'insuffisance exocrine pancréatique²⁷⁵. L'apolipoprotéine B100 plasmatique n'est pas abaissée après by-pass intestinal ou en cas de SGC avec insuffisance intestinale²⁷⁶.

L'apolipoprotéine AI. C'est le constituant majeur des HDL (représentant deux tiers de ses apolipoprotéines) et une des apolipoprotéines des chylomicrons. Elle est impliquée dans le métabolisme reverse du cholestérol (activateur de la LCAT = lécithine cholesterol acyl transferase). L'intestin synthétise 50% de l'apolipoprotéine AI, le reste étant produit par le foie. Sa concentration (N=1.3 g/l) est abaissée de 30 à 50% après by-pass jéjuno-iléal²⁷⁷ et de 30% chez les patients avec insuffisance intestinale sans insuffisance hépatique²⁷⁶ de façon

concomitante à une réduction du HDL cholestérol, suggérant que ces derniers patients puissent avoir un risque cardio-vasculaire augmenté. L'apolipoprotéine AI est abaissée en cas de dénutrition (dans le kwashiorkor en particulier), dans les syndromes inflammatoires et les états d'agression métabolique (c'est un marqueur négatif de l'inflammation). Ceci souligne son manque de spécificité.

L'apolipoprotéine AII. C'est un des constituants des HDL (22% de son contenu protéique). Elle est synthétisée par l'intestin et le foie. Sa concentration plasmatique est réduite de 50% chez les patients avec insuffisance intestinale ²⁷⁶. Pas plus que pour l'apolipoprotéine AI, il n'y a pas de corrélation entre sa concentration sérique et la longueur de grêle restant ²⁷⁶.

L'apolipoprotéine AIV. Il s'agit d'une glycoprotéine (poids moléculaire 46 000, gène situé sur le bras long du chromosome 11 chez l'homme) dont le métabolisme est sensible aux variations de l'état et surtout de l'apport nutritionnel. Dans l'espèce humaine, contrairement au rat, son ARNm est exprimé quasi uniquement (>90%) par les entérocytes (maximum au niveau des villosités jéjunales) : l'apolipoprotéine AIV plasmatique est d'origine intestinale ²⁷⁸. La synthèse et la sécrétion de l'apolipoprotéine AIV sont stimulées par l'absorption des triglycérides alimentaires. L'apolipoprotéine AIV est sécrétée par les entérocytes à la surface des chylomicrons natifs, elle se réassocie en partie aux HDL puis est rapidement libérée dans la circulation où elle se trouve non-associée aux lipoprotéines. Son temps de résidence dans le plasma est bref (inférieur à 1 jour). Elle pourrait intervenir dans le transport reverse du cholestérol. Elle semble théoriquement une apolipoprotéine intéressante pour évaluer les fonctions intestinales. Néanmoins elle s'abaisse rapidement après arrêt de l'alimentation orale. L'apolipoprotéine AIV sérique a été étudiée dans une série de 6 malades avec grêle court ²⁷⁹. Son taux (N=0.15 g/l) était significativement abaissé, de même que les LDL et HDL cholestérol, par rapport à 12 patients en nutrition parentérale mais sans résection intestinale et à des contrôles, mais non corrélé à la longueur de grêle restante. Dans ce travail l'apolipoprotéine AI était également abaissée. Dans le SGC il semble en fait que l'apolipoprotéine AIV soit aussi un marqueur très sensible de l'absence de nutriments dans le tube digestif : dans ce travail tous les patients étaient en NP exclusive. Chez le rat le jeûne s'accompagne rapidement d'une atrophie jéjunale et d'une baisse de l'apolipoprotéine AIV circulante, réversibles à la renutrition ²⁸⁰. L'apo AIV n'est donc pas seulement un marqueur de la masse fonctionnelle entérocytaire résiduelle mais il s'agit aussi, de part sa fonction, d'un marqueur des apports lipidiques oraux ou entéraux (c'est la seule apolipoprotéine dont la concentration augmente en post-prandial). Actuellement, en dehors des laboratoires de recherche, le dosage de l'apo AIV n'est pas disponible en routine.

5.3.3 Béta-carotène

Ce marqueur a été proposé comme marqueur indirect de la stéatorrhée. Le béta-carotène est un caroténoïde, appartenant aux provitamines A (vitamine A = rétinol) car c'est le précurseur de la vitamine A après métabolisme intestinal. Le béta-carotène est d'origine végétale et est la principale source de vitamine A dans l'alimentation. Le béta-carotène se dissout dans les micelles puis est absorbé par diffusion passive. Dans les entérocytes le béta-carotène est métabolisé (béta-carotène 15, 15' dioxygénase) en rétinol puis transformé en rétinol, acide rétinoïque et apocaroténoïdes. Le rétinol réestérifié, le béta-carotène restant et les apocaroténoïdes sont incorporés dans les chylomicrons.

Le dosage sérique statique ou après administration orale de caroténoïdes a été proposé pour évaluer les malabsorptions. Il existe une corrélation hyperbolique entre le béta-carotène sérique et la stéatorrhée. Quand le béta-carotène sérique est $< 100 \mu\text{g/dL}$ sa sensibilité est élevée (100%) mais il est peu spécifique (nombre élevé de faux positifs). Il devient spécifique (93%) en dessous de $50 \mu\text{g/d}$ ²⁸¹. Ainsi le dosage du béta-carotène pourrait être un marqueur fonctionnel pour quantifier la malabsorption lipidique, mais il a l'inconvénient d'être contenu dans l'alimentation. De plus il est non spécifique des malabsorptions, car également abaissé dans les insuffisances pancréatiques exocrines.

5.3.4 Autres

- La FABP est une protéine de 12000 kilodaltons, présente dans la muqueuse intestinale et dans les autres tissus utilisant les acides gras (foie, myocarde...). Il existe une isoforme spécifiquement intestinale (I-FABP), exprimée principalement au niveau de la bordure en brosse et du cytoplasme des entérocytes des villosités de l'intestin grêle proximal. Elle intervient dans le transport des lipides absorbés, de la membrane apicale au réticulum endoplasmique. Son expression augmente suivant un repas riche en lipides. Ce marqueur, dosé par EIA (enzyme immunoassay) dans le sérum, s'élève en cas d'ischémie mésentérique ou de rejet de transplantation intestinale. Une étude clinique a montré que son élévation était proportionnelle à l'extension du processus ischémique intestinal²⁸². Il peut également s'élever dans les occlusions du grêle par strangulation. Ce n'est donc pas vraiment un marqueur de la masse fonctionnelle intestinale mais un marqueur quantifiant l'extension de l'atteinte d'un processus pathologique sévère sur le grêle, de très bonne sensibilité devant un abdomen aigu, mais difficilement disponible rapidement en routine.

- Les carences classiques des SMA, notamment albuminémie, calcémie, magnésémie, TP (facteurs vitamine K dépendant), cholestérolémie et ses fractions, métabolites de la vitamine D, vitaminémie A, vitaminémie E, zincémie... sont trop peu spécifiques, elles sont en particulier influencées par l'état et les apports nutritionnels, pour être des marqueurs fiables de la masse intestinale. Néanmoins elles peuvent, et doivent, être utilisées comme marqueurs indirects de la sévérité du retentissement général d'une entéropathie (cf. **Article 6**). L'oxalurie ($n < 50$ mg/24h), produit métabolique terminal imposant un recueil urinaire, corrélée à la stéatorrhée ($r=0.6$), n'est pas utilisable en cas d'absence de côlon car s'est ce dernier qui absorbe les oxalates rendus solubles dans les malabsorptions. L'hyperoxalurie est moins fréquente et moins marquée dans les maldigestions d'origine pancréatique. Les 2 tests fonctionnels d'absorption principaux (test au D-xylose et test de Schilling) ne sont pas adaptés à la quantification de la masse intestinale. Néanmoins le test de Schilling est utile pour vérifier l'extension des processus pathologiques sur l'intestin ; il dépend aussi de la fonction sécrétoire fundique et du niveau des populations bactériennes dans le grêle.
- Les divers peptides trophiques, notamment le GLP-2 synthétisé et libéré par l'iléon, et dont la sécrétion est perturbée après résection intestinale massive⁹⁵, joue probablement un rôle important dans la physiopathologie des modifications intestinales post-résection (notamment en ce qui concerne la vitesse du transit, les sécrétions et l'adaptation intestinale). Il est possible que le GLP-2, dosable par radio-immunologie, soit un marqueur de la masse intestinale mais ceci devrait être testé. L'interprétation de sa concentration plasmatique nécessite la réalisation d'épreuves dynamiques (repas test...). La sécrétion intestinale du GLP-2 est stimulée par le contenu énergétique de l'alimentation (glucides et lipides) mais pas par un repas protéique²⁸³.

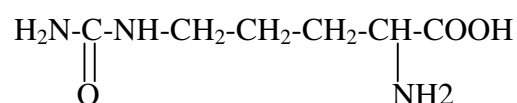
Au total aucun marqueur de la masse entérocytaire satisfaisant n'est disponible pour la pratique clinique actuellement.

5.4 Biochimie et métabolisme de la citrulline

La L-citrulline (poids moléculaire 175), contient 3 atomes d'azote (**Figure 7**) et est l'un des 3 AA, sur les 23 présents dans l'espèce humaine, non protéique (endogènes ou exogènes), au même titre que l'ornithine et la taurine. Sa présence dans l'alimentation est donc extrêmement faible. En France, en dehors de l'Azonutril[®] (qui n'est plus commercialisé), un seul soluté de NP contient de la citrulline, le Périfazo[®] (120mg/100 ml). La citrulline a été découverte à

l'état libre et isolée du suc de pastèque et de citrouille, d'où son nom. Elle est synthétisée notamment au cours du cycle de l'urée hépatique (ou cycle de Krebs-Henseleit) à partir de l'ornithine et du carbamoylphosphate : l'enzyme directement responsable de sa synthèse est l'ornithine transcarbamoylase (OTC), localisé dans les mitochondries des hépatocytes, où son activité spécifique est de loin la plus élevée de l'organisme (cf. **Tableau 6**), et des entérocytes. La citrulline peut également être synthétisée dans les cellules endothéliales (ainsi que dans le système nerveux central et périphérique, les macrophages et lymphocytes) par l'intermédiaire de la monoxyde d'azote (NO) synthase constitutionnelle et inductible cytosolique. Dans les fluides biologiques la citrulline est présente dans le sang circulant (en moyenne 40 $\mu\text{mol/l}$), d'origine intestinale, le LCR, l'urine (il existe une citrullinurie physiologique, peu influencée par l'âge : environ 5 $\mu\text{mol/mmole}$ de créatinine), et le liquide amniotique et ce dès la 8^{ème} semaine de gestation, probablement d'origine hépatique. La citrulline est un précurseur pour la synthèse d'arginine dans tous les tissus, et en particulier dans le rein, et pour celle d'urée (dans le foie). La citrulline est également retrouvée au niveau cellulaire libre, en particulier dans les globules rouges (45 à 50 $\mu\text{mol/l}$ d'eau intracellulaire) et le muscle (170 $\mu\text{mol/l}$ d'eau intracellulaire) ¹¹⁴.

FIGURE 7. FORMULE DEVELOPPEE DE LA CITRULLINE.



5.4.1 Les 3 cycles indépendants de synthèse de la citrulline

5.4.1.1 Cycle intrahépatique

La citrulline n'y est qu'un intermédiaire métabolique dans le cadre de la synthèse de l'urée. Le cycle de l'urée joue un rôle majeur dans le métabolisme azoté des mammifères car il permet l'élimination de l'excès d'azote, généré par le catabolisme des AA endogènes et par les apports exogènes. Ainsi dans le foie, au niveau des hépatocytes périportaux, la citrulline fait le lien entre un métabolite toxique (l'ammoniaque) et un métabolite non toxique (l'urée, produit terminal du métabolisme protéique), destiné à être éliminé par le rein. Pour 15 à 40% de sa production en alimentation orale l'urée diffuse dans l'intestin avant d'y être dégradé par des uréases bactériennes coliques produisant de l'ammoniaque qui peut être réabsorbé (mécanisme d'épargne azoté, mal quantifié chez l'homme) ²⁸⁴. La citrulline hépatocytaire ne sort pas du foie : il a été montré par le modèle du foie isolé et perfusé que le foie n'importe ni

n'exporte de quantité significative de citrulline ¹³⁵. Par ailleurs dans le foie l'arginase (permettant la production d'urée et d'ornithine à partir de l'arginine) est très active ce qui explique que le foie exporte très peu d'arginine.

5.4.1.2 Cycle cellulaire

La citrulline y intervient dans le cadre de la synthèse du NO°. Le NO° et la citrulline sont coproduites à partir de l'arginine (substrat). Le NO°, substance radicalaire très réactive, joue un rôle biologique fondamental dans de multiples processus ²⁸⁵. Ses principaux découvreurs (Furchgott, Ignarro, Mourad) ont reçu le prix Nobel de Médecine et Physiologie en 1998. Trois isoformes de l'enzyme NO synthase (NOS ou arginine déiminase, NADPH dépendante, de localisation cytosolique) sont connues :

- la NO synthase 1 (nNOS), constitutive, exprimée notamment dans le système nerveux central et périphérique où le NO°, produit rapidement et faiblement, joue le rôle de neurotransmetteur (système non adrénérgique non cholinérgique).

- la NO synthase 2 (iNOS), calcium indépendante, inductible par les cytokines et les endotoxines, exprimée essentiellement par les cellules immunitaires (lymphocytes, macrophages et histiocytes). Le NO°, produit continuellement et à forte dose, joue ici un rôle cytotatique et cytotoxique (médiateur impliqué dans le stress oxydant).

- la NO synthase 3 (eNOS), constitutive, exprimé notamment par l'endothélium vasculaire. Le NO° y a une action vasodilatatrice (c'est l'ERDF : endothelium derived relaxing factor).

Le débit de production de NO°, médiateur gazeux lipophile à demi-vie brève (4 secondes), est quantifiable *in vivo* par le dosage du couple nitrates/nitrites dans le plasma ou les urines, mais le résultat est très fortement influencé par les apports alimentaires (teneur en nitrates de l'eau...). Une étude *in vivo* suggère que le territoire splanchnique produit 16% du NO° de l'organisme ²⁸⁶. C'est ainsi qu'en particulier les entérocytes synthétisent du NO° à partir de l'arginine ²⁸⁷, par l'intermédiaire de NO synthases constitutionnelles et inductibles. L'activité de ces enzymes est maximale au niveau des villosités ²⁸⁸. Dans l'intestin le rôle du NO° est multiple : il intervient notamment dans la circulation splanchnique et la microcirculation muqueuse, dans la motricité et le transport ²⁸⁹ et, bien entendu, dans l'inflammation intestinale ²⁹⁰. La citrulline produite à partir de l'arginine est recyclée en arginine dans les cellules produisant le NO° ²⁹¹⁻²⁹³, l'induction de la NO synthase s'accompagnant de celle de l'enzyme limitant de la resynthèse d'arginine (arginosuccinate synthase ou ASS) par couplage métabolique, tant dans les macrophages que dans les cellules endothéliales. La production de NO° représente moins de 1% du flux d'arginine contre 15% pour la production d'urée

294,294,295

5.4.1.3 Cycle interorgane.

C'est celui qui nous intéresse particulièrement ici (**Figure 8**, d'après ¹⁴⁷). Bien qu'il ne produise pas d'urée, certains l'ont appelé «cycle de l'urée» extra-hépatique ²⁹⁴. Il n'a été formellement démontré que chez l'animal. Chez le sujet sain il existe une relation positive hautement significative ($P < 0.001$) entre citrullinémie et glutaminémie et entre argininémie et citrullinémie.

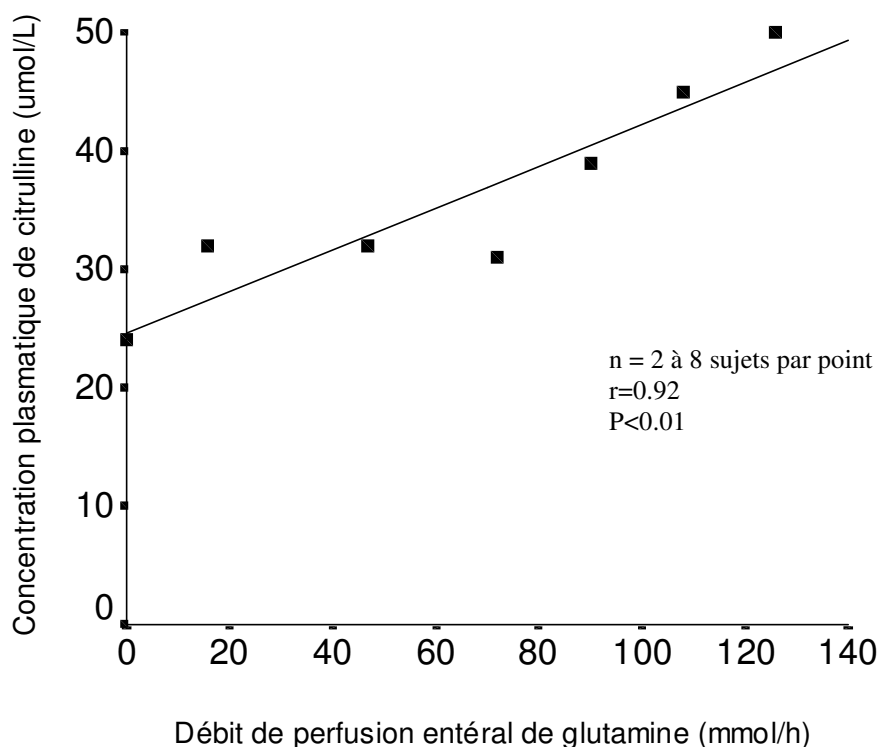
ROLE DE L'INTESTIN

Seul les entérocytes de la muqueuse de l'intestin grêle produisent de façon quantitative significative la citrulline circulante ¹³⁵. Chez les omnivores (homme, porc, rat) la muqueuse intestinale possède l'équipement enzymatique pour un cycle de l'urée complet avant le sevrage, puis incomplet après le sevrage : dans ces espèces l'arginine n'est pas un AA essentiel.

Le précurseur majeur *in vivo* pour la synthèse de la citrulline dans l'intestin est la glutamine, d'origine en particulier musculaire à jeun, mais également d'origine luminale (apport alimentaire) à l'état nourri, suggérant l'absence de compartimentation des voies métaboliques de la glutamine en fonction du site d'apport, luminal ou vasculaire. Dans le modèle d'intestin isolé et perfusé 6% du squelette carboné et 28 à 34% de l'azote α aminé de la glutamine extraite par l'intestin est transformée en citrulline ^{135,149}. Chez l'homme on peut penser qu'environ 5 à 10% du flux de glutamine servirait à l'interconversion en citrulline. Chez le rat une alimentation entérale enrichie en glutamine (12.5% de l'apport azoté) augmente de 30% la citrullinémie et la production rénale d'arginine ¹⁷¹. Chez l'homme sain la perfusion jéjunale de glutamine sur un court segment de 30 cm entraîne une augmentation de la concentration plasmatique de citrulline proportionnellement au débit de perfusion de glutamine ¹⁴² (**Figure 9**). *In vivo* chez l'homme sain, l'ingestion d'arginine entraîne une augmentation de l'ornithinémie mais non de la citrullinémie [^{286,295-297}, résultats personnels]. Par contre la perfusion intraveineuse d'arginine augmente la citrullinémie, dont l'origine (voie du NO ou intestin) n'est pas, à notre connaissance, déterminée. Chez l'homme, le rat ou le chat l'ornithine administrée par voie entérale ne remplace pas la citrulline pour la production d'arginine ^{187,294}, ce qui suggère une compartimentation métabolique dans les entérocytes ¹⁹⁰. Il a cependant été suggéré *in vivo* chez l'homme qu'au maximum 5 à 15% du flux de citrulline pourrait venir de l'ornithine ²⁹⁵, notamment en cas d'apport protéique faible ou nul. L'administration orale, mais non intraveineuse, d' α -cétoglutarate d'ornithine élève la citrullinémie ²⁹⁸.

FIGURE 8. METABOLISME INTERORGANE DE LA GLUTAMINE, LA CITRULLINE, L'ORNITHINE ET L'ARGININE.

FIGURE 9. Relation entre le débit de perfusion entérale de glutamine et la citrullinémie *in vivo* chez le sujet sain (d'après Déchelotte et al., Am J Physiol 1991 ; 260 : G681).



In vitro, sur entérocytes isolés, si bien entendu la glutamine est un précurseur de citrulline ²⁹⁹, notamment après le sevrage, l'arginine ^{287,300} et la proline ³⁰¹ peuvent aussi l'être. Par ailleurs, en fonction des conditions expérimentales, tous les intermédiaires dans la voie de biosynthèse (glutamate, ornithine...) peuvent générer *in vitro* de la citrulline du fait de la réversibilité des réactions ¹⁹⁰. Sur entérocytes isolés de porc nouveau-nés il a été montré que la citrulline, ainsi que l'arginine, pouvait venir de la proline ³⁰¹ par la voie de la proline oxydase, différente de la voie classique impliquant le pyrroline-5-carboxylate (cf. infra). Cette voie de production de citrulline diminue de la naissance, où elle représenterait 40% de celle de la voie glutamine, au 7^{ème} jour de vie, puis elle reste stable sans diminution après le sevrage (10% de la «voie glutamine»). Comme pour la voie glutamine il existe un changement de «priorité» avant et après le sevrage, avec respectivement la production majoritaire d'arginine puis de citrulline par les entérocytes, le rein prenant le relais pour la synthèse arginine après le sevrage. L'apport de glutamine dans le milieu joue un rôle synergique pour la production de citrulline à partir de la proline ³⁰¹.

Le rôle des tissus extraintestinaux est peu important dans la production de citrulline circulante. La protéolyse ne libère pas de citrulline car elle n'est pas contenue dans les protéines. Dans les suites immédiates d'une résection intestinale expérimentale il a été montré

que c'est le muscle, libérant la citrulline du liquide intracellulaire, qui prend le relais pour sa production sans toutefois normaliser la citrullinémie¹³⁵. Chez l'homme avec grêle court nous n'avons pas observé de différence artérioveineuse périphérique significative de citrullinémie [cf. 6.4.1] à distance de la résection, suggérant que le rôle du muscle est faible.

L'équipement enzymatique de l'intestin permet, à partir du glutamate (carrefour métabolique : «glutamate crossway»), la synthèse de proline, d'ornithine, de citrulline et d'alanine. Dans les entérocytes de la muqueuse intestinale les enzymes, toutes mitochondriales (matrice ou membrane interne), impliquées pour la synthèse de la citrulline à partir de la glutamine sont au nombre de 6 (**Figure 8**) :

-la *glutaminase* phosphate dépendante, qui est l'objet d'un double gradient décroissant jéjuno-iléal et probablement crypto-villositaire^{302,303}.

-la *delta 1 pyrroline-5-carboxylate synthase* (P5CS : formation de P5C à partir du glutamate) [3]. L'ADNc de cette enzyme a été cloné et séquencé, le gène étant situé sur le chromosome 10 (10q24.3)³⁰⁴. L'activité maximale de la P5CS, enzyme de la membrane interne ATP et NADPH dépendante, est située au niveau de la muqueuse intestinale chez le rat³⁰⁵ (**Tableau 6**) et le porc³⁰⁶ ce qui pourrait en faire, associé à une vitesse de réaction faible, l'étape limitante (enzyme-clé) de cette voie métabolique. L'activité, par mg de protéine, n'est pas différente entre le mâle et la femelle chez le rat³⁰⁷. La P5CS est une enzyme intestinale caractéristique des omnivores. Wakabayashi a estimé que le duodéno-jéjunum comptait pour plus de 80% de l'activité totale de la P5CS de l'organisme³⁰⁷. La P5CS est un complexe enzymatique bifonctionnel où se produit 2 réactions : la formation du glutamic- γ -semialdéhyde, vrai précurseur de l'ornithine, formé grâce à l'*ornithine delta-aminotransferase* (OAT, enzyme d'expression intestinale, hépatique et rénale) [4]. Dans l'intestin il a été suggéré par étude immunohistochimique que l'expression de l'OAT est uniquement villositaire mais non cryptique³⁰⁸. Le glutamic- γ -semialdéhyde est aussi le précurseur du P5C qui est produit par réaction spontanée. *In vitro* la formation de P5C est inhibée par feedback négatif par l'ornithine intramitochondriale mais non par la citrulline et l'arginine. La proline est synthétisée par l'intestin à partir du P5C (intervention de la *pyrroline-5-carboxylate reductase* cytosolique).

-En parallèle la CPS-I (*carbamoyl phosphate synthase*, EC 6.3.4.16) [1] ATP dépendante catalyse la formation de carbamoyl phosphate, à partir de l'ammoniaque et du bicarbonate. La CPS est activée par la formation de NAG, N-acetylglutamate, à partir du glutamate grâce à la *NAG synthase* activée elle-même par l'arginine.

-l'OTC (*ornithine transcarbamylase*, EC 2.1.3.3) [2] permet la condensation de

l'ornithine et du carbamoyl phosphate en citrulline.

Les 3 étapes de contrôle dans la biosynthèse de la citrulline sont la NAGS, la CPS-I et l'OTC. Les 13 enzymes du «glutamate crossway» sont soit ubiquitaires (OAT, P5C réductase), soit modérément ubiquitaires (glutaminase, glutamine synthase, ASS, ASL=arginosuccinate lyase, proline oxydase, P5C déhydrogenase, arginase) soit tissu spécifique (P5CS, CPS, OTC, NAGS) ¹⁸⁷ : l'intestin est le seul organe où toutes les enzymes requises pour la formation de la citrulline à partir du glutamate sont présentes. Cette voie n'a pas été mise en évidence dans les lymphocytes, notamment intestinaux. Ainsi l'OTC, et à moindre degré la CPS, ne sont exprimés que par les hépatocytes et les entérocytes, alors que la P5CS l'est essentiellement par les entérocytes ¹⁸⁷ (**Tableau 6**). Par contre, à l'état normal ces enzymes sont très peu exprimés par les colonocytes. En dehors de la glutaminase, d'activité maximale à jonction crypte-villosité ³⁰³, l'activité différentielle de ces enzymes le long de l'axe crypto-villositaire n'est pas connu. L'activité de la glutaminase de l'épithélium intestinal est augmentée après résection intestinale ³⁰⁹.

La citrulline sort des mitochondries par l'intermédiaire de la citrulline translocase H⁺ dépendante de la membrane mitochondriale qui assure un échange équimolaire avec l'ornithine. Contrairement au foie, la synthèse intestinale de citrulline n'est pas dépendante du transport de l'ornithine dans la mitochondrie car l'ornithine est synthétisée *in situ* à partir de la glutamine dans la matrice mitochondriale. L'activité de l'ASS et de l'ASL, les 2 enzymes cytosoliques impliquées dans la formation d'arginine à partir de la citrulline, sont très faibles dans l'intestin de l'adulte sevré ce qui implique que celui-ci ne produise pas ou peu d'arginine. Par contre chez l'animal non sevré les activités de ces 2 enzymes sont fortes ce qui explique que dans cette situation l'intestin puisse produire de l'arginine ^{310,311}. L'activité de l'arginase intestinale est basse avant sevrage et élevée après sevrage ³¹².

La première étude ayant déterminée par dilution isotopique le flux ou débit de production de citrulline chez l'homme ²⁹⁴ a trouvé la plus petite valeur connue de flux pour un AA (inférieur de 30% à celui de l'ornithine), dépendant du traceur utilisé, *i.e.* [uréido-¹³C]citrulline : 10 à 13 µmol/kg.h, [5,5²H₂]citrulline : 9 à 10 µmol/kg.h. Le flux de ce dernier traceur était plus bas de 10 à 20% du fait d'un possible recyclage du traceur (reconversion en ornithine). Le flux de citrulline est peu modifié entre l'état post-absorptif et nourrit par voie orale, mais pourrait légèrement augmenter en NP ³¹³. Il ne diffère pas selon que l'alimentation est normale ou dépourvue en arginine ²⁹⁴. Dans ce modèle environ 50 à 60% du flux de citrulline est converti en arginine, cette synthèse *de novo* représentant environ 10% du flux d'arginine ²⁹⁴. Le flux total d'arginine augmente à l'état nourrit, sauf si l'alimentation est

dépourvue en arginine, alors que la synthèse *de novo* d'arginine à partir de la citrulline est inchangée.

ROLE DU FOIE

La citrulline circulante produite par la muqueuse intestinale ne peut être utilisée directement par le foie (pour la synthèse d'ornithine) car la membrane cytoplasmique des hépatocytes n'est pas perméable à la citrulline plasmatique ¹³⁵. Par ailleurs le foie n'est pas exportateur de citrulline ou d'arginine ²⁸⁶ car les hépatocytes ont une forte activité arginase convertissant l'arginine en ornithine et urée.

ROLE DU REIN

La citrulline produite par l'intestin est exportée pour la synthèse d'arginine dans le rein, après condensation avec l'aspartate : chez le rat 83% de la citrulline circulante est captée par le rein, 75% de la citrulline étant métabolisée en arginine ¹³⁵. A notre connaissance le transporteur de la citrulline n'a pas été caractérisé. Il existe une forte corrélation ($r^2=0.85$) entre les différences artériovoineuses rénales en arginine et en citrulline montrant que pour chaque mole d'arginine captée il existe une mole de citrulline libérée ¹³³. Dans les tubules contournés proximaux du cortex rénal il existe une forte activité de l'ASS et de l'ASL expliquant la synthèse d'arginine à ce niveau ¹³³. La pyruvate carboxylase, d'expression hépatique et rénale, intervient dans la synthèse d'aspartate, substrat de l'ASS. L'arginase (cytosolique), ainsi que les enzymes indispensables à la synthèse de citrulline, sont à des niveaux d'expression très faibles dans le rein, qui ne peut donc produire la citrulline à partir de l'ornithine ³¹⁴.

Dans les autres tissus à forte activité ASS et ASL (cerveau, lymphocytes et macrophages, cellules endothéliales) ces enzymes servent à régénérer *in situ* l'arginine transformé en citrulline et en NO° par les NO synthases. La citrulline circulante semble peu utilisée dans les cellules des tissus synthétisant le NO°, la citrulline y fonctionnant en circuit fermé pour y régénérer l'arginine ¹⁴⁷.

Au total on retiendra que l'intestin grêle fait le «pont» entre la glutamine et l'arginine par l'intermédiaire de la production de citrulline (axe muscle-grêle puis grêle-rein).

Tableau 6: Activités enzymatiques (par mg de protéine) de la P5CS, la CPS et l'OTC dans divers tissus chez le rat [d'après les références ³⁰⁵ et ¹⁸⁷]

Tissus	P5CS pmol/mg.min	CPS μmol/g.h	OTC μmol/g.h
Jéjunum	252	10	100
Duodénum	197		+
Iléon	101		+
Colon	12		<2
Pancréas	12	3	2
Thymus	8	0	2
Estomac	2		<2
Cerveau	1	4	0
Poumon	<1	0	2
Foie	0	284	4110
Muscle squelettique	0	0	0
Rein	0	8	5
Peau	0		

5.4.2 Rôle de la citrulline

Aucun rôle physiologique propre n'est reconnu à la citrulline. Il s'agit d'un intermédiaire métabolique tant dans le foie, dans les tissus dévolus à la production de NO°, qu'au niveau de l'organisme dans son entier : c'est un précurseur de la synthèse endogène d'urée dans le foie et d'arginine dans le rein et les cellules produisant le NO°.

D'un point de vue finaliste le rôle de ce cycle interorgane intestin-rein, aboutissant à la synthèse endogène *de novo* de l'arginine à partir de la glutamine et de l'arginine, serait la protection contre une dégradation excessive de l'arginine par le foie : l'intestin converti une partie de la glutamine endogène et exogène -et de l'arginine endogène- en citrulline qui traverse le foie sans être utilisée, contrairement à l'arginine qui serait captée par le foie qui a une haute activité arginase. Ceci permet la resynthèse d'arginine qui sera utilisé dans les tissus périphériques ¹⁹⁰. En d'autres termes la citrulline est une forme de transport interorgane d'arginine mise à contribution quand l'organisme souhaite économiser son azote et donc réprimer l'uréogénèse. Il a été montré chez le rat que la réponse des enzymes (activité,

quantité d'ARNm) de la voie de biosynthèse de la citrulline (notamment OAT et OTC) à une charge protéique orale est différente dans l'intestin et le foie : un régime hypoprotéique en augmente l'expression au niveau intestinal et la diminue au niveau hépatique (inhibition de l'uréogénèse); un régime hyperprotéique à l'effet inverse (activation de l'uréogénèse) ³⁰⁸.

Ce cycle a son importance car notamment chez le chat ³¹⁵, le furet et le poulet ³¹² l'absence de P5CS intestinale et donc de production de citrulline par l'intestin, contrairement aux omnivores, fait qu'une alimentation sans arginine entraîne en quelques heures une hyperammoniémie accompagnée de signes cliniques ³¹⁶ : citrulline ou arginine sont des AA essentiels dans ces espèces. La citrullinémie physiologique est très basse chez les félins, ce qui diminue leur aptitude à la synthèse *de novo* d'arginine ³¹⁷. Chez le rat l'inhibition de la synthèse intestinale de citrulline, par un inhibiteur spécifique de l'OTC à pénétration intracellulaire (Gly-Gly-Phosphonacetyl-L-ornithine) sans action sur la synthèse intrahépatique de citrulline, administré dans l'eau de boisson, divise par 2 la citrullinémie et par 4 à 5 l'argininémie chez des animaux soumis à une alimentation dépourvue en arginine. Ces animaux ont une inhibition de leur croissance, partiellement prévenue par l'administration dans l'alimentation d'arginine et complètement prévenue par l'administration de citrulline ³¹⁸. Une négativation du bilan azoté est présente chez le rat après résection intestinale en cas d'administration d'une alimentation dépourvue d'arginine ¹⁸⁸. L'arginine est indispensable pour la synthèse protéique et pour la synthèse de créatine (précurseur de la phosphocréatine ou phosphogène, réserve énergétique pour la contraction musculaire), est utile en particulier à la spermatopoïèse ³¹⁹ et participe à la formation d'arginyl-tRNA utilisé dans la protéolyse ubiquitine dépendante (protéasome). Par ailleurs il a des fonctions immunomodulatrices et intervient dans la libération de l'hormone de croissance ¹⁹⁰. Chez l'homme l'arginine n'est pas un AA essentiel : en dehors de conditions pathologiques associées ou de besoins physiologiques particuliers son absence de l'alimentation n'entraîne pas d'hyperammoniémie ³²⁰. Rappelons que chez l'homme la citrulline n'assure environ que 10%, par synthèse *de novo*, du flux de citrulline ²⁹⁴.

Il existe des situations dans lesquelles la citrulline devient un AA «conditionnellement essentiel» car il lutte contre la survenue d'une hyperammoniémie ³¹⁹ : grand catabolisme ou apport azoté important notamment si les voies de détoxification de l'azote sont déficientes, diminution de la production d'arginine comme dans les enzymopathies du cycle de l'urée. Dans ces dernières maladies l'arginine est indispensable dans tous les déficits et la citrulline est indispensable dans les déficits en CPS et OTC. Ce pourrait être également le cas dans le syndrome de Reye ³¹⁹.

A noter enfin que si la citrulline n'est pas normalement un constituant des protéines, dans la polyarthrite rhumatoïde on la retrouve dans les épitopes des peptides reconnus par divers auto-anticorps. Ceci est dû à une anomalie post-traductionnelle de l'arginine ³²¹.

5.4.3 Dyscitrullinémies

La concentration plasmatique de citrulline doit s'interpréter comme résultant de sa production intestinale et de son utilisation rénale ¹⁴⁷.

5.4.3.1 Variations physiologiques

Le sexe et l'âge influencent peu la citrullinémie en dehors d'une discrète hypocitrullinémie à la naissance, probablement liée à une hyperactivité enzymatique de l'ASS et de l'ASL entérocytaire, transformant la citrulline en arginine, qui diminuent après le sevrage. La citrullinémie s'abaisse en fin de grossesse. L'état nutritionnel n'influence pas directement le niveau de la citrullinémie [résultats personnels concernant les patients anorexiques mentales, cf. 5.7], contrairement au jeûne total prolongé ¹²⁴. La citrullinémie ne semble pas différente entre le sang périphérique artériel et veineux (cf. 6.4.1). Par contre le dosage sur sang total fourni, par rapport au plasma, des valeurs plus élevées de 10 à 30% : il faut donc être particulièrement vigilant face à ce piège.

L'effet de l'alimentation orale (citrullinémie post-prandiale) est, contrairement aux AA contenus dans les protéines, soit l'absence d'effet après un repas protéique ¹²⁹ soit une diminution initiale de la concentration (de 10 à 20%) avec un retour à la valeur basale en 3 à 4 heures après un repas complet [^{147,295}, résultats personnels]. De même au cours d'une alimentation entérale continue on constate une diminution de la concentration (15 à 40%), plus nette avec une alimentation glucido-lipidique qu'avec une alimentation entérale ternaire avec protéines entières ou oligopeptides ³²². Le jeûne prolongé s'accompagne, chez le rat ¹⁸⁶ et l'homme ¹²⁴ d'une diminution d'environ 30% de la citrullinémie. Chez l'homme cette diminution est maximale dès le 5^{ème} jour puis stable, avec diminution de la différence artério-veineuse splanchnique de citrulline indiquant une diminution de la production intestinale ¹²⁴. Il n'est pas déraisonnable d'envisager que ceci puisse être lié à une hypoactivité fonctionnelle entérocytaire, la durée de migration des entérocytes le long de l'axe crypto-villositaires avant extrusion luminale étant de 5 jours.

Par rapport au glucosé à 5% l'administration pendant au moins 6 jours d'une nutrition parentérale, dépourvue en citrulline, n'affecte pas significativement la citrullinémie, prélevée au cours de la perfusion, de patients dénutris ³²³. Dans une autre série chez des patients

agressés (brûlés), étudiés en cours de NP, le flux de citrulline est discrètement augmenté et la citrullinémie est inchangée par rapport à l'état post-absorptif ³¹³.

5.4.3.2 Hypercitrullinémies

Les conditions pathologiques associées avec une hypercitrullinémie sont mentionnées dans le **Tableau 7**. Les causes congénitales, rares, sont liées à des déficits des enzymes impliquées dans la transformation de la citrulline en urée ou en arginine. Elles s'accompagnent d'une hyperammoniémie. La transplantation hépatique est proposée comme traitement de la citrullinémie, affection dans laquelle la concentration plasmatique de citrulline est la plus élevée (100 à 4500 $\mu\text{mol/l}$ en fonction de la nature de l'anomalie sur l'ASS). Après transplantation hépatique une hypercitrullinémie résiduelle, d'origine intestinale, persiste. L'hypercitrullinémie est modérée dans le déficit en arginase. Dans la lysinurie, l'hypercitrullinémie, modérée, serait partiellement liée à une stimulation de la synthèse intestinale de citrulline par augmentation de la concentration intracellulaire en ornithine et en arginine car cette affection se caractérise par une diminution de l'efflux cellulaire des AA dibasiques.

L'insuffisance rénale, indépendamment de sa cause, est la seule étiologie connue d'hypercitrullinémie acquise ³²⁴. C'est aussi la cause de loin la plus fréquente d'hypercitrullinémie. Celle-ci est due à une diminution de l'activité rénale de l'arginine synthase et/ou à une diminution de la consommation rénale de citrulline ³²⁴. La citrullinémie monte pour une clairance de la créatinine inférieure à 50 ml/min et est négativement corrélée à celle-ci ($r=0.70$, $P<0.01$, $n=81$) ³²⁴. Dans l'insuffisance rénale terminale la citrullinémie moyenne est de 90 à 100 $\mu\text{mol/l}$. Le flux isotopique de citrulline y est augmenté ³²⁵. Signalons qu'il n'y a pas de modification significative de la citrullinémie dans les hépatopathies, avec ou sans insuffisance hépatique ¹²⁶.

5.4.3.3 Hypocitrullinémies

En toute rigueur il s'agit d'une citrullinémie inférieure à la moyenne de sujets sains diminuée de 2 déviations standards. Les conditions pathologiques associées avec une hypocitrullinémie sont mentionnées dans le **Tableau 7**. Elles résultent toujours d'un défaut de production intestinale de citrulline ¹⁴⁷. Les causes congénitales sont le déficit en OTC (qui contrairement aux autres déficits, autosomiques récessifs, est due à une hérédité liée à l'X), CPS-I et NAGS : elles sont rares. La citrullinémie est corrélée à l'activité enzymatique résiduelle ¹⁴⁷. Le déficit en OTC, et plus rarement les autres déficits, peut parfois ne s'exprimer que tardivement, y compris chez l'adulte ^{315,326}. Dans ces derniers cas, affectant surtout des femmes hétérozygotes pour la mutation, la concentration basale de citrulline peut être normale

ou subnormale, de même que l'ammoniémie, la maladie s'exprimant lors d'une charge azotée alimentaire ou parentérale ³²⁶ voire lors d'une augmentation du catabolisme azoté ou en post-partum. Une famille avec déficit en P5CS a été décrite : l'hyperammoniémie n'y a été constatée qu'à jeun, ³²⁷. La transplantation hépatique est proposée dans le traitement des formes sévères de déficit en CPS-I et en OTC : si elle corrige l'hyperammoniémie, citrullinémie et argininémie restent basses ^{328,329}. Une hypocitrullinémie a été constatée dans certaines formes de cytopathies mitochondriales [syndrome de Pearson, NARP³³⁰]. Dans le syndrome de Reye, altération métabolique aiguë du fonctionnement mitochondrial hépatique, l'hypocitrullinémie est attribué à la diminution de l'activité de la CPS et de l'OTC ³¹⁹. En cas de stress métabolique (patients sévèrement brûlés, réanimation lourde, *i. e* avec une dénutrition protéique prédominante) la citrullinémie diminue en parallèle à l'hypoaminacidémie, cet effet étant moins marqué chez les sujets âgés ³³¹. Bien que cette affection soit surtout caractérisée par une baisse des AA essentiels, une hypocitrullinémie, ainsi qu'une hypoargininémie, est constatée dans le kwashiorkor ³³² : on peut envisager qu'elle soit liée à l'altération de la masse intestinale muqueuse. L'oroturie (acide orotique = intermédiaire dans la biosynthèse des pyrimidines), ou la concentration plasmatique d'acide orotique, sont des marqueur du déficit en arginine car elles indiquent que des quantités d'ammoniaque sont déviées vers la synthèse de pyrimidines : elles sont élevées dans les déficits congénitaux en CPS et OTC et en cas de diètes dépourvues en arginine chez le chat, ainsi qu'après résection intestinale massive chez le rat soumis à une alimentation sans arginine ¹⁸⁸.

Comme nous le développons plus loin dans notre thèse, l'insuffisance intestinale liée à une diminution de la masse entérocytaire, est une cause acquise d'hypocitrullinémie, démontrée dans plusieurs modèles animaux.

Tableau 7. Principales causes de dyscitrullinémies

HypercitrullinémieDéficits enzymatiques congénitaux^a

Arginosuccinate synthase (ASS) = citrullinémie

Arginosuccinate lyase (ASL)

Pyruvate carboxylase

Arginase = hyperargininémie

Lysinurie

Insuffisances rénales aiguës et chroniques

HypocitrullinémieDéficits enzymatiques congénitaux^a

Carbomoylphosphate synthase I (CPS)

Ornithine transcarbamoylase (OTC)

N-acetylglutamate synthase (NAGS)

Pyrroline-5-carboxylate synthase (P5CS)^b

Diminution de la masse entérocytaire

Grêle court

Atrophies villositaires (maladie cœliaque...)

Autres

Syndrome de Reye^a; certaines cytopathies mitochondriales

Stress métabolique sévère

Jeune prolongé (baisse de 30%)

^a pathologie essentiellement pédiatrique^b une famille décrite**5.5 Hypothèse : la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire in vivo chez l'homme****5.5.1 Rationnel**

Comme nous l'avons vu aucun marqueur biochimique de la masse intestinale fonctionnelle ou entérocytaire absorptive, qui serait utile à la définition de l'insuffisance intestinale, n'est disponible en pratique courante à l'heure actuelle. Les arguments qui nous ont conduits à proposer la citrullinémie comme marqueur de la masse entérocytaire chez l'homme sont :

- les arguments biochimiques interorganes développés plus haut. Ainsi par exemple chez l'homme, dans le cadre des déficits en CPS et OTC, la transplantation hépatique, si elle corrige l'hyperammoniémie ne normalise pas la citrullinémie, montre que cette dernière n'est pas d'origine hépatique^{328,329}.

- le fait que la citrulline soit un composé peu ou pas contenu dans l'alimentation car il s'agit d'un AA n'entrant pas dans la composition des protéines (animales ou végétales).

- les résultats obtenus dans les modèles expérimentaux animaux de résection intestinale, qui avec un niveau fixé de résection (généralement 80% de l'intestin grêle), ont observé un abaissement significatif de la citrullinémie chez le rat^{135,186,188,333-335}. Dans ce dernier travail la perfusion parentérale de glutamine ne changeait ni la citrullinémie ni le débit de production intestinal de citrulline, suggérant un bloc fonctionnel lié à l'amputation intestinale. La concentration intracellulaire musculaire de citrulline et surtout d'arginine étaient également diminuées, avec un bilan azoté et une perte de poids si l'alimentation était déficiente en arginine^{188,333}.

5.5.2 Méthodes

Sur le plan pratique un simple prélèvement de 1 à 5 ml sur sang veineux, il n'y a pas de différence artério-veineuse significative pour la citrullinémie (cf. 6.3.1), sur tube EDTA, chez un sujet à jeun depuis la veille au soir (période post-absorptive) a été réalisé. Le prélèvement doit être adressé rapidement au laboratoire, ou sinon centrifugé (15 minutes à 3000 rpm) puis acheminé dans de la glace ou congelé à - 20°C ou mieux à - 70°C. L'analyse est faite par chromatographie liquide et le résultat peut être rendu dans la journée. Sur le plan clinique l'interprétation du résultat doit tenir compte de la fonction rénale si celle-ci est dégradée (clairance de la créatinine < 50 à 25 ml/min).

Nous avons étudié les 2 types de malades adultes atteints d'entéropathies pouvant conduire à l'insuffisance intestinale chronique par diminution de la masse entérocytaire :

- les patients avec SGC atteints, selon la définition qualitative de l'insuffisance intestinale proposée dans l'**Article 1**, d'une insuffisance intestinale permanente -les patients définitivement dépendant de la NP- ou transitoire -les patients sevrés de la NP. L'insuffisance intestinale a aussi été définie quantitativement selon le pourcentage de calories administrées par la NP sur une semaine par rapport aux besoins énergétiques de maintenance [estimés à 1.5 x DER pour l'énergie métabolisable dans le SGC⁵⁴, **Article 4**] : plus ce rapport est bas, plus l'insuffisance intestinale est sévère. La masse entérocytaire a été définie sur des critères anatomiques (mesure de la longueur du grêle, **Article 3**) et fonctionnels (CUD, **Article 4**).

- les patients avec SAV, en particulier dans le cadre de la maladie cœliaque, mais également au cours d'autres affections ⁹⁸, à des degrés variables de sévérité. Notre série comprend quelques cas d'insuffisances intestinales sévères nécessitant la nutrition parentérale (17%). Chez ces patients «médicaux» le problème a été de choisir le critère «anatomique» de la masse intestinale fonctionnelle, *i.e.* entérocytaire. Nous avons utilisé l'histologie intestinale prélevée par biopsies au niveau duodéal distal et si nécessaire jéjunal et/ou iléal, avec gradation des lésions selon la classification de Marsh modifiée (cf. 1.1.3.1).

De plus nous fournirons quelques résultats préliminaires concernant la citrullinémie dans la 3^{ème} variété d'insuffisance intestinale chronique, les patients avec POIC. Enfin nous montrerons que la dénutrition sévère par carence d'apport (insuffisance orale «pure») n'influence pas la citrullinémie.

5.6 La citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire chez l'homme : le modèle du syndrome de grêle court

Article 5 POST-ABSORPTIVE PLASMA CITRULLINE CONCENTRATION IS A MARKER OF ABSORPTIVE ENTEROCYTE MASS AND INTESTINAL FAILURE IN HUMANS

Gastroenterology 2000, *in press*

5.6.1 Présentation de l'étude

Nous avons étudié 57 patients adultes avec SGC, ayant une alimentation orale libre, indemne d'insuffisance rénale sévère et en état métabolique stable. Les patients avaient un état nutritionnel normal ou subnormal selon l'indice de Detsky. Un dosage plasmatique des AA a été réalisé après au moins 2 ans suivant la dernière intervention chirurgicale digestive. Le délai de 2 ans a été choisi de façon à ce que l'ensemble des patients soit étudié dans une période où le processus adaptatif post-résection se soit développé à son niveau présumé maximum (**Article 1**). Le prélèvement, en site veineux, a été réalisé dans les conditions post-absorptives strictes (8 à 12 heures de jeûne et absence de perfusion parentérale la veille). Le dosage des AA a été effectué dans un laboratoire de référence. Les critères de jugement du marqueur citrullinémie ont été :

- anatomiques : longueur de grêle radiologique, estimation radiologique de la surface interne du grêle restant (mesure de 3 diamètres), longueur de grêle chirurgicale et moyenne des longueurs radiologiques et chirurgicales.

- fonctionnels : 1) pourcentage d'absorption des lipides (pour lesquels le côlon ne joue aucun rôle direct) et des protéines (pour lesquels le grêle est le facteur explicatif majeur) après bilan (entrée – sortie) sur 3 jours ; 2) présence ou non d'une insuffisance intestinale permanente et gradation quantitative de la sévérité de celle-ci (rapport des calories parentérales sur les besoins énergétiques de maintenance, *i.e.* DER x 1.5).

Analyse statistique

Les résultats ont été comparés à 51 sujets sains, avec un état nutritionnel normal (jugé sur l'IMC et l'albuminémie). La régression linéaire a été utilisée pour tester les relations entre variables quantitatives. Des patients, appariés sur la longueur de grêle et le circuit digestif, ont été étudiés en fonction de la présence ou non d'une hyperphagie. Une analyse linéaire discriminante a tenté de trouver la valeur seuil de citrullinémie séparant les patients en insuffisance intestinale transitoire ou permanente. Enfin un modèle de Cox a testé la valeur de ce paramètre biologique comme indicateur indépendant de l'insuffisance intestinale en comparaison avec la classification basée sur les données anatomiques de l'**Article 1**.

5.6.2 Résultats et conclusions

Cette étude nous permet de proposer une modélisation biochimique de l'insuffisance intestinale chronique au cours du SGC. Nos données confirment et complètent celles des modèles animaux. Chez 57 patients avec SGC et sans insuffisance rénale sévère (clairance de la créatinine > 30 ml/min), nous avons observé :

a) Un niveau significativement plus bas de citrulline et d'arginine plasmatique post-absorptive que chez 51 contrôles (20 *versus* 40 $\mu\text{mol/l}$ pour la citrullinémie). Cette information est en accord avec celles obtenues dans les modèles animaux^{135,186,188,333,334} avec résection intestinale étendue expérimentale. Elle suggère que ces AA deviennent essentiels dans le SGC.

b) Une corrélation positive forte, et indépendante des autres critères anatomiques ou nutritionnels, de la citrulline plasmatique avec les indices anatomiques (longueur de grêle) et fonctionnels (CUD des lipides et de l'azote) de la masse entérocytaire. La concentration plasmatique de citrulline post-absorptive constitue donc un marqueur biochimique sensible de la masse entérocytaire.

c) Et, par voie de conséquence, un haut pouvoir discriminant de la citrullinémie pour la présence ou non d'une insuffisance intestinale permanente et pour la sévérité de celle-ci. Le dosage de la citrulline peut donc également servir à évaluer l'intensité de l'insuffisance intestinale chronique, notamment son caractère transitoire ou permanent. La césure que nous

avons déterminé (20 $\mu\text{mol/l}$) correspond à 50% de la valeur médiane (ou moyenne, la distribution étant gaussienne) des sujets contrôles. Par ailleurs nous avons démontré qu'il s'agit d'un indicateur indépendant en comparaison à la classification basée sur les données anatomiques de l'**Article 1**, ce qui en souligne sa performance.

Tous les patients de cette étude avaient accès à une alimentation orale non restreinte. Nous suggérons que le niveau des ingesta puisse influencer la masse intestinale fonctionnelle résiduelle dans le SGC, et donc l'adaptation intestinale (cf. **Article 4**). En effet dans l'étude de 20 patients, appariés pour les données anatomiques (longueur de grêle et type de montage anastomotique), la citrullinémie était en moyenne 30% supérieure chez ceux ayant les plus forts apports (donc les patients hyperphages) par rapport aux patients dont les ingesta étaient moins élevés. Il reste à montrer si, au terme d'un suivi prospectif des patients à partir de la résection, la citrullinémie est un paramètre biochimique utile pour le suivi du développement de l'adaptation intestinale. L'alimentation n'apportant qu'une quantité négligeable de citrulline¹⁴⁷, mais apportant de la glutamine (5 à 7 g/100 g de protéines), principal précurseur *in vivo* de la citrulline et possible facteur trophique pour les entérocytes, il serait possible de conclure que le niveau des ingesta influence de manière significative la masse intestinale résiduelle. Chez l'animal après résection intestinale ceci a été suggéré, mais contesté¹⁶⁶, pour la glutamine. Dans notre étude l'état nutritionnel, jamais sévèrement altéré, n'influçait la citrullinémie. Par ailleurs les lésions résiduelles sur l'intestin restant (n=14 patients) n'influçaient pas significativement la citrullinémie car ces malades avaient une longueur de grêle plus longue que les autres patients.

Au cours du SGC, les échanges de glutamine entre les organes sont réduits de 20%¹⁷⁸ et, en dehors des malades de soins intensifs avec stress métabolique, les taux plasmatiques de glutamine sont souvent supérieurs à la normale. Lors du SGC, les taux plasmatiques d'arginine sont abaissés chez l'homme et l'animal, et normaux ou abaissés chez l'animal au niveau intramusculaire¹⁸⁸. Les différences inter espèces seraient expliquées par le fait que les entérocytes, comme les cellules tubulaires rénales, sont susceptibles d'utiliser et de produire l'arginine^{299,307} en fonction des conditions. Signalons que l'hypocitrullinémie du SGC a été signalée récemment dans une courte série de la littérature, tant chez l'enfant (n=12) que chez l'adulte (n=18), mais non interprétée³³⁶. A terme l'objectif de la concentration plasmatique de citrulline est de fournir au clinicien un moyen simplifiant la méthode des bilans digestifs, très lourde et que la seule mesure de la stéatorrhée ne remplace que partiellement.

Au total nous avons démontré pour la première fois dans la littérature qu'un marqueur biochimique de la masse entérocytaire est utilisable en clinique et qu'il pourrait avoir une

utilité pratique. Les indications des divers traitements alternatifs à la NP et le pronostic à long terme de ces patients pourraient être mieux précisés par la détermination des taux plasmatiques de cet AA, dont la détermination complète les données anatomiques et fonctionnelles. La suite de ce travail, généralisant les résultats établis dans le SGC, cause de 80% des insuffisances intestinales permanentes, a été de démontrer que la citrullinémie est bien un marqueur de la masse entérocytaire dans un autre modèle de maladie intestinale entraînant une diminution de la masse entérocytaire, le SAV.

5.7 La citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire chez l'homme : le modèle du syndrome d'atrophie villositaire

Article 6 POST-ABSORPTIVE PLASMA CITRULLINE CONCENTRATION IS A MARKER OF ENTEROCYTE MASS IN VILLOUS ATROPHY

En preparation

5.7.1 Présentation de l'étude

Nous avons étudié une série de 52 patients potentiellement porteurs d'une entéropathie muqueuse, en particulier la maladie cœliaque (81% des malades de cette étude), pouvant se caractériser par une atrophie villositaire. Dans la maladie cœliaque des anomalies du renouvellement protéique ont été mises en évidence par les études isotopiques : augmentation de la protéolyse corps entier -pouvant contribuer à la dénutrition protéique de ces patients- et tendance à l'élévation du flux de glutamine³³⁷, augmentation (jusqu'à 100%) de la synthèse protéique de la muqueuse intestinale (N96). Dans certains cas avec lésions diffuses une insuffisance intestinale est présente, en particulier en cas de non réponse clinique et histologique au régime sans gluten ou «sprue réfractaire», primaire ou secondaire. Il s'agit d'une probable complication de la maladie cœliaque, de physiopathologie mal connue. Un phénotype immuno-histochimique particulier des lymphocytes T intra-épithéliaux (expression intracytoplasmique du CD3 et absence d'expression du CD8), associé à un réarrangement monoclonal du TCR γ , anomalies présentes dans plus de 75% des cas, ont été proposés comme critère diagnostic^{102,338}. Ces anomalies lymphocytaires, et la possibilité d'évolution vers un lymphome invasif de même phénotype, suggèrent qu'il s'agit d'un lymphome «cryptique» (de bas grade)^{100,102,339}. On peut estimer que du fait de la malabsorption au moins 70% des patients de cette entité ont une insuffisance intestinale sévère permanente : 7 des 9 décès rapportés dans la série multicentrique récente étaient dus à la malnutrition, les autres patients restant le plus souvent dénutris¹⁰².

Les malades suspects d'entéropathie muqueuse ont été étudiés en nous basant sur les travaux de Marsh qui, indépendamment de l'extension des lésions sur l'intestin grêle, distingue 5 types histopathologiques «élémentaires» : normal (type 0) ou lésionnel (type 1 à type 4) (cf. 1.1.3.1). A partir des lésions muqueuses de l'entéropathie au gluten, le concept a été élargi pour y inclure notamment diverses entéropathies infectieuses (en particulier la giardiase et la sprue tropicale) et certains déficits immunitaires⁹⁸ (cf. **Figure 3**). L'analyse

d'images histopathologiques dans l'atrophie villositaire totale a montré que le volume entérocytaire de surface (entérocytes dystrophiques, cubiques) est réduit de 25%, tandis que le nombre des entérocytes de l'épithélium l'est de 80%¹⁰⁸. Cette situation correspond donc bien à une réduction significative de la masse entérocytaire. On rappellera qu'existe une corrélation ($r=0.9$) hautement significative entre la hauteur villositaire et le nombre des entérocytes par villosité, tant dans l'iléon que dans le jéjunum²¹³.

Cinquante deux patients atteints d'une affection pouvant s'accompagner d'une atrophie villositaire, n'ayant jamais subi d'intervention chirurgicale intestinale et indemne d'insuffisance rénale, ont été inclus. La série comprenait 42 maladies cœliaques –dont 6 compliquées- et 10 autres entéropathies et était représentative du recrutement en SAV des pays occidentaux, dans lesquels la maladie cœliaque «patente» représente 80% des causes. Il est à noter que 9 patients (17%) nécessitaient une NP. Quatre patients étaient sévèrement dénutris (grade C de l'indice de Detsky). Le dosage des AA a été effectué en période post-absorptive stricte. Le jour des prélèvements sanguins les patients ont eut une endoscopie haute avec au minimum des biopsies duodénales (D4, proche de l'angle de Treitz). En fonction de l'indication clinique des biopsies jéjunales (31%) et/ou iléales (48%) ont été pratiqués. L'intensité des lésions affectant l'architecture villositaire, l'infiltration lymphocytaire et la morphologie entérocytaire ainsi que l'étendue de ces lésions ont été nos juges de paix anatomiques pour tester la valeur de la citrullinémie comme marqueur de la masse entérocytaire. Au minimum 3 niveaux de coupe ont été réalisés par prélèvement pour éviter de conclure à tort à une atrophie villositaire qui serait liée à une biopsie mal orientée. Les patients cœliaques sans biopsies iléales ont également été inclus si : a) les lésions proximales n'étaient pas sévères (absence d'atrophie subtotale ou totale), et/ou b) le test de Schilling était normal. Les marqueurs biologiques courants (albuminémie, calcémie...) ont été mesurés pour juger de la sévérité de l'entéropathie. Un modèle statistique semi-quantitatif (analysé par la corrélation non paramétrique de Spearman) a été utilisé pour tester les relations entre degré et étendue de l'atrophie villositaire et citrullinémie.

5.7.2 Résultats et conclusions

Dans ce travail, effectué chez des malades n'ayant pas subi de résection intestinale mais présentant potentiellement une atrophie villositaire (sévère, *i.e.* subtotale ou totale chez 42%), nous avons confirmé que la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire : a) la concentration plasmatique de citrulline est significativement abaissée par rapport aux contrôles, b) elle est corrélée à l'intensité des lésions (selon le score de Marsh),

indépendamment de l'étiologie : elle ne peut donc être proposée pour le dépistage de la maladie cœliaque d'autant plus que celle-ci, dans la définition admise aujourd'hui de l'hypersensibilité au gluten, s'accompagnerait de lésions histologiques minimales dans 70% des cas⁹⁸, et c) à leur étendue sur l'intestin grêle, ainsi qu'à d) certaines carences biologiques (albuminémie, calcémie, hémoglobininémie), indicateurs de la sévérité de l'entéropathie mais non spécifiques de celle-ci. Par ailleurs aucune différence significative par rapport aux contrôles n'a été observée pour l'ornithinémie et la prolinémie (résultats non fournis dans l'article). La glutaminémie n'était pas abaissée. La particularité de notre recrutement d'entéropathie sévère, *i.e.* malades ayant une atrophie villositaire totale pangrêlique, affection rare, nous a permis de montrer que ces patients ne produisaient plus de citrulline circulante car celle-ci était soit indétectable, soit $< 5 \mu\text{mol/l}$. Ceci suggère fortement que ce sont les entérocytes des villosités de l'intestin grêle qui produisent la citrulline circulante *in vivo* chez l'homme. La citrullinémie n'était pas liée à l'IMC.

La valeur seuil de citrullinémie pour la présence de lésion d'atrophie villositaire totale ou subtotale au moins proximale est de $20 \mu\text{mol/L}$. Ce seuil est spécifique (93%) et sensible (95%). Pour le diagnostic de diffusion des lésions d'atrophie villositaire totale ou subtotale le seuil est de $10 \mu\text{mol/l}$: 9 des 10 patients avec lésions d'atrophie villositaire diffuse avaient une citrullinémie $< 10 \mu\text{mol/l}$ (sensibilité 90%), aucun patient sans lésion diffuse ($n=42$) n'était en dessous de ce seuil (spécificité 100%). Sur le plan pratique une maladie étendue sur l'intestin grêle, reflétée par une citrullinémie $< 10 \mu\text{mol/L}$, nécessite une NP dans le SAV, indépendamment de son étiologie : les 9 patients en NP étaient au dessous de ce seuil de citrullinémie, le dernier patient au dessous du seuil étant sévèrement dénutri. La citrullinémie permet donc le diagnostic d'insuffisance intestinale dans le SAV. En plus de son intérêt pour le diagnostic de sévérité, ce marqueur devrait s'avérer être utile dans le suivi sous traitement de ces malades, notamment pour juger de manière non invasive la repousse villositaire sous régime sans gluten. Pour un niveau de citrullinémie donné, la clinique est plus sévère dans le SGC que dans le SAV car si dans le SGC il existe surtout un déficit d'absorption par perte des fonctions distales (iléon), non compensables, dans le SAV l'iléon est le plus souvent préservé et représente une réserve fonctionnelle pour compenser la malabsorption duodéno-jéjunale¹⁰¹. Or dans les modèles animaux la citrulline est surtout produite par le jéjunum, bien plus que par l'iléon³⁰⁷. Ainsi pour une citrullinémie entre 10 et $20 \mu\text{mol/l}$ un patient porteur de maladie cœliaque peut n'avoir que peu de conséquence clinique de son SMA et, contrairement à un patient porteur de SGC, il ne nécessite pas de NP.

5.8 Citrullinémie et pseudo-obstruction intestinale chronique

Dans la POIC l'insuffisance intestinale chronique est liée à une malabsorption d'origine essentiellement intraluminale et surtout à une «obstruction» d'origine neuromusculaire. On ne connaît pas la situation de la masse entérocytaire fonctionnelle dans ce syndrome : il est possible de faire l'hypothèse qu'elle est normale -mais non stimulée du fait des troubles digestifs (insuffisance orale)- ou abaissée, notamment du fait de la maladie initiale ou de la colonisation bactérienne chronique du grêle.

Nous avons étudié [résultats personnels non publiés] 6 patients âgés de 33 (21-50) ans avec POIC sévère, nécessitant un support nutritionnel [5 étaient en NPAD et 1 était en nutrition entérale à domicile par une sonde naso-jéjunale mais gardait un IMC bas (14 kg/m²)] avec un IMC de 16.5 (14-20) kg/m², sans insuffisance rénale ni état de stress métabolique. Deux de ces 6 patients étaient atteints d'un POLIP (polyneuropathy ophthalmoplegia leucoencephalopathy and intestinal pseudoobstruction) syndrome ou MNGIE (mitochondrial neurogastrointestinal encephalomyopathy), cytopathie mitochondriale liée à une mutation du gène nucléaire de la thymidine phosphorylase ³⁴⁰. Deux des 6 patients avaient du subir une colectomie avec anastomose iléo-rectale du fait de la pseudo-obstruction colique associée. Tous les patients sauf 2 avaient une alimentation orale (entre 900 et 1500 kcal/j) mais les vomissements rendaient impossible la quantification de ce qui parvenait effectivement dans le duodéno-jéjunum. Les 2 autres patients avaient des ingesta nuls ou quasi nuls depuis plusieurs années : 1 avait une sonde d'aspiration gastrique à demeure et l'autre une alimentation orale très restreinte du fait des troubles digestifs. Les patients ont eut des biopsies duodénales (n=6), jéjunales proximales (n=3) et iléales terminales (n=4). Pour 4 patients les biopsies n'ont montré aucune anomalie muqueuse. Par contre les 2 patients avec ingesta nuls avait des lésions intestinales diffuses, pour 1 patient à type d'infiltrat lymphocytaire épithélial simple (Marsh 1) avec néanmoins un aspect endoscopique atrophique, et pour l'autre patient à type d'atrophie villositaire partielle (duodéno-jéjunum, Marsh 2) à subtotale (iléon terminal, Marsh 3b). Il est possible que ces anomalies soit partiellement liées à la colonisation bactérienne du grêle ¹¹⁰, malgré le fait que ces patients recevaient une antibiothérapie séquentielle. La citrullinémie post-absorptive était subnormale [26 (23-36) µmol/l] chez les 4 patients sans anomalies histologiques intestinales et conservant des apports alimentaires oraux. Par contre, chez les 2 patients porteurs d'anomalies histologiques intestinales et en jeune luminal chronique la citrullinémie était abaissée : < 5 µmol/l dans 1 cas et variait de 12 à 17 µmol/l (N=20-60 µmol/l) dans l'autre cas. De même l'argininémie était respectivement à 98±70 et

31±12 µmol/l. Il n'y avait pas de corrélation citrullinémie-IMC.

Ces résultats préliminaires suggèrent que la masse entérocytaire muqueuse est le plus souvent normale ou subnormale dans les syndromes de POIC sévères. Néanmoins, en cas de lésions histologiques intestinales (atrophie villositaire à rapporter au jeune luminal, à la pullulation bactérienne et/ou à la pathologie primitive, cf. **Figure 3**), une hypocitrullinémie est présente. Ainsi, contrairement aux insuffisances intestinales malabsorptives par diminution de la masse entérocytaire, la citrullinémie n'est pas un marqueur de l'insuffisance intestinale dans le cadre des POIC, où les anomalies se situent au niveau neuromusculaire. Néanmoins elle pourrait permettre de quantifier les lésions entérocytaires secondaires en cas de SAV associé.

5.9 Influence de la dénutrition par carence d'apport sur la citrullinémie : le modèle de l'anorexie mentale

Nous avons mentionné que l'état nutritionnel clinique n'influence pas la citrullinémie (**Article 5 et 6**) : aucune relation n'a été objectivée entre l'IMC et la citrullinémie. Cependant nous avons étudié des patients qui, du fait de leur prise en charge, ne présentent, pour la majorité d'entre eux, pas de dénutrition sévère. Qu'en est-il dans une situation de dénutrition pure ? L'anorexie mentale est un marasme (malnutrition chronique par déficit d'apport à prédominance énergétique) de cause inconnue (avec une composante psychologique souvent nette), sans pathologie digestive ni hypermétabolisme, prédominant sur la masse grasse mais n'épargnant pas la masse maigre. Contrairement au kwashiorkor, dans le marasme l'architecture de la muqueuse intestinale est normale ou proche de la normale en microscopie optique, les microvillosités étant raccourcies en microscopie électronique, anomalie régressant avec la renutrition ²⁶⁶. Les anomalies fonctionnelles intestinales y sont rares. Chez le rat la malnutrition chronique induit une hypotrophie (diminution du rapport protéines/ADN) dans la muqueuse du grêle et une hypoplasie dans celle du côlon ³⁴¹. Dans un travail [communication personnelle : Crenn et al., 8^{ème} journée de Recherche de l'UFR de Médecine Xavier Bichat, 1998] nous avons étudié avant toute renutrition 57 patients (dont 55 femmes) atteints d'anorexie mentale restrictive «pure» (sans boulimie ni épisodes de vomissement, i.e. avec insuffisance orale pure), sans insuffisance rénale notamment fonctionnelle ni état d'agression. L'âge moyen était de 25±8 ans, les ingesta spontanés moyens dans la semaine précédant l'admission de 960±120 kcal/24h dont 30±5 g/24h de protéines (enquête diététique). Les patients étaient sévèrement dénutris avec un IMC de 13.2±1.7 kg/m². Nous n'avons pas constaté

de variation significative de la citrullinémie post-absorptive ($39 \pm 10 \mu\text{mol/l}$), ni de la glutaminémie ou de l'argininémie ($75 \pm 26 \mu\text{mol/L}$), par rapport aux contrôles ($n=51$, IMC moyen 21.7). Aucun patient n'avait une citrullinémie inférieure à $20 \mu\text{mol/L}$. Il n'y avait pas de liaison significative entre IMC et citrullinémie. Du fait de la suspicion d'une pathologie digestive des biopsies duodénales ont été pratiquées chez 10 patients : aucune anomalie n'a pu être mise en évidence en microscopie optique. Ceci montre que la dénutrition chronique pure par insuffisance orale isolée n'influence pas la citrullinémie, et pourrait suggérer que la dénutrition marasmique n'influence pas significativement la masse entérocytaire chez l'homme.

6 APPLICATIONS DE LA MODELISATION BIOCHIMIQUE DE L'INSUFFISANCE INTESTINALE CHRONIQUE

6.1 Evaluation de la citrullinémie au cours des thérapeutiques pharmacologiques et chirurgicales alternatives à la NPAD dans l'insuffisance intestinale chronique

Nous présenterons ici quelques résultats préliminaires concernant la citrullinémie au cours des traitements alternatifs à la NP dans le SGC.

6.1.1 Hormone de croissance

Notre groupe a étudié l'effet de l'hormone de croissance recombinante sur l'absorption intestinale des macronutriments chez 12 patients adultes, d'âge moyen 34 ans, avec insuffisance intestinale permanente (durée moyenne de NPAD : 7.6 ans) pour SGC dans le cadre d'un protocole en double aveugle, randomisée, contre placebo et en cross over⁵⁷. Les patients avaient une alimentation orale libre, mesuré par la méthode des plateaux dupliqués, et correspondant à 2.0 (1.1-3.5) fois la DER. Sous traitement par rhGH à dose faible ($0.15 \text{ U/kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ soit $0.05 \text{ mg.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ pendant 3 semaines), administré par voie sous-cutanée, sans modifications diététiques ni supplémentation orale ou parentérale en glutamine, une augmentation statistiquement non significative de 18% ($20 \pm 10 \text{ } \mu\text{mol/l}$ sous rhGH *versus* $17 \pm 7 \text{ } \mu\text{mol/l}$ sous placebo) de la citrullinémie post-absorptive a été constatée. A titre de comparaison l'absorption lipidique s'était améliorée de 13% (31 *vs.* 18%) (NS), l'absorption azotée de 15% (39 *vs.* 25%) ($P < 0.05$) et l'absorption énergétique totale de 14% (54 *vs.* 40%) ($P < 0.01$). Les concentrations plasmatiques d'arginine n'étaient pas modifiées. Ainsi, bien que ce n'était pas statistiquement significatif dans cette étude, la citrullinémie augmentait en parallèle aux fonctions absorbatives sous rhGH.

6.1.2 Anse jéjunale antipéristaltique

Dans cette étude nous avons mesuré l'absorption intestinale chez 22 patients adultes avec SGC et insuffisance intestinale jugée spontanément irréversible, en comparant les patients ayant ou non une anse jéjunale antipéristaltique (anse reverse). Les patients étaient appariés pour l'âge [53 (17-70) ans], la longueur de grêle [40 cm (20-70)], le circuit digestif et la cause

du SGC. Onze malades avec anse reverse ont ainsi été appariés à 11 malades sans anse reverse. Le niveau des ingesta (par rapport à la DER), le taux d'absorption intestinale de lipide et d'azote par enquête diététique et recueil des selles de 3 jours (cf. **Article 4**), la citrullinémie (n=16) et le nombre de patients sevrés de NP au terme du suivi, ont été évalués. La comparaison entre les 2 groupes a été effectuée par un test t pour séries appariées.

Les ingesta (% de la DER) avant et après le rétablissement de la continuité avec et sans anse reverse étaient respectivement de $1,5 \pm 0,6$ et $2,35 \pm 1,3$ *versus* $1,7 \pm 0,8$ et $2,25 \pm 1,4$ (NS entre les 2 groupes). L'absorption chez les patients avec et sans anse reverse était respectivement de $57 \pm 25\%$ *versus* $25 \pm 18\%$ pour les lipides ($P < 0,05$) et de $70 \pm 12\%$ *versus* $38 \pm 24\%$ pour l'azote ($P < 0,05$), l'étude étant effectuée après une durée médiane de 16 et 35 mois suivant la chirurgie. Au terme du suivi, la NP a été arrêtée, réduite ou maintenue inchangée, chez respectivement 4, 7 et 0 patients avec anse reverse, contre respectivement 2, 2 et 7 patients sans anse reverse. La citrullinémie, dosée chez 8 patients appariés dans chaque groupe, était de 28 ± 11 $\mu\text{mol/l}$ dans le groupe avec anse reverse *versus* 18 ± 7 $\mu\text{mol/l}$ dans le groupe sans anse reverse ($P = 0,01$). Entre les 2 groupes la pente de la relation entre citrullinémie et longueur de grêle était identique mais l'intercept (18 vs. 8 respectivement) différait.

Ainsi les patients ayant un SGC avec anse reverse améliorent leur absorption lipidique et azotée de plus de 30%, avec maintien d'une hyperphagie compensatrice, ce qui permet de diminuer leur degré de dépendance à la NP. De façon parallèle la citrullinémie est plus élevée, suggérant que l'anse reverse augmente la masse entérocytaire : une augmentation progressive du calibre du jéjunum restant est nette sur les transit du grêle séquentiels dans l'année suivant le montage chirurgical³⁴².

6.1.3 La citrullinémie est bien d'origine grêlique *in vivo* chez l'homme : le modèle de la transplantation intestinale

Article 7 CIRCULATING CITRULLINE MAY ORIGINATES FROM SMALL BOWEL IN HUMANS : A CONVINCING HYPOTHESIS BASED UPON FOLLOW-UP OF A SMALL BOWEL-LIVER TRANSPLANTED ADULT PATIENT.

soumis à Transplantation

Nous avons confirmé notre hypothèse (cf. 5.5) en étudiant l'évolution de la citrullinémie

avant et après transplantation intestinale pour insuffisance intestinale permanente. Il s'agit du premier cas français de double transplantation intestin grêle-foie chez un adulte dont l'évolution à moyen terme (41 mois) est favorable³⁴³. Cet homme de 21 ans a bénéficié d'une double transplantation intestin grêle-foie en mai 1997. Il présentait un SGC avec insuffisance intestinale permanente à la suite d'une péritonite chimique (formolisation abdominale pour rupture de kystes hydatiques en octobre 1991). Après de multiples complications post-opératoires (28 laparotomies au total), la longueur du grêle restant était évaluée à 15 cm avec jéjunostomie terminale, antrectomie partielle avec gastro-entéroanastomose, et côlon transverse gauche et rectum exclus. Une NP avait été débutée en décembre 1992. En 1996, lors de son transfert dans le centre agréé de NPAD adulte d'Ile de France, il présentait des complications sévères en relation avec sa maladie et avec la NP : facteur V à 55% avec fibrose hépatique extensive à l'histologie, syndrome cérébelleux avec atrophie vermienne en rapport avec une carence prolongée en vitamine E, encéphalopathie due à une surcharge en manganèse, pancytopenie en rapport avec une histiocytose médullaire secondaire à une thésaurisose lipidique. Une double transplantation intestin grêle-foie a été réalisée (Service de Chirurgie du Pr. H. Bismuth, hôpital Paul Brousse, Villejuif), avec une iléostomie terminale et une jéjunostomie de protection, sans complications péri-opératoires. Le traitement immunosuppresseur a consisté en tacrolimus (FK506), corticoïdes et azathioprine. La réalimentation entérale calorique (soluté semi-élémentaire) a débuté au 14^{ème} jour post-transplantation. Un seul épisode de rejet intestinal aigu modéré a été observé au 26^{ème} jour (augmentation du débit d'iléostomie), contrôlé par un bolus de méthyl-prednisolone. Il n'a pas été noté de rejet hépatique. Le patient a présenté une insuffisance rénale modérée, partiellement régressive après équilibration hydro-électrolytique et adaptation posologique du FK506 à partir du 2^{ème} mois. Il a été définitivement sevré de la NP à J60. Un rétablissement de la continuité par anastomose iléo-rectale a été réalisé au 23^{ème} mois post-transplantation, l'iléostomie de protection ayant été fermée au 28^{ème} mois. Une étude de l'absorption intestinale, selon la méthode que nous avons présentée dans notre thèse et la mesure du contenu énergétique fécal par bombe calorimétrique, a été réalisée avant (sous alimentation orale : 2500 kcal/j, débit de stomie à 4100 g/j), à 3 mois (sous alimentation entérale exclusive : 2200 kcal/j, débit d'iléostomie à 1600 g/j), à 18 mois (sous alimentation orale : 2400 kcal/j, débit d'iléostomie à 1300 g/j) et à 32 mois (sous alimentation orale : 2320 g/j, débit de selles 840 g/j) post-transplantation. La citrullinémie et l'argininémie post-absorptive, avec évaluation couplée de la fonction rénale, a été dosée régulièrement. Plus de 3 ans après la transplantation, le patient est sevré de toute nutrition artificielle, on note une amélioration

neurologique nette, les tests fonctionnels hépatiques sont normaux, le greffon intestinal a un aspect endoscopique, radiologique et histologique normal, il persiste une insuffisance rénale modérée (clairance de la créatinine 75 ml/min). L'état nutritionnel clinique, bon avant la transplantation, l'est resté après celle-ci. Il n'y a pas de signes biologiques en faveur d'une carence en micronutriments, notamment en vitamine E.

La citrullinémie (cf. **Article 7**), régulièrement (n=4) inférieure à 5 $\mu\text{mol/l}$ avant la transplantation, montre un retour progressif à une valeur normale discrètement élevée, qui ne peut être expliqué par la discrète insuffisance rénale. L'évolution de la citrullinémie s'est faite en parallèle à l'amélioration de la fonction absorbptive des macronutriments et de la vitamine B₁₂ et à la normalisation de l'argininémie ce qui montre :

a) que la transplantation intestinale est une thérapeutique efficace sur le plan absorbatif et nutritionnel dans l'insuffisance intestinale permanente.

b) que la citrulline est bien produite par l'intestin grêle *in vivo* chez l'homme, la transplantation hépatique isolée ne corrigeant pas les hypocitrullinémies sévères des déficits en CPS et OTC^{328,329}. Par ailleurs une évolution parallèle à la citrullinémie de l'argininémie a été constatée après la transplantation intestinale. Ceci suggère que l'arginine est bien un AA conditionnellement essentiel dans l'insuffisance intestinale permanente.

c) que la concentration plasmatique de citrulline peut être utilisée comme marqueur de la fonction absorbptive du grêle chez l'homme.

Dans l'avenir la citrullinémie devrait donc faire partie des paramètres à contrôler chez les patients bénéficiant d'une transplantation intestinale, de façon à tester prospectivement sur une série suffisante son intérêt pratique dans la prise en charge globale.

6.2 Sensibilité et spécificité de la citrullinémie pour le diagnostic d'altérations pariétales du grêle et de leur étendue : protocole multicentrique

Sur la base des résultats de nos travaux nous avons initié un protocole de recherche multicentrique. Il s'agit d'une Etude transversale ouverte intitulée : «**La citrulline plasmatique est-elle un marqueur sensible et spécifique du diagnostic d'altérations pariétales du grêle et de leur étendue**». Ce projet, réalisé en 1999-2000, bénéficie d'un financement partiel du Fond de Recherche de la Société Nationale Française de Gastroentérologie (SNFGE).

6.2.1 Objectifs

La présence d'une stéatorrhée n'étant pas spécifique d'une entéropathie puisqu'elle est observée dans l'insuffisance pancréatique exocrine, il est donc particulièrement important, pour la pratique clinique, de disposer d'un marqueur sanguin traduisant l'existence et l'étendue de l'atteinte pariétale du grêle, en parallèle à la mesure de la fonction absorbative globale du grêle. Nous avons montré dans nos travaux que la citrulline circulante pourrait être le bon candidat marqueur représentant la masse entérocytaire absorbative fonctionnelle ce qui devrait permettre d'établir le diagnostic d'altérations pariétales du grêle et de leur étendue. Nous avons validé ce concept dans les résections intestinales (SGC) et les atrophies villositaires (SAV) chez l'homme (**Article 5, Article 6**). L'interprétation de la concentration plasmatique de citrulline doit cependant tenir compte de deux facteurs, l'un clinique et l'autre méthodologique. Sur le plan clinique, la citrulline étant métabolisée en arginine par le rein, son taux s'élève selon le degré d'altération de la fonction rénale et notamment en cas d'insuffisance rénale sévère ; cette situation est donc génératrice d'hypercitrullinémie sous-estimant l'atteinte muqueuse entérocytaire. Sur le plan méthodologique, la citrullinémie a été dosée dans nos travaux par chromatographie échangeuse d'ions, au sein de l'ensemble des AA plasmatiques. Chez le sujet adulte contrôlé, indemne de pathologie intestinale, la citrullinémie est de $40 \pm 10 \mu\text{mol/l}$ et son CV intra sujet proche de 7.5% (reproductibilité)²⁶¹. Un dosage HPLC (chromatographie liquide de haute performance) pourrait permettre un CV plus faible.

La sensibilité et la spécificité de la citrullinémie n'a pas été établie dans le diagnostic des atteintes pariétales du grêle éventuellement responsables d'un SMA et dont l'étendue est souvent difficile à préciser : ceci sera l'objectif de ce projet. Notre but sera donc d'étudier sur une série suffisante de patients la valeur diagnostique de la citrullinémie comme marqueur de

la présence et de la sévérité d'une entéropathie pariétale du grêle.

6.2.2 Moyens

Les patients seront inclus dans 5 services d'Hépatogastroentérologie (4 de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris-Université Paris VII et le service du CHU de Lille). L'investigation des patients sera celle habituellement nécessaire, à laquelle sera ajoutée le dosage de la citrulline plasmatique après prélèvement veineux au pli du coude. Les données endoscopiques et histologiques intestinales, notamment du grêle, seront également notées pour juger de l'atteinte pariétale, de sa nature et de l'étendue des lésions.

Quatre groupes de patients seront étudiés :

- a) les patients présentant un SMA, quel qu'en soit la cause, défini par le meilleur critère de jugement pertinent parmi les arguments cliniques, biologiques et anatomiques usuels²²⁴ (groupe des vrais positifs)
- b) les patients présentant une maldigestion avec stéatorrhée, liée à une insuffisance pancréatique exocrine quel qu'en soit la cause (groupe des vrais négatifs)
- c) les patients atteints de dénutrition par carence d'apport (anorexie, *i. e.* insuffisance orale sans pathologie digestive) (groupe des potentiellement faux positifs)
- d) les patients porteur d'une maladie de Crohn de localisation grêlique (groupe des potentiellement faux négatifs en cas d'atteinte grêlique).

Seuls les patients ayant une des pathologies ci dessus avec insuffisance rénale sévère patente (créatininémie > à 200 $\mu\text{mol/l}$) seront exclus.

Pour cette étude, le dosage de la citrulline plasmatique sera effectuée en HPLC, d'une part pour tenter d'obtenir un dosage plus précis (CV intra sujet de l'ordre de 5% en HPLC au lieu de 7 à 10% en chromatographie échangeuse d'ions) et d'autre part pour réduire le coût du dosage en se focalisant sur les AA d'intérêt : citrulline plasmatique, son précurseur et son métabolite principaux, respectivement glutamine et arginine.

Pour les patients ayant une entéropathie ou une insuffisance pancréatique exocrine le bilan usuel requis pour l'investigation digestive inclura, pour juger de l'étendue des lésions pariétales intestinales, un recueil des selles de 3 jours pour mesure du poids de selles et dosage de la stéatorrhée (méthode de Van de Kamer) ainsi que de l'élastase fécale (méthode ELISA avec résultat exprimé par gramme de selles). Cette dernière technique d'investigation non invasive de la fonction exocrine pancréatique a, au seuil de 150 $\mu\text{g/g}$, des bonnes reproductibilité, sensibilité (85%) et spécificité (92%) en cas d'insuffisance pancréatique

exocrine patente ³⁴⁴. Une estimation semi-quantitative des ingesta oraux en trois classes (normal ou augmenté, diminué, nul ou négligeable) sera par ailleurs utilisée.

6.2.3 Résultats attendus

L'objectif étant la validation «épidémiologique» du marqueur de la masse entérocytaire citrullinémie, de hautes sensibilité et spécificité sont attendues dans les entéropathies, en fonction des données macroscopiques et microscopiques, par rapport aux groupes contrôles. Cette étude fournira la base pour une utilisation en routine gastro-entérologique et nutritionnelle de la citrullinémie qui devra, bien entendu, respecter les conditions de prélèvements (patient à jeun, envoi rapide au laboratoire ou première centrifugation si l'acheminement est retardé) et d'analyse.

6.3 Conséquences fonctionnelles de l'hypocitrullinémie-hypoargininémie dans l'insuffisance intestinale chronique

La diminution de la citrullinémie et de l'argininémie dans l'insuffisance intestinale chronique pourrait signifier que ceux-ci deviennent des AA conditionnellement essentiels dans cette situation, *i.e.* que l'organisme est incapable d'en synthétiser suffisamment pour ses besoins ¹⁸⁸. Ceci est peut être évoqué pour la citrulline et surtout pour l'arginine, car a) ce dernier - fortement abaissé en intracellulaire dans le SGC expérimental ^{188,333} - est contenu dans les protéines, a un rôle nutritionnel et immunomodulateur, et stimule les sécrétions hormonales (hormone de croissance, insuline), et b) il est important de respecter le rôle de marqueur de la citrulline, les conséquences de son déficit de production étant corrigées par l'arginine, mais non par l'ornithine, comme cela été montré dans les hypocitrullinémies constitutionnelles ³¹⁹.

6.3.1 Hyperammoniémie

Par analogie avec les déficits enzymatiques congénitaux il s'agit d'une anomalie biologique attendue lors d'une hypocitrullinémie. Nous avons effectué une étude préliminaire [résultats personnels non publiés] chez 14 patients avec SGC (longueur de grêle 75±51 cm, extrêmes 10-155, côlon présent et absent chez respectivement 11 et 3 patients), sans insuffisance hépatique ou rénale et en état stable sans état d'agression. Nous avons dosé, en période post-absorptive après, pour les 9 patients concernés, arrêt depuis au moins 12 heures de la nutrition parentérale, en sang veineux et en sang artérialisé au niveau de l'avant-bras [en utilisant la technique mise au point pour les prélèvements des études isotopiques ³⁴⁵ et pratiqué dans

l'Article 2], citrullinémie, argininémie, glutaminémie et ammoniémie. Il n'y avait pas de différence entre prélèvement veineux et artérialisé pour la citrullinémie (respectivement 24 ± 17 vs. 24 ± 19 $\mu\text{mol/l}$) et l'argininémie (43 ± 23 vs. 43 ± 24 $\mu\text{mol/l}$), confirmant que le territoire périphérique musculaire ne joue pas un rôle important dans les échanges interorganes de ces 2 AA. Les résultats des concentrations plasmatiques en sang veineux et artérialisé de citrulline étaient très hautement corrélés ($r > 0.99$, $P < 0.0001$, écart-type de la différence 2.5 $\mu\text{mol/l}$). Par contre, comme attendu, le muscle étant un des principaux exportateurs de glutamine, la glutaminémie veineuse (666 ± 130 $\mu\text{mol/l}$) était supérieure ($P = 0.10$) à la glutaminémie du sang artérialisé (610 ± 120 $\mu\text{mol/l}$). L'ammoniémie était élevée (supérieure à 55 $\mu\text{mol/l}$ en sang veineux) 10 fois sur 14, significativement supérieure en sang artérialisé par rapport au sang veineux (72 ± 22 vs. 59 ± 25 , $P < 0.05$). L'ammoniémie veineuse était d'autant plus élevée que la longueur de grêle restante était courte ($P < 0.02$). L'ammoniémie ne différait pas significativement en fonction de la présence ou non du côlon. Il n'y avait pas de corrélation significative entre ammoniémie et citrullinémie ou argininémie.

Ces résultats montrent que la situation de réduction de la masse intestinale absorptive chez l'homme est bien une situation où se rencontre une hyperammoniémie, confirmant des résultats animaux³³⁴. Dans certaines cas (en particulier nutrition parentérale avec défaut d'apport d'arginine) cette anomalie pourrait se révéler cliniquement patente (vomissements, encéphalopathie métabolique, coma...). Deux cas d'hyperammoniémies chez des patients ayant un grêle court ont été rapportés^{346,347}. Cette anomalie était réversible après administration parentérale d'arginine (6 g/j).

6.3.2 Production de NO°, synthèse protéique, libération de GH

On peut s'interroger sur les conséquences systémiques potentielles du déficit en arginine, et peut-être de la production de NO°, sur les fonctions immunitaires, la synthèse protéique corps entier (balance azotée) et tissulaire et sur la libération hypophysaire de l'hormone de croissance (le test de stimulation du système α -adrénergique, inhibant la sécrétion de somatostatine, par la perfusion de 0.5 g/kg en 30 minutes de chlorhydrate d'arginine est une épreuve fonctionnelle utilisable en clinique pour vérifier l'intégrité fonctionnelle de la sécrétion de GH). Il est à noter toutefois que :

a) les solutés de nutrition parentérale contiennent de l'arginine, jusqu'à 22.5 g pour 1 litre d'Hyperamine® 20.

b) si dans un modèle expérimental d'entérectomie chez le rat, la captation rénale de

citrulline et la production rénale d'arginine est réduite de 50%, ceci n'a pas d'effet significatif sur la production totale d'arginine (Ra) -car la production rénale d'arginine représente moins de 10% de la production totale d'arginine dans ce modèle- et la concentration artérielle d'arginine³³⁴. Par ailleurs après résection intestinale chez le rat Wakabayashi ne notait une diminution de l'arginine plasmatique que si la diète était pauvre en arginine, alors que sa concentration musculaire était abaissée même avec une diète normalement riche en arginine¹⁸⁸.

c) *in vivo* chez l'homme sain la production de NO° ne représente que 1% du flux d'arginine contre 15% pour la production d'urée²⁹⁵. L'arginine plasmatique est par contre le premier précurseur du NO° puisqu'il rend compte d'environ la moitié de sa production au niveau du corps entier^{294,295}. Chez l'homme sain la synthèse *de novo* d'arginine à partir de la citrulline représente également environ 10% du flux d'arginine et n'est pas modulée par l'apport d'arginine dans l'alimentation²⁹⁴. Ces données suggèrent que le pool d'arginine est régulé seulement par les apports et la dégradation de l'arginine.

Il semble néanmoins clair que ces données animales et chez l'homme sain mériteraient d'être explorées chez le patient insuffisant intestinal. Dans l'état actuel des connaissances on peut conseiller des apports d'autant plus important en arginine que l'amputation intestinale est conséquente.

6.3.3 Etude par les isotopes stables du caractère conditionnellement essentiel de la citrulline et de l'arginine dans le syndrome de grêle court

Un protocole de recherche, intitulé «**Besoins nutritionnels spécifiques du syndrome du grêle court chez l'adulte : substrats de l'intestin et acides aminés conditionnellement-essentiels**», vient d'être initié. Ce projet a obtenu l'accord du CCPPRB (Comité consultatif de protection des personnes se prêtant à la recherche biomédicale), bénéficie d'un financement partiel de l'ESPEN (European Society of Enteral and Parenteral Nutrition) et est réalisé en collaboration avec l'équipe du Pr. PB Soeters (Maastricht, Pays-Bas).

6.3.3.1 Objectifs

Comme nous l'avons montré au cours de notre thèse, le métabolisme de différents AA est modifié au cours du SGC. C'est le cas notamment de la citrulline, de la glutamine, de l'arginine, mais également de la taurine dont la carence entraîne un déficit d'acides biliaires tauro-conjugués pouvant être en cause dans la cholestase associée à la NP¹⁹¹. Au cours du SGC ces AA pourraient ainsi devenir essentiels. La définition de ce dernier concept a évolué.

Classiquement un AA est considéré comme essentiel quand son absence du régime entraîne un bilan azoté négatif. Chez l'homme il s'agit des 8 AA essentiels de la classification de Rose, plus l'histidine qui est lentement essentiel du fait de l'abondance de ses réserves dans les chaînes de globine. Un AA est essentiel dans une espèce quand il existe un déficit enzymatique constitutionnel empêchant la biosynthèse endogène notamment du squelette carboné. D'autres AA deviennent de façon acquise *conditionnellement essentiels* quand la capacité de synthèse *de novo* est inférieure aux besoins, traduisant une réduction de la synthèse (prématurité, agression, insuffisance rénale, hépatique...) et/ou une augmentation de l'utilisation par l'organisme (cicatrisation, agression...) ³⁴⁸. Selon Young la confirmation qu'un AA est essentiel doit s'appuyer sur l'étude du renouvellement interorgane des AA par l'utilisation de traceurs isotopiques stables. Dans ces études le point d'inflexion de la courbe d'oxydation de l'AA étudié en fonction de ses apports représenterait le besoin minimal en cet AA ³⁴⁹. Le but de cette étude est de préciser au cours du SGC le caractère conditionnellement essentiel de la glutamine, de la citrulline, de l'arginine et de la taurine en déterminant leurs flux respectifs à l'état post-absorptif par comparaison à des sujets sains, la mesure des flux de ces 4 AA étant couplée à celle de l'oxydation protéique par le modèle phénylalanine-tyrosine ¹¹⁶.

6.3.3.2 Moyens

Douze patients porteurs d'un SGC seront inclus, dont 6 patients avec un côlon et 6 patients porteurs d'un jéjunostomie terminale, tous dépendants de la NP (non enrichis en taurine, en glutamine ou en arginine), avec alimentation orale libre. Six volontaires sains serviront de groupe contrôle. Grâce à une perfusion veineuse périphérique de traceurs isotopiques, les flux de citrulline (¹³C-²H-citrulline), de glutamine (¹⁵N-glutamine), d'arginine (¹⁵N-arginine), et de taurine (¹³C-taurine) seront déterminés à l'aide du modèle à l'état stationnaire. Le même principe sera appliqué pour le modèle phénylalanine-tyrosine.

Les 12 patients seront séparés en 2 groupes de 6, l'un ayant reçu une supplémentation quotidienne par voie orale en glutamine et en taurine pendant 21 jours avant l'épreuve isotopique, et l'autre sans supplémentation. L'étude isotopique s'effectuera selon les conditions des perfusions veineuses que nous avons détaillé dans l'**Article 2**. La mesure des enrichissements utilisera un GCMS.

6.3.3.3 Résultats attendus

Il est attendu chez les malades porteurs d'un SGC une baisse des flux des AA étudiés en période post-absorptive. Ce résultat pourra servir de base rationnelle à une supplémentation des solutés de NP en ces AA.

La concentration plasmatique de citrulline étant fortement corrélée à la longueur du grêle restant, il est logique de s'attendre à un flux de citrulline plus faible chez les patients porteurs de SGC par rapport aux contrôles. La diminution des flux de citrulline, d'arginine, de glutamine et de taurine en période post-absorptive étayera le caractère conditionnellement essentiel de ces AA au cours du SGC. La conversion *in vivo* de glutamine en citrulline et de citrulline en arginine pourra par ailleurs être déterminée. L'absence de modification des flux de glutamine et de taurine après supplémentation par voie orale en glutamine et taurine confirmerait le bien fondé de la nécessité d'une supplémentation par voie parentérale.

6.4 Autres problématiques

6.4.1 Utilité de la citrullinémie dans le suivi des patients (adaptation intestinale)

Nous avons eu l'occasion d'évoquer l'adaptation intestinale post-résection intestinale, largement multifactorielle dans son déterminisme, dont la réalité et l'importance est discuté par certains chez l'homme adulte. Le suivi de la citrullinémie pourrait être un bon indice pour vérifier la présence ou non du développement de l'adaptation intestinale, notamment en présence d'ingesta suffisant. Ce travail est en cours.

On peut également présager de l'intérêt du suivi de la citrullinémie dans la surveillance de la repousse villositaire sous traitement adapté, notamment au cours d'un régime sans gluten. Un des intérêts potentiels serait d'éviter un nombre trop important d'endoscopie digestive. Il serait ainsi possible de mieux sélectionner le moment pour réaliser la fibroscopie de contrôle chez ces malades.

6.4.2 Epreuve de charge orale en glutamine

Elle consiste en l'administration d'une quantité donnée, dans des conditions standardisées, de glutamine orale, la glutamine entérale étant très bien absorbée¹⁴². Elle pourrait constituer une «épreuve d'effort» de la masse fonctionnelle de l'intestin grêle (test dynamique) pour sensibiliser, sur le paramètre citrullinémie, les résultats «statiques» que nous avons obtenus.

6.4.3 Adaptation intestinale au niveau des activités enzymatiques et de l'expression des gènes des protéines enzymatiques intestinales

Dans le SGC on doit s'attendre, au niveau tissulaire intestinal, à une augmentation de

l'activité de divers transporteurs et des enzymes impliqués dans la biosynthèse de la citrulline (notamment pour la P5CS et l'OTC) ainsi qu'en amont à une augmentation de l'expression des gènes de ces protéines (quantité d'ARNm). L'expression de ces protéines peut être étudiée par hybridation *in situ* et Northern blot et quantifiée par RT-PCR. Il s'agirait d'une méthode élégante pour prouver la réalité d'une adaptation intestinale qui nécessite au préalable une mise au point méthodologique. Ce type d'approche a été utilisé après résection intestinale expérimentale de 70% de l'intestin grêle chez le rat : une adaptation précoce de la transcription des gènes de l'apolipoprotéine AIV (mais non de l'apolipoprotéine AI) et de la FABP, plus marquée dans l'iléon que le duodénum, a ainsi été démontrée ¹.

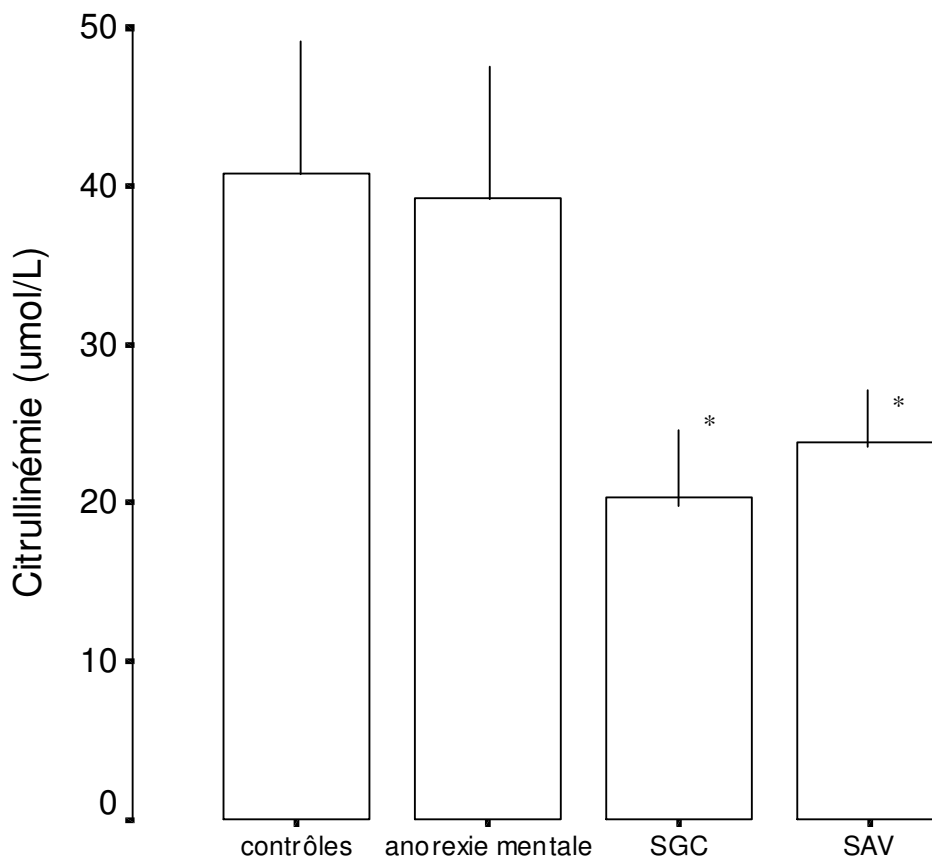
7 SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Nous avons montré au cours de notre thèse qu'une modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique, liée à une entéropathie malabsorptive sévère, peut aujourd'hui être réalisée. En effet la NP, «intestin artificiel», particulièrement à domicile (NPAD), permet une survie prolongée à ces malades. Nous avons montré que la dépendance à la NP n'est pas un facteur pronostic indépendant dans le syndrome post-chirurgical du grêle court. Dans ce syndrome, qui représente 80% des causes d'insuffisance intestinale chronique, la survie est liée aux caractéristiques anatomiques post résection (longueur de grêle, présence ou non du côlon) et au terrain (pronostic plus péjoratif pour les ischémies intestinales). La dépendance ou non à la NP, compte tenu du développement d'une hyperphagie compensatrice et adaptative, n'est reliée qu'aux caractéristiques anatomiques (longueur de grêle et persistance ou non de la valvule iléo-cæcale et du côlon) intestinales, toutes 2 permettant l'autonomie nutritionnelle orale par bilans nets hydro-électrolytique et protéino-énergétique positifs. Nous avons pu montrer que la limite de 2 ans suivant la résection pouvait être choisie comme césure pour séparer les patients insuffisants intestinaux transitoires (dans 94% des cas sevrés de NP avant cette durée) des patients insuffisants intestinaux chroniques permanents (dans 95% des cas non sevrés après cette durée). L'étude de la concentration plasmatique des AA à «métabolisme intestinal privilégié», auxquels nous nous sommes intéressés après avoir optimisé la méthode de perfusion digestive des traceurs isotopiques d'AA (en montrant qu'il fallait utiliser une perfusion duodénale et non gastrique), nous a permis de postuler que la citrullinémie, AA non protéique synthétisé par les entérocytes à partir de la glutamine, pourrait être un marqueur anatomo-fonctionnel de la masse entérocytaire dans les situations d'insuffisance intestinale chronique. Ceci n'a pu être confirmé qu'après validation d'une méthode anatomique (mesure du grêle restant par opisométrie sur transit baryté) et physiologique (bilan d'absorption à partir desquels nous avons notamment montré que le CUD des lipides, sous réserve d'apport oraux élevés, est un bon indice de la masse fonctionnelle grêlique) de la masse intestinale absorptive et donc de la masse entérocytaire.

Le point le plus original de ce travail est ainsi d'avoir démontré que la concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, significativement abaissée par rapport aux sujets contrôles et hautement corrélée à la longueur de grêle et à l'absorption lipidique, était un très bon indicateur de la masse entérocytaire anatomique et fonctionnelle et de l'insuffisance intestinale, au seuil de 20 $\mu\text{mol/l}$, dans le syndrome post-chirurgical du grêle court. A ce seuil la sensibilité et la spécificité de ce marqueur pour le diagnostic d'insuffisance intestinale

permanente était de respectivement 92 et 90%. Nous avons généralisé et confirmé ce concept dans le syndrome médical d'atrophie villositaire, première cause de SMA et potentiellement générateur d'insuffisance intestinale, pour lequel l'intensité et l'étendue des lésions intestinales étaient vérifiées histologiquement. Un seuil de citrullinémie à 10 $\mu\text{mol/L}$ était là hautement prédictif d'une maladie diffuse et, en pratique, d'une insuffisance intestinale sévère nécessitant la NP. Nous avons vérifié que la dénutrition pure de type marasmique (anorexie mentale restrictive), sans syndrome hypermétabolique et sans maladie digestive, ne modifiait pas significativement la citrullinémie, montrant que ce marqueur n'est pas influencé par la dénutrition protéino-énergétique. La comparaison des niveaux de citrullinémie dans ces 3 groupes de malades et dans une cohorte de sujet sain est représentée sur la **Figure 10**.

FIGURE 10. Concentration plasmatique de citrulline chez les sujets contrôles (n=51), dénutris par anorexie mentale (n=57), porteur d'un syndrome de grêle court (SGC, n=57) ou d'un syndrome d'atrophie villositaire (SAV, n=52).



* $p < 0.05$: SGC et SAV *versus* contrôles et anorexie mentale

L'insuffisance intestinale malabsorptive, dont la sévérité est quantifiable par le niveau de la citrullinémie, reste à différencier de l'insuffisance orale, qui si elle est «pure» ne semble pas influencer sur la masse intestinale entérocytaire. Dans les pseudo-obstructions intestinales chroniques, avec une insuffisance intestinale d'origine essentiellement «obstructive», la citrullinémie est normale ou subnormale sauf en cas d'anomalies de la muqueuse intestinale. Néanmoins des apports faibles, eut égard à la situation digestive, pourraient, par diminution de la stimulation de la masse entérocytaire, avoir une action hypoadaptative en cas d'insuffisance intestinale post-chirurgicale. Ceci est suggéré par l'observation dans le SGC de la diminution de 30% de la citrullinémie chez des patients sans hyperphagie par rapport à des patients hyperphages appariés sur les caractéristiques anatomiques. L'ensemble de ces données est résumé sur le **Tableau 8**.

Tableau 8. Citrullinémie, insuffisances orale et intestinales

Syndrome	Citrullinémie
Insuffisance orale avec dénutrition	normale ^a
Insuffisance intestinale malabsorptive	
post- chirurgicale (syndrome de grêle court)	abaissée ^{b, c}
médicale (syndrome d'atrophie villositaire)	abaissée ^d
Insuffisance intestinale obstructive (POIC)	normale ^e

^a *i.e.* 20 à 60 $\mu\text{mol/l}$ (moy \pm 2SD des sujets contrôles)

^b le seuil de 20 $\mu\text{mol/l}$ sépare les patients insuffisants intestinaux permanents et transitoires ; ^c à statut anatomique identique la présence d'une hyperphagie s'accompagne d'une augmentation d'environ 30% de la citrullinémie par rapport à l'absence d'hyperphagie.

^d le seuil de 10 $\mu\text{mol/l}$ indique une maladie diffuse du grêle et permet de définir l'insuffisance intestinale sévère (indication à la NP)

^e sauf en cas d'atrophie villositaire associée.

NB : Ces données ne sont valides qu'en l'absence d'insuffisance rénale (clairance > 50 ml/min) et de stress métabolique. La citrullinémie est la concentration plasmatique post-absorptive.

L'étude d'un patient avec insuffisance intestinale permanente ayant pu bénéficier avec succès d'une transplantation intestinale, en normalisant en quelques semaines la concentration plasmatique de citrulline en parallèle à une amélioration nette des CUD des nutriments et à un sevrage réussi de la nutrition parentérale, nous a confirmé que la citrulline circulante est bien d'origine intestinale *in vivo* chez l'homme.

Ainsi, selon les résultats de notre recherche personnelle, il est possible de déterminer pour l'insuffisance intestinale chronique :

1. Un **modèle clinique**, basé sur les caractéristiques anatomiques digestives : la longueur de grêle restant dans chacun des 3 types anastomotiques. Ces données permettent une prédiction de la dépendance à la NP mais doivent tenir compte du temps d'adaptation intestinale (environ 2 ans chez l'adulte). Nous proposons de définir l'insuffisance intestinale transitoire (subaiguë, réversible, «adaptable») et permanente (chronique, irréversible) en fonction du caractère effectif ou non du sevrage de la NP avec succès, *i.e.* sans constitution d'une dénutrition sévère après arrêt de la NP depuis au moins un an.

2. Un **modèle fonctionnel**, basé sur les capacités absorbatives intestinales. Ce modèle ne doit pas être sous-tendu uniquement sur les pertes fécales, qui dépendent des ingesta. Il doit se baser sur les CUD (déterminés sur 3 jours), a) en présence d'une hyperphagie qui permet de promouvoir l'expression de l'adaptation intestinale, et b) en maintenant un état nutritionnel normal ou subnormal (au besoin par la NP). Cette détermination fonctionnelle intestinale est moins lourde dans sa réalisation que les bilans entrées-sorties hydro-électrolytique et nutritionnel (protéino-énergétique ou énergétique seul) qui restent la référence de soins.

3. Un **modèle biochimique**, basé sur les fonctions métaboliques des entérocytes. Le dosage de la citrullinémie veineuse post-absorptive est nettement plus simple que la détermination des paramètres explicatifs des modèles précédents et pourrait, par ailleurs, constituer un marqueur de l'adaptation intestinale [travail en cours]. L'hypocitrullinémie constatée résulte très probablement d'un «déficit enzymatique» acquis de la biosynthèse entérocytaire. La citrullinémie n'est pas reliée directement à l'état nutritionnel, mais elle est influencée par la fonction rénale et, dans de très rares cas, par les maladies métaboliques héréditaires du cycle de l'urée. Les conséquences de ces perturbations métaboliques constatées dans l'insuffisance intestinale sont que : a) la citrulline, et surtout son métabolite rénal l'arginine, pourrait devenir un AA conditionnellement essentiel, b) ces anomalies des substrats du cycle de l'urée pourraient être des cofacteurs d'hyperammoniémie. Il est important de souligner que dans le SGC la citrullinémie (post-absorptive) est à interpréter en présence d'ingesta suffisant du fait de la possible «surestimation» de l'atteinte entérocytaire par déficit d'adaptation intestinale en cas d'absence d'hyperphagie.

Ce marqueur biochimique, de bonne reproductibilité, a donc une importance potentielle théorique et pratique pour la prise en charge (en cas de discordance entre les données anatomiques et fonctionnelles, pour l'indication du sevrage de la NP, pour vérifier et quantifier la masse intestinale stimulée et/ou résiduelle...) des patients ayant une

malabsorption sévère et pour définir l'insuffisance intestinale chronique.

C'est ainsi que nous avons à notre disposition un marqueur de la masse entérocytaire applicable pour le diagnostic de sévérité des malabsorptions d'origine entérocytaire. Dans les applications et perspectives découlant de ces travaux des études sont en cours pour vérifier, a) si la citrullinémie est utile au suivi de l'adaptation intestinale, b) pour préciser, par les moyens isotopiques, son caractère conditionnellement essentiel (ainsi que celui de l'arginine) dans l'insuffisance intestinale chronique, c) pour déterminer sa valeur dans le diagnostic positif et d'étendue des altérations pariétales du grêle. L'ensemble de ces travaux a pour objectif de tester la validité de ce marqueur et d'étudier sa place dans le diagnostic et le suivi au long cours des SMA liés à une diminution de la masse entérocytaire, conditions potentiellement génératrices d'insuffisance intestinale.

Bibliographie

1. Rubin DC, Swietlicki EA, Wang JL, Dodson BD, Levin MS. Enterocytic gene expression in intestinal adaptation: evidence for a specific cellular response. *Am J Physiol* 1996; 270:G143-152.
2. Smith MW, Sepulveda FV. Adaptation and development of gastrointestinal function. Manchester: Manchester University Press, 1989.
3. Dudrick SJ, Wilmore DW, Vars HM, et al. Long-term parenteral nutrition with growth, development and positive nitrogen balance. *Surgery* 1968; 64:134-142.
4. Shils ME, Wright WL, Turnbull A, et al. Long-term parenteral nutrition through external arteriovenous shunt. *N Engl J Med* 1970; 283:341-344.
5. Matuchansky C, Messing B, Jeejeebhoy KN, Beau P, Beliah M, Allard JP. Cyclical parenteral nutrition. *Lancet* 1992; 340:588-591.
6. Messing B, Lémann M, Landais P, et al. Prognosis of patients with nonmalignant chronic intestinal failure receiving long-term home parenteral nutrition. *Gastroenterology* 1995; 108:1005-1010.
7. Messing B, Barnoud D, Beau P, et al. Données épidémiologiques 1993-95 de la nutrition parentérale à domicile en centres agréés chez l'adulte en France. *Gastroenterol Clin Biol* 1998; 22:413-418.
8. Howard L, Ament M, Fleming CR, Shike M, Steiger E. Current use and clinical outcome of home parenteral therapies in the United States. *Gastroenterology* 1995; 109:355-365.
9. Irving M. Spectrum and epidemiology of intestinal failure. *Clin Nutr* 1994; 14 (S1):10-11.
10. Fleming CR, Remington M. Intestinal failure. In: Hill GI, editor. *Nutrition and the surgical patient: Clinical Surgery International*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1981:219-235.
11. Jeejeebhoy KN. Small bowel failure: causes and current treatment options. In: Grant DR, Wood RFM, editors. *Small bowel transplantation*. London: Edward Arnold, 1993:1-10.
12. Nightindale JMD. Clinical problems of short bowel and their treatment. *Proc Nut Soc* 1994; 53:373-391.
13. Jeppesen PB, Mortensen PB. Intestinal failure defined by measurements of intestinal energy and wet weight absorption. *Gut* 2000; 46:701-706.
14. Blatchford GJ, Thompson JS, Rikkers LF. Intestinal resection in adults and causes and consequences. *Dig Surg* 1989; 6:57-61.
15. Vanderhoof JA, Langnas AN. Short bowel syndrome in children and adults. *Gastroenterology* 1997; 113:1767-1778.
16. Hirsch J, Ahrens EH, Blankenhorn DH. Measurement of the human intestinal length in vivo and some causes of variation. *Gastroenterology* 1956; 31:274-284.
17. Nightindale JMD, Lennard-Jones JE. The short bowel syndrome: what's new and old. *Dig Dis Sc* 1993; 11:12-13.
18. Nightindale JMD, Bartram CI, Lennard-Jones JE. Length of residual small bowel after partial resection: correlation between radiographic and surgical measurements. *Gastrointest Radiol* 1991; 16:305-306.

19. Cummings JH, James WPT, Wiggins HS. Role of the colon in ileal resection diarrhoea. *Lancet* 1973; 344-347.
20. Messing B. Home parenteral nutrition. In: Paynes-James J, Grimble G, Silk D, editors. *Artificial nutrition in clinical practice*. London: Edward Arnold, 1994:365-379.
21. Van Gossum A, Bakker H, De Francesco A, et al. Home parenteral nutrition in adults: a multicentre survey in Europe in 1993 ESPEN-Home artificial Nutrition Working Group. *Clin Nutr* 1996; 15:53-59.
22. Messing B. Audit of adult home parenteral long term feeders: a view from France. *Nutrition* 1996; 12:825-826.
23. Messing B. Nutrition parentérale de longue durée chez l'adulte. *Nutr Clin Métabol* 1996; 10:167-175.
24. Carbonnel F, Cosnes J, Chevret S, et al. The role of anatomic factors in nutritional autonomy after extensive small bowel resection. *J Parenter Enteral Nutr* 1996; 20:275-280.
25. Gouttebel MC, Saint Aubert B, Astre C, Joyeux H. Total parenteral nutrition needs in different types of short bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 1986; 31:718-723.
26. Nightindale JMD, Lennard-Jones JE, Gertner DJ, Wood SR, Bartram CI. Colonic preservation reduces need for parenteral therapy, increases incidence of renal stones, but does not change high prevalence of gall stones in patients with a short bowel. *Gut* 1992; 33:1493-1497.
27. Nordgaard I, Hansen BS, Mortensen PB. Colon as a digestive organ in patients with short bowel. *Lancet* 1994; 343:373-376.
28. Goulet OJ, Ricour C. The short bowel syndrome. In: Buts JP, Sokal EM, editors. *Management of digestive and liver disorders in infants and children*. Amsterdam: Elsevier, 1993:307-318.
29. Malagelada JR. The gut response to a meal and its hormonal control. In: Bouchier IAD, Allan RN, Hodgson HJF, Keigley MRB, editors. *Gastroenterology; Clinical Science and practice*. London: WB Saunders, 1993:369-395.
30. Nightindale JMD, Kamm MA, Van der Sijp JRM, et al. Disturbed gastric emptying in the short bowel syndrome. Evidence for a "colonic brake". *Gut* 1993; 34:1171-1176.
31. Nightindale JMD, Kamm MA, Van der Sijp JRM, et al. Gastrointestinal hormones in short bowel syndrome. Peptide YY may be the colonic brake to gastric emptying. *Gut* 1996; 39:267-272.
32. Phillips SF, Quigley EMM, Kumar D, Kamath PS. Motility of the ileocolonic junction. *Gut* 1988; 29:390-406.
33. Fich A, Staedman CJ, Phillips SF, et al. Ileocolonic transit does not change after right hemicolectomy. *Gastroenterology* 1992; 103:794-799.
34. Lin HC, Zhao XY, Wang L. Jejunal brake: inhibition of intestinal transit by fat in the proximal small intestine. *Dig Dis Sci* 1996; 41:326-329.
35. Spiller RC, Trotman IF, Higgins BE, et al. The ileal brake-inhibition of jejunal motility after ileal fat perfusion in man. *Gut* 1984; 25:365-374.
36. Marteau P, Messing B, Arigoni E, et al. Do patients with short-bowel syndrome need a lactose free diet? *Nutrition* 1997; 13:13-16.
37. Fordtran JS, Locklear TW. Ionic constituents and osmolality of gastric and small-intestinal fluids after eating. *Am J Dig Dis* 1966; 11:503-521.

38. Christopher NL, Bayless TM. Role of the small bowel and colon in lactose-induced diarrhea. *Gastroenterology* 1971; 60:845-852.
39. Newton CR, Gonvers JJ, McIntyre PB, Preston DM, Lennard-Jones JE. The effect of different types of drinks on fluid and electrolyte loss from a jejunostomy. *J Royal Soc Med* 1985; 78:27-34.
40. Arrambide KA, Santa Ana CA, Schiller LR, Little KH, Santangelo WC, Fordtran JS. Loss of absorptive capacity for sodium chloride as a cause of diarrhea following partial ileal and right colon resection. *Dig Dis Sci* 1989; 34:193-201.
41. Wong MH, Oelkers P, Craddock AL. Expression cloning and characterization of the hamster ileal sodium-dependant bile acid transporter. *J Biol Chem* 1994; 269:1340-1347.
42. Hofman AF, Poley JR. Role of bile acid malabsorption in the pathogenesis of diarrhea and steatorrhea in patients with ileal resection. I Response to cholestyramine or replacement of dietary long-chain triglycerides by medium-chain triglycerides. *Gastroenterology* 1972; 62:918-934.
43. Hagedorn CH, Alpers DH. Distribution of intrinsic factor-vitamin B12 receptors in human intestine. *Gastroenterology* 1977; 73:1019-1022.
44. Kozyraki R, Kristiansen M, Silaharoglu A, Hansen C, Jacobsen C, Tommerup N, et al. The human intrinsic factor-vitamin B12 receptor, cubilin: molecular characterization and chromosomal mapping of the gene to 10p within the autosomal recessive megaloblastic anemia (MGA1) region. *Blood* 1998; 91:3593-3600.
45. Briet F, Flourie B, Achour L, Maurel M, Rambaud JC, Messing B. Bacterial adaptation in patients with short bowel and colon in continuity. *Gastroenterology* 1995; 109:1446-1453.
46. Cosnes J, Carbonnel F, Beaugier L, Ollivier JM, Parc R, Gendre JP, et al. Functional adaptation after extensive small bowel resection in humans. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1994; 6:197-202.
47. Powel-Tuck J. Management of gut failure: a physician view. *Lancet* 1995; 344:1061-4.
48. Biasco G, Callegari C, Lami F, Miranini A, Miglioli M, Barbara L. Intestinal morphological changes during oral refeeding in a patient previously treated with total parenteral nutrition for small bowel resection. *Am J Gastroenterol* 1984; 79:585-588.
49. Feldman EJ, Dowling RH, Mc Naughton J, Peters TJ. Effects of oral versus intravenous nutrition on intestinal adaptation after small bowel resection in the dog. *Gastroenterology* 1976; 70:712-719.
50. Levine GM, Deren JD, Yezdimer E. Small bowel resection: oral intake is the stimulus for hyperplasia. *Dig Dis Sci* 1976; 34:709-715.
51. Levy E, Frileux P, Sandrucci S, et al. Continuous enteral nutrition during the early adaptive stage of the short bowel syndrome. *Br J Surg* 1988; 75:549-553.
52. Dyer J, Hosie KB, Shirazi-Beechey SP. Nutrient regulation of human intestinal sugar transporter (SGLT1) expression. *Gut* 1997; 41:56-59.
53. Cosnes J, Lamy P, Beaugier L, Le Quintrec M, Gendre JP, Le Quintrec Y. Adaptive hyperphagia in patients with post-surgical malabsorption. *Gastroenterology* 1990; 99:1814-1819.
54. Messing B, Pigot F, Rongier M, Morin MC, Ndeindoum U, Rambaud JC. Intestinal absorption of free oral hyperalimentation in the very short bowel syndrome. *Gastroenterology* 1991; 100:1502-1508.
55. Byrne TA, Persinger RL, Young LS, Ziegler TR, Wilmore DW. A new treatment for patients with short-bowel syndrome. Growth hormone, glutamine and a modified diet. *Ann Surg* 1995; 222:243-255.

56. Foltzer-Jourdaine C, Raul F. Facteurs de croissance intestinaux. *Nutr Clin Métabol* 1996; 10:325-335.
57. Seguy D, Vahedi K, Crenn P, et al. Growth hormone benefit in very short bowel patients: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* 1999; 116:A577 Abstract.
58. Debongnie JC, Phillips SF. Capacity of the colon to absorb fluid. *Gastroenterology* 1978; 74:698-703.
59. Ruppin H, Bar-Meir S, Soegel KH, Ood CM, Schmitt MG. Absorption of short chain fatty acids by the colon. *Gastroenterology* 1980; 78:1500-1507.
60. Nordgaard I, Hansen BS, Mortensen PB. Importance of colonic support for energy absorption as small bowel failure proceeds. *Am J Clin Nutr* 1996; 64:222-231.
61. Royall D, Wolever TM, Jeejeebhoy KN. Clinical significance of colonic fermentation. *Am J Gastroenterol* 1990; 85:1307-1312.
62. Ladefoged K, Olgaard K. Fluid and electrolyte absorption and renin angiotensin-aldosterone axis in patients with severe short bowel syndrome. *Gastroenterology* 1979; 74:729-735.
63. Nightindale JMD, Lennard-Jones JE, Waljer ER, Farthing MJG. Jejunal efflux in short bowel syndrome. *Lancet* 1990; 336:765-768.
64. Woolf GM, Miller C, Kurian R, Jeejeebhoy KN. High fat in short bowel syndrome, intestinal absorption and gastroenteropancreatic hormone responses. *Gastroenterology* 1983; 84:823-828.
65. Woolf GM, Miller C, Kurian R, Jeejeebhoy KN. Nutritional absorption in short bowel syndrome. Evaluation of fluid, calorie, and divalent cation requirement. *Dig Dis Sci* 1987; 32:8-15.
66. Rodrigues CA, Lennard-Jones JE, Thompson DG, Farthing MJG. Energy absorption as a measure of intestinal failure in short bowel syndrome. *Gut* 1989; 30:176-183.
67. Shils M. Experimental production of magnesium deficiency in man. *Ann NY Acad Sci* 1969; 162:847-856.
68. Ducreux M, Messing B, De Vernejoul MC, Bouhnik Y, Miravet L, Rambaud JC. Calcemic response to magnesium or 1-alpha-hydroxy-cholecalciferol treatment in intestinal hypomagnesemia. *Gastroenterol Clin Biol* 1991; 15:805-811.
69. Jeppesen PB, Staun M, Tjellesen L, Mortensen PB. Effect of intravenous ranitidine and omeprazole on intestinal absorption of water, sodium, and macronutrients in patients with intestinal resection. *Gut* 1998; 43:763-769.
70. McIntyre PB. The short bowel. *Br J Surg* 1985; 72:S92-S93.
71. Nightindale JMD, Walker ER, Farthing MJG, Lennard-Jones JE. Effect of omeprazole on intestinal output in the short bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Therap* 1991; 5:405-412.
72. Ladefoged K, Christensen KC, Hegnhøj J, Jarnum S. Effect of a long acting analogue SMS 201-995 on jejunostomy effluents in patients with severe short bowel syndrome. *Gut* 1989; 30:943-949.
73. O'Keefe SJD, Haymond M, Bennett WM, Oswald B, Nelson DK, Shorter RG. Long-acting somatostatin analogue therapy and protein metabolism in patients with jejunostomies. *Gastroenterology* 1994; 107:379-388.
74. Cosnes J, Gendre JP, Le Quintrec Y. Le syndrome de l'intestin dépassé. *Gastroenterol Clin Biol* 1988; 12:339-346.
75. Flourie B, Messing B, Bismuth E, Etanchaud F, Thuillier F, Rambaud JC. Acidose D lactique et encéphalopathie au cours d'un syndrome du grêle court à l'occasion d'un traitement antibiotique. *Gastroenterol Clin Biol* 1990; 14:596-598.

76. Simko V, McCarroll AM, Goodman S, Weesner RE, Kelley DG. High-fat diet in a short bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 1980; 25:334-338.
77. Arrigoni P, Marteau P, Briet F, Pochard P, Rambaud JC, Messing B. Tolerance and absorption of lactose from milk and yogurt during short bowel syndrome in humans. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:926-929.
78. Mc Intyre PB, Fitchew M, Lennard-Jones JE. Patients with a high jejunostomy do not need a special diet. *Gastroenterology* 1986; 91:25-33.
79. Selby PL, Peacock M, Bamback CP. Hypomagnesaemia after small bowel resection. treatment with 1 alpha hydroxylated vitamin D metabolites. *Br J Surg* 1984; 7:334-337.
80. Lambert D, Messing B, Benhayoun S, et al. Home parenteral nutrition and vitamin B12 status assessed with blood circulating intra-cellular markers. *Nutrition* 1997; 13:313-318.
81. Gruy-Kapral C, Little KH, Fordtran JS, et al. Conjugated bile acid acid replacement therapy for short bowel syndrome. *Gastroenterology* 1999; 116:15-21.
82. Ricour C. Du grêle court à la transplantation intestinale chez l'enfant: le rôle clef de la nutrition. *Nutr Clin Métabol* 1995; 9:69-77.
83. Messing B. Nutrition parentérale à domicile chez l'adulte. In: Colombel JF, Dupas JL, editors. *Progrès en Hépatogastroentérologie: pathologie du grêle*. Paris: Doin, 1997:217-235.
84. Cavicchi M, Beau P, Crenn P, Degott C, Messing B. Prevalence of liver disease and contributing factors in patients receiving home parenteral nutrition for permanent intestinal failure. *Ann Intern Med* 2000; 132:525-532.
85. Thompson JS, Langnas AN, Pinch LW, Kaufman S, Quigley EMM, Vanderhoof JA. Surgical approach to short bowel syndrome. Experience in a population of 160 patients. *Ann Surg* 1995; 222:600-607.
86. Panis Y, Messing B, Rivet P, Coffin B, Hautefeuille P, Matuchansky C, et al. Segmental reversal of the small bowel as an alternative to intestinal transplantation in patients with short bowel syndrome. *Ann Surg* 1997; 225:401-407.
87. Pigot F, Messing B, Chaussade S, Pfeiffer A, Pouliquen X, Jian R. Severe short bowel syndrome with a surgically reversed small bowel segment. *Dig Dis Sci* 1990; 35:137-144.
88. Goulet O. Recent studies on small intestinal transplantation. *Current opinion in gastroenterology* 1997; 13:500-509.
89. Grant D. Current results of intestinal transplantation. *Lancet* 1996; 347:1801-1803.
90. Grant D. Intestinal transplantation: 1997 report of the international registry. *Transplantation* 1999; 67:1061-1064.
91. Lobie PE, Breipohl S, Waters MJ. Growth hormone receptor expression in the rat gastrointestinal tract. *Endocrinology* 1990; 126:299-306.
92. Scolapio JS, Camilleri M, Fleming CR, Oenning LV, Burton DD, Sebo TJ, et al. Effect of growth hormone, glutamine, and diet on adaptation in short bowel syndrome: a randomized, controlled study. *Gastroenterology* 1997; 113:1077-1081.
93. Szkudlarek J, Jeppesen PB, Mortensen PB. Effect of high dose growth hormone with glutamine and no change in diet on intestinal absorption in short bowel patients: a randomised, double blind, crossover, placebo controlled study. *Gut* 2000; 47:199-205.

94. Drucker DJ, Erlich P, Asa SL, Brubaker PL. Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:7911-7916.
95. Jeppesen PB, Hartmann B, Hansen BS, Thulesen J, Holst JJ, Mortensen PB. Impaired meal stimulated glucagon-like peptide 2 response in ileal resected short bowel patients with intestinal failure. *Gut* 1999; 45:559-563.
96. Drucker DJ, Boushey RP, Wang F, Hill ME, Brubaker PL, Yusta B. Biologic properties and therapeutic potential of glucagon-like peptide 2. *J Parenter Enteral Nutr* 1999; 23:S98-100.
97. Quigley EMM. Small intestinal transplantation: reflections on an evolving approach to intestinal failure. *Gastroenterology* 1996; 110:2009-2012.
98. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine. *Gastroenterology* 1992; 102:330-354.
99. Carr A, Mariott D, Field A, Vasak E, Cooper DA. Treatment of HIV-1-associated microsporidiosis and cryptosporidiosis with combination antiretroviral therapy. *Lancet* 1998; 351:256-261.
100. Ryan BM, Kelleher D. Refractory celiac disease. *Gastroenterology* 2000; 119:243-251.
101. Mac Donald WC, Brandborg LL, Flick AL, Trier JS, Rubin CE. Studies of celiac sprue. IV. The response of the whole length of the small bowel to a gluten-free diet. *Gastroenterology* 1964; 47:573-589.
102. Cellier C, Delabesse E, Helmer C, Patey N, Matuchansky C, Jabri B, et al. Refractory sprue, coeliac disease, and enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Lancet* 2000; 356:203-208.
103. Cosnes J, Modigliani R, Rambaud JC, Matuchansky C, Galain A, Pariente A, et al. Maladie coeliaque de l'adulte. Relation entre l'étendue des lésions anatomiques et la sévérité de la maladie. *Gastroenterol Clin Biol* 1979; 3:521-530.
104. Gluckman E, Janin A. Réaction du greffon contre l'hôte. In: Kahn MF, Peltier AP, Meyer O, Piette JC, editors. *Maladies et syndromes systémiques*. Paris: Flammarion Médecine-Sciences, 2000:1309-1318.
105. Cerf M, Cerf-Bensussan N. Le syndrome d'atrophie villositaire. *Hepato-Gastro* 1994; 1:63-70.
106. Patey-Mariaud de Serre N, Verkarre V, Cellier C, Cerf-Bensussan N, Schmitz J, Brousse N. Diagnostic étiologique d'une atrophie villositaire. *Gastroenterol Clin Biol* 2000; 24:436-446.
107. Nakshabendi IM, Downie S, Russell RI, Rennie MJ. Increased rates of duodenal mucosal protein synthesis in patients with untreated coeliac disease. *Gut* 1996; 39:176-179.
108. Marsh MN, Crowe PT. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Bailliere's Clinical Gastroenterology* 1995; 9:273-293.
109. Di Lorenzo C. Pseudo-obstruction: current approaches. *Gastroenterology* 1999; 116:980-987.
110. King CE, Toskes PP. Small intestinal bacterial overgrowth. *Gastroenterology* 1979; 76:1035-1055.
111. Sigurdsson L, Reyes J, Kocoshis SA, Mazariegos G, Abu-Elmagd KM, Bueno J, et al. Intestinal transplantation in children with chronic intestinal transplantation. *Gut* 1999; 45:570-574.
112. Alpers DH, Kinzie JL. Regulation of small intestinal protein metabolism. *Gastroenterology* 1973; 64:471-496.
113. Nakshabendi IM, Obeidat W, Russell RI, Downie S, Smith K, Rennie MJ. Gut mucosal protein synthesis measured using intravenous and intragastric delivery of stable tracer amino acids. *Am J Physiol* 1995; 269:E996-999.

114. Rennie MJ. Protein and amino acid metabolism in the whole body and in the tissues. In: Payne-James J, Grimble G, Silk D, editors. *Artificial nutrition support in clinical practice*. London: Edward Arnold, 1995:13-41.
115. Matthews DE, Motil DK, Rohrbaugh DK, Burke JF, Young VR, Bier DM. Measurement of leucine metabolism in man from a primed, continuous infusion of L[1-¹³C]leucine. *Am J Physiol* 1980; 238:E473-479.
116. Thompson GN, Pacy PJ, Merritt H, Ford GC, Read MA, Cheng KN, et al. Rapid measurement of whole body and forearm protein turnover using a [2H5]phenylalanine model. *Am J Physiol* 1989; 256:E631-639.
117. Bier DM. Intrinsically difficult problems : the kinetics of body proteins and amino acids in man. *Diab Metab Rev* 1989; 5:111-132.
118. Tessari P, Tsalikian E, Schwenk WF, Nissen SL, Haymond MW. Effects of [15N]leucine at low rates on leucine metabolism in humans. *Am J Physiol* 1985; 249:E121-130.
119. Darmaun D, Just B, Messing B, Rongier M, Thuillier F, Koziat J, et al. Glutamine metabolism in healthy adult men: response to enteral and intravenous feeding. *Am J Clin Nutr* 1994; 59:1395-1402.
120. Just B, Darmaun D, Koziat J, Rongier M, Messing B. Use of a ventilated canopy for assessment of [¹³C]leucine oxydation in patients receiving total parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15:65-70.
121. Ward MWN, Owens CWI, Rennie MJ. Nitrogen estimation in biological samples by use of chemiluminescence. *Clin Chem* 1980; 26:1336-1339.
122. Stein WH, Moore S. The free amino acids in human blood plasma. *J Biol Chem* 1954; 211:915-926.
123. Van Eijk HMH, Dejong CH, Deutz NEP, Soeters PB. Influence of storage conditions on normal plasma amino-acid concentrations. *Clin Nutr* 1994; 13:374-380.
124. Felig P, Owen OE, Wahren J, Cahill GF. Amino acid metabolism during prolonged starvation. *J Clin Invest* 1969; 48:584-594.
125. Felig P, Wahren J, Brundin T. Splanchnic glucose and aminoacid metabolism in obesity. *J Clin Invest* 1974; 53:582-590.
126. Weber FI, Reiser BJ. Relationship of plasma amino acids to nitrogen balance and portal-systemic encephalopathy in alcoholic liver disease. *Dig Dis Sci* 1982; 27:103-109.
127. Klein S. The myth of serum albumin as a measure of nutritional status. *Gastroenterology* 1990; 99:1845-1851.
128. Ingenbleek Y, Young V. Transthyretin (prealbumin) in health and disease. Nutritional implications. *Annu Rev Nutr* 1994; 14:495-533.
129. Wahren J, Felig P, Hagenfeld L. Effect of protein ingestion on splanchnic and leg metabolism in normal man and in patients with diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1976; 57:987-999.
130. Brundin T, Wahren J. Influence of a mixed meal on splanchnic and interscapular energy expenditure in humans. *Am J Physiol* 1991; 260:E232-237.
131. Duée PH, Darcy-Vrillon B, Blachier F, Morel MT. Fuel selection in intestinal cells. *Proc Nutr Soc* 1995; 54:83-94.
132. Schwartz S, Farriol M, Garcia-Arumi E, Andreu AL, Lopez Hellin J, Arbos MA. Effect of medium chain triglycerides (MCT) on jejunal mass and protein synthesis. *Gut* 1994; 35:S39-41.

133. Dhanakoti SN, Brosnan JT, Herzberg GR, Brosnan ME. Renal arginine synthesis: studies in vitro and in vivo. *Am J Physiol* 1990; 259:E437-442.
134. McAnena OJ, Moore FA, Moore EE, Jones TN, Parsons P. Selective uptake of glutamine in the gastrointestinal tract: confirmation in a human study. *Br J Surg* 1991; 78:480-482.
135. Windmueller HG, Spaeth AE. Source and fate of circulating citrulline. *Am J Physiol* 1981; 241:E473-480.
136. Cortiella J, Matthews DE, Hoerr RA, Bier DM, Young VR. Leucine kinetics at graded intakes in young men: quantitative fate of dietary leucine. *Am J Clin Nutr* 1988; 48:998-1009.
137. Matthews DE, Marano MA, Campbell RG. Splanchnic bed utilization of leucine and phenylalanine in humans. *Am J Physiol* 1993; 264:E109-118.
138. Hoerr RA, Matthews DE, Bier DM, Young VR. Leucine kinetics from [²H₃]- and [¹³C]leucine infused simultaneously by gut and vein. *Am J Physiol* 1991; 260:E111-117.
139. Matthews DE, Marano MA, Campbell RG. Splanchnic bed utilization of glutamine and glutamic acid in humans. *Am J Physiol* 1993; 264:E848-854.
140. Krempf M, Hoerr RA, Marks L, Young VR. Phenylalanine in adult men: estimates with different tracers and routes of administration. *Metabolism* 1990; 39:560-562.
141. Castillo L, Chapman TE, Yu YM, Ajami A, Burke JF, Young VR. Dietary arginine uptake by the splanchnic region in adult humans. *Am J Physiol* 1993; 265:E532-539.
142. Déchelotte P, Darmaun D, Hecketsweiler B, Rongier M, Desjeux JF. Absorption and metabolic effects of enterally administered glutamine in humans. *Am J Physiol* 1991; 260:G677-682.
143. Hankard RG, Darmaun D, Sager BK, D'Amore D, Parsons WR, Haymond MW. Response of glutamine metabolism to exogenous glutamine in humans. *Am J Physiol* 1995; 269:E663-670.
144. Krempf M, Hoerr RA, Pelletier VA, Marks L, Gleason R, Young VR. An isotopic study of the effects of dietary carbohydrate on the metabolic fate of dietary leucine and phenylalanine. *Am J Clin Nutr* 1993; 57:161-169.
145. Biolo G, Tessari P, Inchiostro S, Bruttomesto D, Sabadin L, Fongher C, et al. Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion: a multiple tracer approach. *Am J Physiol* 1992; 262:E455-883.
146. Hoerr RA, Matthews DE, Bier DM, Young VR. Effects of protein restriction and acute refeeding on leucine and lysine kinetics in young men. *Am J Physiol* 1993; 264:E567-575.
147. Rabier D, Kamoun P. Metabolism of citrulline in man. *Amino acids* 1995; 9:299-316.
148. Girard J, Ferré P, Pégurier JP, Duée PH. Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal periods and suckling-weaning transition. *Phys Rev* 1992; 72:507-562.
149. Windmueller HG, Spaeth AE. Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine. *J Biol Chem* 1974; 249:5070-5079.
150. Abely M, Dallet P, Boisset M, Desjeux JF. Effect of cholera toxin on glutamine metabolism and transport in rabbit ileum. *Am J Physiol* 2000; 278:G789-796.
151. Bouteloup-Demange C, Boirie Y, Déchelotte P, Gachon P, Beaufrère B. Gut mucosal protein synthesis in fed and fasted humans. *Am J Physiol* 1998; 274:E541-546.
152. Van der Hulst RRWJ, Van Kreel BK, Von Meyenfeldt MF, Brummer RJM, Arends JW, Deutz NE, et al. Glutamine and the preservation of gut integrity. *Lancet* 1993; 341:1363-1365.

153. Windmueller HG. Glutamine utilization by the small intestine. *Adv Enzymol* 1982; 53:201-237.
154. Ollenschlaeger G, Langer K, Steffen HM, Schrappe-Bächer J, Schmitt H, Allolio B, et al. Intracellular free amino acid patterns in duodenal and colonic mucosa. *Clin Chem* 1990; 36:378-381.
155. Souba WW. Glutamine: a key substrate for the splanchnic bed. *Annu Rev Nutr* 1991; 1991:285-308.
156. Colomb V, Darcy-Vrillon B, Jobert A, Guihot G, Morel MT, Corriol O, et al. Parenteral nutrition modifies glucose and glutamine metabolism in rat isolated enterocytes. *Gastroenterology* 1997; 112:429-436.
157. Said HM, Van Voorhis FK, Ghishan FK, Abumrad N, Nylander R, Redha R. Transport characteristics of glutamine in human intestinal brush border membrane vesicles. *Am J Physiol* 1989; 256:G240-245.
158. Nath SK, Déchelotte P, Darmaun D, Gotteland M, Rongier M, Desjeux JF. [¹⁵N]- and [¹⁴C]glutamine fluxes across rabbit ileum in experimental bacterial diarrhea. *Am J Physiol* 1992; 262:G312-318.
159. Rhoads JM, Keku EO, Quinn J, Woosel J, Lecce JG. L-Glutamine stimulates jejunal sodium and chloride absorption in pig rotavirus enteritis. *Gastroenterology* 1991; 100:693-691.
160. Desjeux JF, Nath SK, Taminiou J. Organic substrate and electrolyte solutions for oral rehydration in diarrhea. *Annu Rev Nutr* 1994; 14:321-342.
161. Beaugerie L, Carbonnel F, Hecketsweiler B, Dechelotte P, Gendre JP, Cosnes J. Effects of an isotonic oral rehydration solution, enriched with glutamine, on fluid and sodium absorption in patients with a short-bowel. *Aliment Pharmacol Therap* 1997; 11:741-746.
162. O'Dwyer ST, Smith RJ, Hwang TL, Wilmore DW. Maintenance of small bowel with glutamine-enriched parenteral nutrition. *J Parenter Enteral Nutr* 1989; 13:579-585.
163. Yoshida S, Leskiw MJ, Schluter MD, Bush KT, Nagele RG, Lanza-Jocoby S, et al. Effect of total parenteral nutrition, systemic sepsis, and glutamine on gut mucosa in rats. *Am J Physiol* 1993; 293:E368-373.
164. Fox AD, Kripple SA, De Paula J, Berman JM, Settle RG, Rombeau JL. Effect of a glutamine-supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *J Parenter Enteral Nutr* 1988; 12:325-331.
165. Scheppach W, Loges C, Bartram P, Christl SU, Richter F, Dusel G, et al. Effect of free glutamine and alanyl-glutamine dipeptide on mucosal proliferation of the human ileum and colon. *Gastroenterology* 1994; 107:429-434.
166. Vanderhoof JA, Blackwood DJ, Mohammadpour H, Park JHY. Effects of oral supplementation of glutamine on small intestinal mucosal mass following resection. *J Am Coll Nutr* 1992; 11:223-227.
167. Tamada H, Nezu R, Matsuo Y, Imamura I, Takagi Y, Okada A. Alanyl glutamine-enriched total parenteral nutrition restores intestinal adaptation after either proximal or distal massive resection in rats. *J Parenter Enteral Nutr* 1993; 17:236-242.
168. Frankel WL, Zhang W, Afonso J, Klurfeld DM, Don SH, Laitin E, et al. Glutamine enhancement of structure and function in transplanted small intestine in the rat. *J Parenter Enteral Nutr* 1993; 17:47-55.
169. Calder PC. Glutamine and the immune system. *Clin Nutr* 1994; 13:2-8.
170. Burke DJ, Alverdy JC, Aoys E, Moss GS. Glutamine-supplemented total parenteral nutrition improves gut immune function. *Arch Surg* 1989; 124:1396-1399.

171. Houdijk APJ, van Leeuwen PAM, Teerlinck T, Flinkerbush EL, Boemeester MA, Sauerwein HP, et al. Glutamine-enriched enteral diet increases renal arginine production. *J Parenter Enteral Nutr* 1994; 18:426
172. Martensson J, Jain A, Meister A. Glutathione is required for intestinal function. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:1715-1719.
173. Kandil HM, Argenzio RA, Chen W, Berschneider HM, Stales AD, Westwick JK, et al. L-glutamine and l-asparagine stimulate ornithine decarboxylase activity and proliferation in a porcine jejunal enterocyte line. *Am J Physiol* 1995; 269:G591-599.
174. Ruemmelle F, Ruemmell C, Levy E, Seidman E. Les mécanismes moléculaires de la régulation du renouvellement des cellules épithéliales intestinales par de nutriments. *Gastroenterol Clin Biol* 1999; 23:47-55.
175. Häussinger D, Lang F, Gerok W. Cellular hydration state: an important determinant of protein catabolism in health and disease. *Lancet* 1993; 341:1330-1332.
176. Welbourne TC. Increased plasma bicarbonate and growth hormone after an oral glutamine load. *Am J Clin Nutr* 1995; 61:1058-1061.
177. Ashy AA, Ardawi MSM. Glucose, glutamine, and ketone body metabolism in human enterocytes. *Metabolism* 1988; 37:602-609.
178. Darmaun D, Messing B, Just B, Rongier M, Desjeux JF. Glutamine metabolism after small intestine resection in humans. *Metabolism* 1991; 40:42-44.
179. Hankard R, Goulet O, Ricour C, Rongier M, Colomb V, Darmaun D. Glutamine metabolism in children with short-bowel syndrome: a stable isotope study. *Pediatr Res* 1994; 36:202-206.
180. Darmaun D, Matthews DE, Bier DM. Glutamine and glutamate kinetics in humans. *Am J Physiol* 1986; 251:E117-126.
181. Darmaun D, Roig JC, Auestad N, Sager BK, Neu J. Glutamine metabolism in very low birthweight infants. *Pediatr Res* 1997; 41:391-396.
182. Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B, et al. Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. *Am J Physiol* 1997; 273:E408-415.
183. Hornsby-Lewis L, Shike M, Brown P, Klang M PD, Brennan MF. L-glutamine supplementation in home total parenteral nutrition patients : stability, safety, and effects on intestinal absorption. *J Parenter Enteral Nutr* 1994; 18:268-273.
184. Hankard RG, Haymond MW, Darmaun D. Effect of glutamine on leucine metabolism in humans. *Am J Physiol* 1996; 271:E748-754.
185. Souba WW, Roughneen PT, Goldwater DL, Williams JC, Rowlands BJ. Postoperative alterations in interorgan glutamine exchange in enterectomized dogs. *J Surg Res* 1987; 42:117-125.
186. Deutz NEP, Dejong CHC, Athanasas G, Soeters PB. Partial enterectomy in the rat does not diminish muscle glutamine production. *Metabolism* 1992; 41:1343-1350.
187. Wakabayashi Y. The glutamate crossway. In: Cynober LA, editor. *Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995:89-98.
188. Wakabayashi Y, Yamada E, Yoshida T, Takahashi H. Effect of intestinal resection and arginine-free diet on rat physiology. *Am J Physiol* 1995; 269:G313-318.
189. Berthold HK, Reeds PJ, Klein PD. Isotopic evidence for the differential regulation of arginine and proline synthesis in man. *Metabolism* 1995; 44:466-473.

190. Cynober L. Can arginine and ornithine support gut functions. *Gut* 1994; 35:S42-45.
191. Geggel HS, Ament ME, Heckenlively JR, Martin DA, Kopple JD. Nutritional requirement for taurine in patients receiving long-term parenteral nutrition. *N Engl J Med* 1985; 312:142-146.
192. Detsky AS, Mac Laughlin JR, Baker JP, Johnston N, Whittaker S, Mendelson RA, et al. What is subjective global assessment of nutritional status. *J Parenter Enteral Nutr* 1987; 11:8-13.
193. Baker JP, Detsky AS, Wesson DE, Wolman SL, Stewart S, Whitewel J, et al. Nutritional assessment: a comparison of clinical judgment and objective measurements. *N Engl J Med* 1982; 306:969-972.
194. Buzby GP, Mullen JL, Matthews DC. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery. *Am J Surg* 1980; 139:160-167.
195. Reilly EM, Martineau JK, Moran A, Kennedy H. Nutritional screening-Evaluation and implementation of a simple nutritional risk score. *Clin Nutr* 1995; 14:269-273.
196. Detsky AS, McLaughlin JR, Abrams HB, et al. A cost-utility analysis of the HPN program at Toronto General Hospital: 1970-1982. *J Parenter Enteral Nutr* 1986; 10:49-57.
197. Howard L, Heaphey I, Fleming CR, Linninger L, Steiger E. Four years of north American registry home parenteral nutrition outcome data and their implications for patients management. *J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15:384-393.
198. Cox DR, Snell EJ. *Analysis of binary data*. 2 ed. London: Chapman and Hall, 1989.
199. Verheul HA, Dekker E, Bossuyt P, Moulijn AC, Dunning AJ. Background mortality in clinical survival studies. *Lancet* 1993; 341:872-875.
200. Ingham Clark CL, Lear PA, Wood S, Lennard-Jones JE, Wood RFM. Potential candidates for small bowel transplantation. *Br J Surg* 1992; 79:676-679.
201. Melville S, McNurlan MA, McHardy KC, Broom J, Milne E, Calder AG, et al. The role of degradation in the acute control of protein balance in adult man: failure of feeding to stimulate protein synthesis as assessed by L-[1-13C]leucine infusion. *Metabolism* 1989; 38:248-255.
202. Fordtran JS, Rector FC, Locklear TW, Ewton MF. Water and solute movement in the small intestine of patients with sprue. *J Clin Invest* 1967; 46:287-291.
203. Bernier JJ, Adrian J, Vidon N. *Les aliments dans le tube digestif*. Paris: Doin, 1988.
204. Emonts P, Vidon N, Bernier JJ, Rambaud JC. Etude sur 24 heures des flux liquidiens intestinaux chez l'homme normal par la technique de la perfusion lente d'un marqueur non absorbable. *Gastroenterol Clin Biol* 1979; 3:139-146.
205. Macagno EO, Christensen J, Lee CL. Modelling the effect of wall movement on absorption in the intestine. *Am J Physiol* 1982; 243:G541-550.
206. Ducrotte P, Denis P, Bellagha K, Riachi G. Réponse motrice du tube digestif à l'alimentation. *Gastroenterol Clin Biol* 1994; 18:157-164.
207. Schindleck NE, Heinrich C, Muller-Lissner SA. Relation between fasting antroduodenal motility and transpyloric fluid movements. *Am J Physiol* 1986; 257:G198-201.
208. Di Lorenzo C, Booley CP, Valenzuela JE. Role of fasting GI motility in the variability of gastrointestinal transit time assessed by hydrogen breath test. *Gut* 1991; 32:1127-1130.
209. Dillard RL, Eastman H, Fordtran JS. Volume-flow relationship during the transport of fluid through the human small intestine. *Gastroenterology* 1965; 49:58-66.

210. Etienne A, Rigaud D, Accary JP, Mignon M. Comportement sécrétoire, moteur et hormonal de l'estomac pendant une alimentation élémentaire continue, instillée en site gastrique à différents débits chez le sujet normal. *Gastroenterol Clin Biol* 1982; 6:628-637.
211. Alpers DH. Protein synthesis in intestinal mucosa: the effect of the route of administration of precursor amino acids. *J Clin Invest* 1972; 51:167-173.
212. Caspary WF. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:299S-308S.
213. Bernier JJ, Adrian J, Vidon N. Anatomie fonctionnelle du tube digestif. In: Bernier JJ, Adrian J, Vidon N, editors. *Les aliments dans le tube digestif*. Paris: Doin, 1988:25-42.
214. Backman L, Hallberg D. Small intestinal length. An intraoperative study in obesity. *Acta Chir Scand* 1974; 140:57-63.
215. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-310.
216. Borgström B, Dahlqvist A, Lundh G, Sjövall J. Studies of intestinal digestion and absorption in humans. *J Clin Invest* 1957; 36:1521-1536.
217. Cummings JH, MacFarlane GT. Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. *Clin Nutr* 1997; 16:3-11.
218. Lin HC, Zhao XT, Wang L. Fat absorption is not complete by midgut but is dependent on load of fat. *Am J Physiol* 1996; 271:G62-67.
219. Southgate DAT, Durnin JVGA. Calorie conversion factors. An experimental reassessment of the factors used in the calculation of the energy value of human diet. *Br J Nutr* 1970; 24:517-535.
220. Triadou N, Bataille J, Schmitz J. Longitudinal study of the human intestinal brush border membrane proteins. Distribution of the main disaccharidases and peptidases. *Gastroenterology* 1983; 85:1326-1332.
221. Adibi SA. The oligopeptide transporter (Pept-1) in human intestine: biology and function. *Gastroenterology* 1997; 113:332-340.
222. Heyman M, Ducroc R, Desjeux JF, Morgat JL. Horseradish peroxidase transport across adult rabbit jejunum in vitro. *Am J Physiol* 1982; 242:G554-558.
223. Besnard P, Piot I, Bernard A, Carlier H. Cellular and molecular aspects of fat metabolism in the small intestine. *Proc Nutr Soc* 1996; 55:19-37.
224. Modigliani R, Bonnet J. Approche diagnostique actuelle d'un syndrome de malabsorption de l'adulte. In: Colombel JF, Dupas JL, editors. *Progrès en Hépatogastroentérologie: pathologie du grêle*. Paris: Doin, 1997:261-280.
225. Van de Kamer JH, Huijink H, Weyers HA. Rapid method for determination of fat in faeces. *J Biol Chem* 1949; 177:347-355.
226. Carbonnel F, Beaugerie L, Abou Rached A, D'Almagne H, Rozenbaum W, Le Quintrec Y, et al. Macronutrient intake and malabsorption in HIV infection: a comparison with other malabsorptive states. *Gut* 1997; 41:805-810.
227. Williamson RCN. Intestinal adaptation. Structural, functional and cytokinetic changes. *N Engl J Med* 1978; 298:1393-1402.

228. Dodson BD, Wang JL, Swietlicki EA, Rubin DC, Levin MS. Analysis of cloned cDNAs differentially expressed in adapting remnant small intestine after partial resection. *Am J Physiol* 1996; 271:G347-356.
229. Coppola CP, Goshe JR, Arrese M, Ancowitz B, Madsen J, Vanderhoof J, et al. Molecular analysis of the adaptive response of intestinal bile acid transport after ileal resection in the rat. *Gastroenterology* 1998; 115:1172-1178.
230. Morin CL, Grey VL, Garofalo C. Influence of lipids on intestinal adaptation after resection. In: Robinson JWL, Dowling RH, Riecken EO, editors. *Mechanisms of intestinal adaptation*. Lancaster: MTP Press Limited, 1982:175-185.
231. Guedon C, Schmitz J, Lerebours E, Metayer J, Audran E, Hemet J, et al. Decreased brush border hydrolase activities without gross morphologic changes in human intestinal mucosa after prolonged total parenteral nutrition of adults. *Gastroenterology* 1986; 90:373-378.
232. Rossi TM, Lee PC, Young C, Tjota A. Small intestinal mucosa changes including epithelial cell proliferative activity, of children receiving total parenteral nutrition. *Dig Dis Sci* 1993; 38:1608-1613.
233. Buchman AL, Moukarzel AA, Bhuta S, Belle M, Ament ME, Eckhert CD, et al. Parenteral nutrition is associated with intestinal morphologic and functional changes in humans. *J Parenter Enteral Nutr* 1995; 19:453-60.
234. Brunser O. Effects of malnutrition on intestinal structure and function in children. *Clin Gastroenterol* 1977; 6:341-353.
235. Lara TM, Jacobs DO. Effect of critical illness and nutritional support on mucosal mass and function. *Clin Nutr* 1998; 17:99-105.
236. Hodin RA, Graham JR, Meng S, Upton MP. Temporal pattern of rat small intestinal gene expression with refeeding. *Am J Physiol* 1994; 266:G83-89.
237. Levine GM, Dowling RH, Mc Naughton J, Peters TJ. Role of oral intake in maintenance of gut mass and disaccharidase activity. *Gastroenterology* 1974; 67:975-982.
238. Drucker DJ. Glucagon-like peptides. *Diabetes* 1998; 47:159-169.
239. Lehy T, Accary JP, Dubrasquet M, Lewin MJM. Growth hormone-releasing factor (somatocrinin) stimulates epithelial cell proliferation in the rat digestive tract. *Gastroenterology* 1986; 90:646-653.
240. Dumas F, De Bandt JP, Colomb V, Le Boucher J, Coudray-Lucas C, Lavie S, et al. Enteral ornithine alpha-ketoglutarate enhances intestinal adaptation to massive resection in rats. *Metabolism* 1998; 47:1366-1371.
241. Bardocz S, Duguid TJ, Brown DS, Grant G, Pusztai A, White A, et al. The importance of dietary polyamines in cell regeneration and growth. *Br J Nutr* 1995; 73:819-828.
242. Luk GD, Baylin SB. Inhibition of intestinal epithelial DNA synthesis and adaptive hyperplasia after jejunectomy in the rat by suppression of polyamine biosynthesis. *J Clin Invest* 1984; 74:698-704.
243. Erdman SH, Park JHY, Thompson JS, Granjean CJ, Hart MH, Vanderhoof JA. Suppression of diamine oxidase activity enhances postresection ileal proliferation in the rat. *Gastroenterology* 1989; 96:1533-1538.
244. Buts JP, De Keyser N, Kelanowski J, Sokal E, Van Hogl F. Maturation of villus and crypt cell functions in rat small intestine: role of dietary polyamines. *Dig Dis Sci* 1993; 38:1091-1098.

245. Czernichow B, Nsi-Emvo E, Galluser CR, et al. Enteral supplementation with ornithine α -ketoglutarate improves the early adaptative response to resection. *Gut* 1997; 40:67-72.
246. Williamson RCN. Intestinal adaptation. Mechanisms of control. *N Engl J Med* 1978; 298:1444-1450.
247. Porus RL. Epithelial hyperplasia following massive small bowel resection in man. *Gastroenterology* 1965; -753
248. Dowling RH, Booth CC. Functional compensation after small bowel resection in man. Demonstration by direct measurement. *Lancet* 1966; 146-147.
249. Schmitz J, Rey F, Ricour C, Rey J. Perfusion study of disaccharide absorption after extensive intestinal resection. In: Robinson JW, Dowling RH, Riecken EO, editors. *Mechanisms of intestinal adaptation*. Lancaster: MTP Press Limited, 1982:413-418.
250. Weinstein LD, Shoemaker CP, Hersh T, Wright HK. Enhanced intestinal absorption after small bowel resection in man. *Arch Surg* 1969; 99:560-562.
251. Gouttebel MC, Saint Aubert B, Astre C, Monnier LH, Joyeux H. Intestinal adaptation in patients with short bowel syndrome. Measurement by calcium absorption. *Dig Dis Sci* 1989; 34:709-715.
252. Koivisto P, Miettinen TA. Adaptation of cholesterol and bile acid metabolism and vitamine B12 absorption in the long-term follow-up after partial ileal bypass. *Gastroenterology* 1986; 90:984-990.
253. Shaw-Smith CJ, Walters JRF. Regional expression of intestinal genes for nutrient absorption. *Gut* 1997; 40:5-8.
254. Sanderson IR. Dietary regulation of genes expressed in the developing intestinal epithelium. *Am J Clin Nutr* 1998; 68:999-1005.
255. Cosnes J, Gendre JP, Lacaine F, et al. Rôles compensateurs de l'iléon et du côlon restants après résection étendue de l'intestin grêle. *Gastroenterol Clin Biol* 1982; 6:159-165.
256. Bernier JJ, Florent C, Desmazes C, et al. Diagnosis of protein-losing enteropathy by gastrointestinal clearance of alpha₁-antitrypsine. *Lancet* 1978; 763-764.
257. Alpers DH, Stenson WF, Bier DM. Protein and calories: requirements, intake and assessment. In: Alpers DH, Stenson WF, Bier DM, editors. *Manuel of nutritional therapeutics*. Boston: A little Brown spiral manuel, 1995:73-114.
258. Hylander E, Ladefoged K, Jarnum S. Nitrogen absorbtion following small-intestinal resection. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15:853-858.
259. Gutzwiller JP, Göke B, Drewe J, Hildebrand P, Ketterer S, Handschin D, et al. Glucagon-like peptide 1: a potent regulator of food in humans. *Gut* 1999; 44:81-86.
260. Stratton RJ, Elia M. The effects of enteral tube feeding and parenteral nutrition on appetite sensations and food intake in health and disease. *Clin Nutr* 1999; 18:63-70.
261. Le Boucher J, Charret J, Coudray-Lucas C, Giboudeau J, Cynober L. Amino acid determination in biological fluids by automated ion-exchange chromatography: performance of Hitachi L-8500A. *Clin Chem* 1997; 1421-1428.
262. Weaver LT, Austin S, Cole TJ. Small intestinal length: a factor essential for gut adaptation. *Gut* 1991; 32:1321-1323.
263. Fanucci A, Cerro P, Fraraci L, Ietto F. Small bowel length measured by radiography. *Gastrointest Radiol* 1984; 9:349-351.

264. Jacobs LR, Bloom SR, Harsoulis P. Intestinal adaptation in hypothermic hyperphagia. *Clin Sci* 1975; 48:14P-14P.
265. Kiba T, Tanaka K, Endo O, Inoue S. Ventromedial hypothalamic lesions increase gastrointestinal DNA synthesis through vagus nerve in rats. *Gastroenterology* 1993; 104:475-484.
266. Brunser O, Castillo C, Araya M. Fine structure of the small intestinal mucosa in infantile marasmic malnutrition. *Gastroenterology* 1976; 70:495-507.
267. Gleeson MH, Bloom SR, Polak JM, Henry K, Dowling RH. Endocrine tumour in kidney affecting small bowel structure, motility and absorptive function. *Gut* 1971; 12:773-782.
268. Wolvekamp MCJ, de Bruin RWF. Diamine oxidase: an overview of historical, biochemical and functional aspects. *Dig Dis* 1994; 12:2-14.
269. Thompson JS, Vaughan WP, Forst CF, Jacobs DL, Weekly JS, Ridders LF. The effect of the route of nutrient delivery on gut structure and diamine oxidase levels. *J Parenter Enteral Nutr* 1987; 11:28-32.
270. D'Agostino L, Daniele B, Pignata S, Barone MV, Ciacci C, Sollazzo R, et al. Postheparin plasma diamine oxidase increases in patients with coeliac disease during gluten free diet. *Gut* 1987; 28:131-134.
271. D'Agostino L, Ciacci C, Daniele B, Vittoria Barone M, Sollazzo R, Mazzacca G. Postheparin plasma diamine oxidase in subjects with small bowel atrophy. *Dig Dis Sci* 1987; 32:313-317.
272. Rokkas T, Vaja S, Murphy GM, Dowling RH. Postheparin plasma diamine oxidase in health and disease. *Gastroenterology* 1990; 98:1493-1501.
273. Thompson JS, Burnett DA, Vaugham WP. Factors affecting plasma postheparin diamine oxydase activity. *Dig Dis Sci* 1991; 11:1582-1588.
274. Black DD. Intestinal lipoprotein metabolism. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 20:125-147.
275. Saviana B, Quillot D, Ziegler O, Bigard MA, Drouin P, Gueant JL. Diagnosis of lipid malabsorption in patients with chronic pancreatitis: a new indirect test using postprandial plasma apolipoprotein B-48. *Am J Gastroenterol* 1999; 94:3229-3235.
276. Badimon JJ, Fleming CR, Patton J, Mao SJT. Changes of plasma levels of apolipoproteins A-I, A-II and B and their isoforms in patients with intestinal failure receiving long-term parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:414-422.
277. Goldberg RB, Weinberg RB, Landau RL. Changes in plasma lipoproteins A-I, A-II, and B, and lipoprotein cholesterol after jejunioileal bypass. *Gastroenterology* 1983; 84:732-736.
278. Elshourbagy NA, Walker DW, Palk YK, Boguski M, Freeman M, Gordon JJ, et al. Structure and expression of the human apolipoprotein A-IV gene. *J Biol Chem* 1987; 262:7973-7981.
279. Sherman JR, Weinberg RB. Serum apolipoprotein A-IV and lipoprotein cholesterol in patients undergoing parenteral nutrition. *Gastroenterology* 1988; 95:394-401.
280. Poullain MG, Vacher D, Cezard JP, Girard-Globa A. Serum lipids and apolipoproteins in the rat refed after stravation : influence of the molecular form of nitrogen (protein, peptides or free amino-acids). *Metabolism* 1989; 38:740-744.
281. Lembcke B, Geibel K, Kirchoff S, Lankisch PG. Serum beta-carotene: a simple static laboratory parameter for the diagnosis of steatorrhea. *Dtsch Med Wochenschr* 1989; 114:243-247.
282. Kanda T, Fuji H, Tani T, et al. Intestinal fatty acid-binding protein is a useful diagnostic marker for mesenteric infarction in humans. *Gastroenterology* 1996; 110:339-343.

283. Xia Q, Boushey RP, Drucker DJ, Brubaker PL. Secretion of the intestinotropic hormone glucagon-like peptide 2 is differentially regulated by nutrients in humans. *Gastroenterology* 1999; 117:99-105.
284. Gibson JA, Park NJ, Sladen GE, Dawson AM. The role of the colon in urea metabolism in man. *Clin Sci Mol Med* 1976; 50:51-59.
285. Sennequier N, Vadon-Le Goff S. Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO): mécanisme, régulation et contrôle. *Med Sci* 1998; 14:1185-1195.
286. Castillo L, DeRojas TC, Chapman TE, Vogt J, Burke JF, Tannenbaum SR, et al. Splanchnic metabolism of dietary arginine in relation to nitric oxide synthesis in normal adult man. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90:193-197.
287. Blachier F, Darcy-Vrillon B, Sener A, Duée PH, Malaisse WJ. Arginine metabolism in rat enterocytes. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1092:304-310.
288. Tepperman BL, Brown JF, Whittle BJR. Nitric oxide synthase induction and intestinal epithelial cell viability in rats. *Am J Physiol* 1993; 265:G214-218.
289. Mourad FH, Turvill JL, Farthing MJG. Role of nitric oxide in intestinal water and electrolyte transport. *Gut* 1999; 44:143-147.
290. Kubes P. Inductible nitric oxide synthase: a little bit of good in all of us. *Gut* 2000; 47:6-9.
291. Hecker M, Sessa WC, Harris HJ, Anggard EE, Vane JR. The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis of endothelium derived relaxing factors : cultured endothelial cells recycle L-citrulline to L-arginine. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:8612-8616.
292. Nussler AK, Billiar TR, Liu ZZ, Morris Sm. Coinduction of nitric oxide synthase and arginosuccinate synthetase in a murine macrophage cell line. Implications for regulation of nitric oxide production. *J Biol Chem* 1994; 269:1257-1261.
293. Morris Sm, Billiar TR. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 1994; 266:E829-839.
294. Castillo L, Chapman TE, Sanchez M, Yu YM, Burke JF, Ajami AM, et al. Plasma arginine and citrulline kinetics in adults given adequate and arginine-free diets. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90:7749-7753.
295. Castillo L, Sanchez M, Vogt J, DeRojas-Walker TC, Tannenbaum SR, Ajami AM, et al. Plasma arginine, citrulline, and ornithine kinetics in adults, with observations on nitric oxide synthesis. *Am J Physiol* 1995; 268:E360-367.
296. Kamoun P, Rabier D, Bardet J, Pavy P. Citrulline concentrations in human plasma after arginine load. *Clin Chem* 1991; 37:1287-1287.
297. Castillo L, Sanchez M, Chapman TE, Ajami A, Burke JF, Young VR. The plasma flux and oxidation rate of ornithine adaptively decline with restricted arginine intake. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:6393-6397.
298. Cynober L, Coudray-Lucas C, De Bandt JP, et al. Action of ornithine alpha-ketoglutarate, ornithine hydrochloride and calcium alpha-ketoglutarate on plasma amino acid and hormonal pattern in healthy subjects. *J Am Coll Nutr* 1990; 9:2-12.
299. Wu G, Knabe DA, Flynn NE. Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes. *Biochem J* 1994; 299:115-121.
300. Guihot G, Blachier F, Colomb V, et al. Effect of an elemental vs. a complex diet on L-citrulline production from L-arginine in rat isolated enterocytes. *J Parenter Enteral Nutr* 1997; 21:316-323.

301. Wu G. Synthesis of citrulline and arginine from proline in enterocytes of postnatal pigs. *Am J Physiol* 1997; 272:G1382-1390.
302. Souba WW, Smith RJ, Wilmore DW. Glutamine metabolism by the intestinal tract. *J Parenter Enteral Nutr* 1985; 9:608-617.
303. Nagy LE, Pittler A, Kretchmer N. Development of glutaminase along the villous-crypt axis in the jejunum of rat. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7:907-913.
304. Aral B, Schlenzig JS, Liu G, Kamoun P. Database cloning human delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase (P5CS) cDNA: a bifunctional enzyme catalyzing the first 2 steps in proline biosynthesis. *CR Acad Sci Paris* 1996; 319:171-178.
305. Wakabayashi Y, Iwashima A, Yamada E, Yamada R. Enzymological evidence for the indispensability of small intestine in the synthesis of arginine from glutamate. II N-acetylglutamate synthase. *Arch Biochem Biophys* 1991; 291:9-14.
306. Flynn NE, Wu G. An important role for endogenous synthesis of arginine in maintaining arginine homeostasis in neonatal pigs. *Am J Physiol* 1996; 271:R1146-1155.
307. Wakabayashi Y, Yamada E, Hasegawa T, Yamada R. Enzymological evidence for the indispensability of small intestine in the synthesis of arginine from glutamate: I Pyrroline-5-carboxylate synthase. *Arch Biochem Biophys* 1991; 291:1-8.
308. Matsuzawa T, Kobayashi T, Tashiro K, Kasahara M. Changes in ornithine metabolic enzymes induced by dietary protein in small intestine and liver: intestine-liver relationship in ornithine supply to liver. *J Biochem* 1994; 116:721-727.
309. Klimberg VS, Souba WW, Salloum RM, Holley DT, Hautamaki RD, Dolson DJ, et al. Intestinal glutamine metabolism after massive small bowel resection. *Am J Surg* 1990; 159:27-33.
310. Hurwitz R, Kretchner N. Development of arginine synthesising enzymes in mouse intestine. *Am J Physiol* 1986; 251:G103-110.
311. Blachier F, M'Rabet-Touil H, Posho L, Darcy-Vrillon B, Duée PH. Intestinal arginine metabolism during development. Evidence for de novo synthesis of L-arginine in newborn pig enterocytes. *Eur J Biochem* 1993; 216:109-117.
312. Wu G, Knabe DA, Yan W, Barstow DG. Glutamine metabolism in chick enterocytes: absence of pyrroline-5-carboxylate synthase and citrulline synthesis. *Biochem J* 1995; 306:717-721.
313. Yu YM, Ryan CM, Burke JF, Tompkins RG, Young VR. Relations among arginine, citrulline, ornithine and leucine kinetics in adult burn patients. *Am J Clin Nutr* 1995; 62:960-968.
314. Wu G, Knabe DA, Flynn NE, Yan W, Flynn SP. Arginine degradation in developing porcine enterocytes. *Am J Physiol* 1996; 272:G1382-1390.
315. Rogers QR, Phang JM. Deficiency of pyrroline-5-carboxylate synthase in the intestinal mucosa of the rat. *J Nutr* 1985; 115:146-150.
316. Morris JG, Rogers QR. Ammonia intoxication in the near-adult cat as a result of a dietary deficiency of arginine. *Science* 1978; 199:431-432.
317. Levillain O, Parvy P, Hassler C. Amino acid handling in uremic rats: citrulline, a reliable marker of renal insufficiency and proximal tubular dysfunction. *Metabolism* 1997; 46:611-618.
318. Hoogenraad N, Totino N, Elmer H, Wraight C, Alewood P, Johns RB. Inhibition of intestinal citrulline synthesis causes severe growth retardation in rats. *Am J Physiol* 1985; 249:G792-799.

319. Laidlaw SA, Kopple JD. Newer concepts of the indispensable amino acids. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:593-605.
320. Carey GP, Kime Z, Rogers QR, Morris JG, Hargrove D, Buffington CA, et al. An arginine-deficient diet in humans does not evoke hyperammonemia or orotic aciduria. *J Nutr* 1987; 117:1734-1739.
321. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 2000; 101:273-281.
322. Collin-Vidal C, Cayol M, Obled C, Ziegler F, Bommelaer G, Beaufriere B. Leucine kinetics are different during feeding with whole protein or oligopeptides. *Am J Physiol* 1994; 267:E907-914.
323. Gil KM, Gump FE, Starker PM, Askanazi J, Elwyn DH, Kinney JM. Splanchnic substrate balance in malnourished patients during parenteral nutrition. *Am J Physiol* 1985; 248:E409-419.
324. Ceballos I, Chauveau P, Guerin V, Bardet J, Parvy P, Kamoun P. Early alterations of plasma amino acids in chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 1990; 188:101-108.
325. Lau T, Owen W, Yu YM, Noviski N, Lyons J, Zurakowski D, et al. Arginine, citrulline, and nitric oxide metabolism in end-stage renal disease patients. *J Clin Invest* 2000; 105:1217-1225.
326. Felig DM, Brusilow SW, Boyer JL. Hyperammonemic coma due to parenteral nutrition in a woman with heterozygous ornithine transcarbamylase deficiency. *Gastroenterology* 1995; 109:282-284.
327. Kamoun P, Aral B, Saudubray JM. A new inherited metabolic disease: delta1-pyrroline 5-carboxylate synthetase deficiency. *Bull Acad Natl Med* 1998; 182:131-139.
328. Largillière C, Houssin D, Gottrand F, Mathey C, Checoury A, Alagille D, et al. Liver transplantation for ornithine transcarbamylase deficiency in a girl. *J Pediatr* 1989; 115:415-417.
329. Tuchman M. Persistent acitrullinemia after liver transplantation for carbamoylphosphate synthetase deficiency. *N Engl J Med* 1989; 320:1488-1489.
330. Parfait B, de Lonlay P, von Kleist-Retzow JC, Cormier-Daire V, Chretien D, Rotig A, et al. The neurogenic weakness, ataxia and retinitis pigmentosa (NARP) syndrome mtDNA mutation (T8993G) triggers muscle ATPase deficiency and hypocitrullinaemia. *Eur J Pediatr* 1999; 158:55-58.
331. Jeevanandan M, Young DH, Ramias L, Schiller WR. Effect of major trauma on plasma free amino acid concentrations in geriatric patients. *Am J Clin Nutr* 1990; 51:1040-1045.
332. Hollt LE, Snyderman SE, Norton PM, Roitman E, Finch J. The plasma aminogram in kwashiorkor. *Lancet* 1963; 1343-1348.
333. Wakabayashi Y, Yamada E, Yoshida T, Takahashi H. Arginine becomes an essential amino acid after massive resection of rat small intestine. *J Biol Chem* 1994; 269:32667-32671.
334. Dejong CH, Welters CF, Deutz NE, Heineman E, Soeters PB. Renal arginine metabolism in fasted rats with subacute short bowel syndrome. *Clin Sci* 1998; 95:409-418.
335. Chen K, Nezu X, Sando K, Manzurul Haque SM, Iiboshi Y, Masurani A, et al. Influence of glutamine-supplemented parenteral nutrition on intestinal amino acid metabolism in rats after small bowel resection. *Surg Today* 1996; 26:618-623.
336. Wasa M, Takagi Y, Sando K, Harada T, Okada A. Long-term outcome of short bowel syndrome in adult and pediatric patients. *J Parenter Enteral Nutr* 1999; S110-S112

337. Messing B, Lima Dutra S, Thuillier F, Darmaun D, Desjeux JF. Whole-body protein metabolism assessed by leucine and glutamine kinetics in adult patients with active celiac disease. *Metabolism* 1998; 47:1429-1433.
338. Cellier C, Patey N, Mauvieux L, et al. Abnormal intestinal intraepithelial lymphocytes in refractory sprue. *Gastroenterology* 1998; 114:471-481.
339. Carbonnel F, Grollet-Bioul L, Brouet JC, Teilhac MF, Cosnes J, Angonin R, et al. Are complicated forms of celiac disease cryptic T-cell lymphomas? *Blood* 1998; 92:3879-3886.
340. Nishino I, Spinazzola A, Hirano M. Thymidine phosphorylase gene mutations in MNGIE, a human mitochondrial disorder. *Science* 1999; 283:689-692.
341. Steiner M, Bourghes HR, Freedman LS, Gray SJ. Effet of starvation on the tissue composition of the small intestine in the rat. *Am J Physiol* 1968; 215:75-77.
342. Messing B, Crenn P, Vahedi K. Insuffisance intestinale: physiopathologie et traitement. In: Rambaud JC, editor. *Traité de Gastroentérologie*. Paris: Flammarion-Médecine-Sciences, 2000:503-511.
343. Vahedi K, Gomez-Joly F, Samuel D, Azoulay D, Savier E, Panis Y, et al. Transplantation combinée foie-intestin grêle chez l'adulte. *Press Med* 1999; 28:2214-2220.
344. Stein J, Schoonbroodt D, Juno M, Lembcke B, Caspary WF. Mesure de l'elastase 1 fécale par immunoréactivité : une nouvelle approche indirecte de la fonction pancréatique. *Gastroenterol Clin Biol* 1996; 20:424-429.
345. Copeland KC, Kenney FA, Nair KS. Heated dorsal hand vein sampling for metabolic studies: a reappraisal. *Am J Physiol* 1992; 263:E1010-1014.
346. Yamada E, Wakabayashi Y, Saito A, Yoda K, Miyazaki M. Hyperammonaemia caused by essential aminoacid supplements in patient with short bowel. *Lancet* 1993; 341:1542-1543.
347. Yokoyama K, Ogura Y, Kawabata M, Hinoshita F, Suzuki Y, Hara S, et al. Hyperammonemia in a patient with short bowel syndrome and chronic renal failure. *Nephron* 1996; 72:693-695.
348. Darmaun D. Que reste-t-il du concept d'acides aminés essentiels? *Nutr Clin Métabol* 1998; 12:129-136.
349. Young VR. 1987 McCollun Award Lecture. Kinetics of human amino acids metabolism: nutritional implications and some lessons. *Am J Clin Nutr* 1987; 46:709-725.

Résumé : Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique chez l'homme. La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

L'insuffisance intestinale chronique résulte le plus souvent d'une malabsorption nécessitant une nutrition parentérale pour maintenir l'équilibre nutritionnel. Sa cause habituelle est le syndrome de grêle court (SGC). Dans ce dernier (n=124) nous avons déterminé par analyse actuarielle multidimensionnelle les facteurs de dépendance à la nutrition parentérale et de survie. Nous avons ainsi discriminé l'insuffisance intestinale transitoire et permanente par les césures de longueur de grêle selon le type anatomique et de période adaptative post-résection (2 ans). Notre objectif a ensuite été de déterminer, dans l'insuffisance intestinale, un marqueur biologique de la masse entérocytaire absorptive. Après avoir optimisé chez l'homme sain l'administration digestive des traceurs isotopiques du métabolisme protéique (leucine, glutamine) en démontrant que seule la perfusion duodénale, par rapport à la perfusion gastrique, permettait d'obtenir des résultats reproductibles pour l'état stationnaire et l'extraction splanchnique, nous avons fait l'hypothèse que la citrullinémie, acide aminé non protéique produit du métabolisme entérocytaire de la glutamine, pouvait être un marqueur candidat. En préalable, dans le SGC, nous avons validé une méthode radiologique pour évaluer anatomiquement la masse intestinale et modélisé la masse intestinale fonctionnelle grâce aux bilans d'absorption. Nous avons montré que l'hyperphagie était l'un des facteurs majeurs qui caractérisait ces patients (présente chez 82%) et qu'elle participait à l'expression de l'adaptation intestinale. Nous avons alors, dans le SGC (n=57), pu démontrer que la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire du fait : a) de son abaissement par rapport aux contrôles, b) de sa corrélation positive ($r=0.83$, $P<0.0001$) avec la longueur de grêle, c) de sa liaison avec les coefficients d'absorption, d) de son pouvoir discriminant pour le type et la sévérité de l'insuffisance intestinale. Nous avons confirmé notre hypothèse en montrant dans un 2^{ème} type d'insuffisance intestinale potentielle, le syndrome d'atrophie villositaire (n=52 dont 42 maladies coeliaques), que la citrullinémie indiquait l'intensité et l'étendue des lésions sur l'intestin grêle. Par contre dans la pseudo-obstruction intestinale chronique (n=6), la citrullinémie est (sauf en cas de lésions histologiques intestinales) subnormale. Nous avons vérifié que la dénutrition pure (marasme par anorexie mentale restrictive, n=57) n'influçait pas la citrullinémie. L'évolution et la normalisation de la citrullinémie après transplantation intestinale pour insuffisance intestinale permanente nous a confirmé que, *in vivo* chez l'homme, la citrullinémie est bien d'origine grêlique. Ainsi la citrullinémie veineuse post-absorptive peut être utilisée comme marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

Discipline : Physiologie et Physiopathologie de la Nutrition Humaine.

Laboratoire: Unité INSERM 290-Hépatogastroentérologie et Assistance nutritive. Hôpital Lariboisière-St Lazare. 75010 Paris.

Mots-clés : citrulline, insuffisance intestinale, nutrition parentérale, syndrome de grêle court, atrophie villositaire, absorption intestinale, transit baryté du grêle, traceurs isotopiques, transplantation intestinale.

Modélisation clinique et biochimique de l'insuffisance intestinale chronique chez l'homme. La concentration plasmatique veineuse post-absorptive de citrulline, marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

L'insuffisance intestinale chronique résulte le plus souvent d'une malabsorption nécessitant une nutrition parentérale pour maintenir l'équilibre nutritionnel. Sa cause habituelle est le syndrome de grêle court. Dans ce dernier nous avons déterminé par analyse actuarielle les facteurs de dépendance à la nutrition parentérale et de survie. Notre objectif a ensuite été de déterminer un marqueur biologique de la masse entérocytaire absorptive. Après avoir optimisé chez l'homme sain l'administration digestive des traceurs isotopiques du métabolisme protéique en démontrant que seule la perfusion duodénale, par rapport à gastrique, permettait d'obtenir des résultats reproductibles pour l'état stationnaire et l'extraction splanchnique, nous avons fait l'hypothèse que la citrulline, acide aminé non protéique produit du métabolisme entérocytaire, pouvait être un bon candidat. Nous avons, dans le syndrome de grêle court, pu montrer que la citrullinémie est un marqueur de la masse entérocytaire du fait : de son abaissement par rapport aux contrôles, de sa corrélation positive ($r=0.83$, $P<0.0001$) avec la longueur de grêle, de sa liaison avec les coefficients d'absorption et de son pouvoir discriminant pour le type et la sévérité de l'insuffisance intestinale. Nous avons confirmé notre hypothèse en montrant dans un 2^{ème} type d'insuffisance intestinale, le syndrome d'atrophie villositaire ($n=52$ dont 42 maladies cœliaques), que la citrullinémie indiquait l'intensité et l'étendue des lésions sur le grêle. Par contre dans la pseudoobstruction intestinale chronique, la citrullinémie est (sauf en cas de lésions histologiques intestinales) normale. Nous avons vérifié que la dénutrition (anorexie mentale) n'influence pas la citrullinémie. La normalisation de la citrullinémie après transplantation intestinale nous a confirmé que la citrullinémie est d'origine grêlique. Ainsi la citrullinémie veineuse post-absorptive peut être utilisée comme marqueur de la masse entérocytaire absorptive.

Mots-clés : citrulline, insuffisance intestinale, nutrition parentérale, syndrome de grêle court, atrophie villositaire, absorption intestinale, transit baryté du grêle, traceurs isotopiques, transplantation intestinale.

Clinical and biochemical modelization of chronic intestinal failure in humans. Plasma post-absorptive venous citrulline concentration as a marker of absorptive enterocyte mass.

Chronic intestinal failure is in most cases due to malabsorption syndrome needing parenteral nutrition. Its main cause is short bowel syndrome. In short bowel syndrome (n=124) we have determined by multivariate analysis parenteral nutrition dependence and survival factors. Our aim was then to determine in intestinal failure a biological marker of enterocyte mass. After optimisation of the digestive administration of protein metabolism isotopic tracers (leucine and glutamine), in healthy subjects, with the demonstration that only duodenal infusion allow a steady state, we hypothesised that citrullinemia, a non protein amino acid produced by enterocytes, could be an enterocyte mass marker. In short bowel syndrome (n=57) we showed that citrullinemia is an enterocyte mass marker because: a) it is significantly lower than in controls, b) its high positive correlation with remnant small bowel length ($r=0.83$, $P<0.0001$), c) its correlation with net digestive utilisation of nutrients, d) its powerful discrimination between transient and permanent intestinal failure. We confirmed our hypothesis in a second model of intestinal failure, villous atrophy (n=52 including 42 celiac disease). In chronic intestinal pseudoobstruction (n=6) citrullinemia is not lowered if there is no villous atrophy. In isolated malnutrition (anorexia nervosa, n=57) citrullinemia is in the normal range. After intestinal transplantation for permanent intestinal failure, citrullinemia normalised confirming that, in human, its originate from small bowel. So plasma post-absorptive venous citrulline concentration can be used as a marker of absorptive enterocyte mass.