

# Glutamine metabolism : effects of disease and glutamine supplementation

Citation for published version (APA):

Hulsewé, K. W. E. (2007). *Glutamine metabolism : effects of disease and glutamine supplementation*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20070608kh>

## Document status and date:

Published: 01/01/2007

## DOI:

[10.26481/dis.20070608kh](https://doi.org/10.26481/dis.20070608kh)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.



**Summary of the thesis**

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the altered amino acid metabolism after (surgical) trauma or in critical illness glutamine plays a central role. Not only is glutamine at the crossroads of diverse metabolic pathways but under stressed conditions it is quantitatively the most important nitrogen containing molecule released by muscle tissue. Furthermore, a large decrease in plasma and muscle glutamine concentrations, correlating with the degree of catabolism, suggests that endogenous glutamine may become deficient under certain conditions, such as during severe stress, or in the presence of diminished muscle cell mass. Indeed, glutamine supplementation in various circumstances has resulted in metabolic but also clinically significant effects. These results, however, were not always concordant leading to discussion about its usefulness in clinical practice. A major problem is that in contrast to pharmaceuticals, glutamine is produced and consumed endogenously. Exogenous glutamine may affect its endogenous metabolism. Finally the route and form in which glutamine is administered differ in various studies compromising comparability.

This thesis consists of three major sections. After a brief introduction and explanation of the underlying hypotheses of this thesis, the first part describes the effects of depletion, (surgical) trauma and critical illness on glutamine metabolism in a pig model and in patients. In part 2 we describe the results of 3 studies investigating the effects of glutamine supplementation on endogenous glutamine metabolism and on gut mucosal metabolism, function and structure. In the last section a review of the literature including the results of the studies described in the first 2 parts is presented. After a summary of biochemical aspects of glutamine and methodologies used to study interorgan metabolism (including stable isotopes and AV balance techniques), (inter)organ metabolism in healthy and metabolically stressed organisms is reviewed followed by the effects of glutamine supplementation on endogenous glutamine metabolism.

In **chapter 1** the background leading to the studies presented in this thesis is summarized. Then, after a brief review of the chemical and physiological properties of glutamine, the methodologies concerning techniques used in the studies presented in this thesis are explained.

In Chapters 2-6 we investigated effects of several types of stress on glutamine metabolism. In **chapter 2** the results are reported of a study employing stable isotopes to determine glutamine flux in plasma in surgical patients. Despite confirmation of decreased glutamine levels in plasma and muscle tissue, as had been observed earlier, no change in glutamine Ra was demonstrated. This might have been due to differences in protein turnover, changes in glutamine production by other organs, or possibly due to an erroneous outcome as a consequence of a methodological problem as discussed in the first part of the discussion. In **chapter 3** interorgan metabolism after surgical stress is described in more detail in a porcine model using both arteriovenous balance and isotopic techniques. On the 2<sup>nd</sup> day after laparotomy, a large efflux of glutamine was observed which could at least partly be explained by increased protein breakdown rates. Uptake of glutamine by the PDV decreased after surgery, which was associated with a decrease in glutamine disappearance

---

rates and an increased dependency on glutamine *de novo* synthesis. The liver switched from net glutamine production to significant glutamine uptake. The hepatic glutamine oxidation rates increased and relative glutamine synthesis rates decreased. Finally, the kidney appeared not to play a significant role in glutamine interorgan metabolism in the postoperative pig model. In **chapter 4** the effects of surgery on gut mucosal glutathione metabolism are described in more detail. Effects of glutamine on mucosal glutathione metabolism may be one of the possible mechanisms through which glutamine sorts its effects. Compared to control values we found significant decreases in gut mucosal glutamine concentrations, but no significant changes in mucosal glutathione concentrations. Absolute glutathione synthesis rates, however, decreased with 38%. Although significant correlations between glutathione concentrations and glutamine and glutamate concentrations were found, these were not specific since several other amino acids showed similar correlations. In steady state conditions these imply that loss of reduced glutathione either by oxidation or export out of the cell is decreased in the postoperative period. Whether this might have detrimental effects remains to be determined. In **chapter 5** the role of the lungs in glutamine metabolism in septic patients was studied. Using arteriovenous sampling across the lungs the results in septic patients were compared with data obtained from patients before undergoing coronary bypass surgery. We found that during sepsis a considerable amount of glutamine is furnished by the lungs in contrast to the control population. It was estimated that at least half of this glutamine results from protein breakdown. Severity of illness had no impact on glutamine fluxes in contrast to the presence of pulmonary infiltrates on chest X-rays: in the presence of pulmonary inflammation, glutamine efflux does not differ from zero. This may indicate local glutamine consumption, possibly by activated immune cells. In **chapter 6** the effects of nutritional depletion versus inflammatory stress on glutamine metabolism are examined. In this study we determined the relation of (anthropometric) measures of depletion and blood parameters indicating inflammatory activity with glutamine concentrations in plasma and duodenal mucosa. Furthermore relations with mucosal morphology and intestinal permeability were also studied. Inflammation but not depletion significantly affected plasma and tissue glutamine concentrations and also gut barrier function. On the other hand, depletion but not inflammation was associated with diminished villus height.

In the next section we describe the results of 4 studies focusing on the effects of exogenous glutamine supplementation. In **chapter 7** we describe the functional results of a prospective randomised study of glutamine supplemented total parenteral nutrition in a nutritionally depleted patient population. Despite previous clues that depletion is a risk factor for glutamine depletion, no significant changes in glutamine concentrations were observed. Moreover, no effects on intestinal permeability, mucosal morphology or gut mucosal inflammation were found. Analysis of differences between patient populations in this study and a previously published report by our group, suggested that possibly not depletion but rather systemic inflammation may have an important effect on glutamine metabolism. This is confirmed by findings presented in **chapter 6**. In **chapter 8** the effects of glutamine enriched parenteral nutrition on whole body glutamine fluxes in patients are reported. The most important finding was that glutamine endogenous rate of appearance

is not diminished thereby increasing glutamine availability for consumption. In **chapter 9**, this is studied in more detail in pigs. Pigs received TPN either with or without glutamine in the absence of a catabolic insult. Infusion of TPN increased whole body protein turnover and had anabolic effects on muscle and intestinal tissue. Addition of glutamine to TPN results in enhanced protein deposition in the muscle. Protein synthesis in the gut decreased, but the relative decrease in proteolysis was somewhat larger. Despite increased arterial plasma glutamine concentrations, glutamine enriched TPN did not change muscle glutamine release. Furthermore, it did not increase but rather decreased gut glutamine consumption and mucosal glutamine concentrations in the presence of a lower (although statistically not significant) extraction rate. This was accompanied by an increased *de novo* glutamine synthesis in the PDV. The supplemented glutamine was not metabolized by the gut, but rather processed by the liver.

In **chapter 10** the findings presented in the preceding chapters are discussed in a broader context using data available in the literature. First, glutamine metabolism and methodological issues concerning measurements of (inter)organ metabolism are discussed. Subsequently data regarding glutamine metabolism in healthy and metabolically stressed organisms are reviewed. Finally the effects of glutamine supplementation on endogenous glutamine metabolism are discussed.



## **Samenvatting en conclusies**

## SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Glutamine speelt een centrale rol in het veranderde aminozuur metabolisme na (chirurgisch) trauma of bij de ernstig zieke patiënt. Glutamine speelt een centrale rol in verscheidene metabole processen maar tevens is glutamine de belangrijkste "stikstofdrager" voor transport van stikstof vanuit het spierweefsel naar andere organen tijdens metabole stress. Omdat er een relatie bestaat tussen katabolie en (daling van) plasma en spier glutamine concentraties, werd de hypothese geformuleerd dat endogene glutamine productie insufficiënt kan worden onder bepaalde condities zoals gedurende ernstige (en langdurige) ziekte of indien er sprake is van een geringe spiermassa. Uit verschillende studies blijkt inderdaad dat glutamine toediening metabole maar ook klinische effecten heeft. Echter, niet alle studies hebben dezelfde resultaten zodat er nog geen volledige overeenstemming bestaat over het nut van toepassing in de praktijk. Een van de problemen is dat in tegenstelling tot farmaceutische middelen, glutamine ook endogeen geproduceerd wordt. Exogeen toegediend glutamine zou de endogene productie kunnen beïnvloeden. Daarnaast blijkt de wijze en vorm van toediening duidelijk te verschillen tussen de verschillende studies waardoor de uitkomsten moeilijk te vergelijken zijn.

Dit proefschrift is onderverdeeld in drie delen. Na de introductie waarbij ook de hypothese die ten grondslag ligt aan dit proefschrift wordt toegelicht, worden in het eerste deel de resultaten besproken van een aantal studies (dierexperimentele en klinische studies) naar de effecten van depletie, (chirurgisch) trauma en ernstige ziekte op glutamine metabolisme. In het 2<sup>e</sup> deel worden 3 studies beschreven die de effecten van glutamine toediening op het endogene glutamine metabolisme en metabole, functionele en structurele aspecten van de darm als onderwerp hadden. In het laatste deel wordt een uitgebreid literatuur overzicht over glutamine metabolisme beschreven waarbij de data van het 1<sup>e</sup> en 2<sup>e</sup> deel worden geïncorporeerd. In dit review worden de biochemische aspecten van glutamine en methodologische aspecten van interorgaan metabolisme studies besproken, waaronder gebruik van stabiele isotopen en arterioveneuze balans studies. Vervolgens wordt (inter)orgaan glutamine metabolisme bij gezonde en metabool gestreste organismen behandeld. Tot slot worden ook de effecten van glutamine suppletie op het endogene metabolisme besproken.

In **hoofdstuk 1** worden de achtergronden leidend tot dit proefschrift besproken. Vervolgens worden de chemische en fysiologische aspecten van glutamine kort samengevat, waarna de meetmethodieken die in dit proefschrift worden gehanteerd worden toegelicht.

In de hoofdstukken 2-6 bespreken we de effecten van verscheidene typen pathofysiologische stress op het glutamine metabolisme. In **hoofdstuk 2** worden de resultaten gepresenteerd van een studie waarbij met stabiele isotopen effecten van chirurgisch trauma op glutamine flux is gemeten. Chirurgisch trauma leidde tot verlaging van glutamine concentraties in plasma en spier, maar glutamine Ra bleef onveranderd. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn veranderingen in eiwitmetabolisme, veranderingen in glutamine productie door andere organen dan spier, of wellicht het gevolg van een methodologisch probleem bij de meting van glutamine flux zoals besproken in het eerste

---

deel van de discussie. In **hoofdstuk 3** wordt het interorgaan metabolisme van glutamine na chirurgische stress nader beschreven aan de hand van experimenten in een varkensmodel waarbij een combinatie van stabiele isotopen en arterioveneuze balans technieken is gebruikt. Op de 2<sup>e</sup> postoperatieve dag na laparotomie was er sprake van een grote uitvloed van glutamine uit de spier die deels verklaarbaar was door verhoogde eiwitafbraak. Opname van glutamine door de darm nam af net zoals het glutamine verbruik. Er was sprake van een toegenomen glutamine productie door de darm. In plaats van glutamine te produceren, nam de lever na operatie glutamine op. De relatieve bijdragen van *de novo* synthese nam af en glutamine oxidatie nam toe. De nier bleek uiteindelijk niet veel bij te dragen aan interorgaan glutamine metabolisme in dit model. In **hoofdstuk 4** wordt ingezoomd op de effecten van chirurgisch trauma op glutathion metabolisme in het darmslijmvlies. De reden hiervoor is dat de effecten van glutamine mogelijk deels verklaard kunnen worden door veranderingen in het glutathion metabolisme. Na chirurgie vonden we wel een significante daling van glutamine concentraties in het darmslijmvlies maar geen significante veranderingen in glutathion concentraties. Echter, absolute glutathion synthese snelheden namen af met 38%. Ondanks significante correlaties tussen glutamine en glutamaat concentraties met glutathion concentraties waren deze niet specifiek omdat er ook vergelijkbare significante relaties bestonden met andere aminozuren. Onder voorwaarde van steady state, betekent deze bevinding dat in de postoperatieve fase verlies van gereduceerd glutathion (via oxidatie of uitscheiding door de cel) moet zijn afgenomen. Of dit klinische relevantie heeft is onduidelijk.

In **hoofdstuk 5** is de rol van de longen in het interorgaan metabolisme van glutamine bestudeerd in septische patiënten. Door respectievelijk in de a. pulmonalis en systemisch arterieel in de a. radialis te meten, kon de arterioveneuze balans over de longen worden berekend. De populatie van septische patiënten werd vergeleken met een groep patiënten die een open hart operatie zouden ondergaan. Uit deze studie bleek dat de longen tijdens sepsis een significante hoeveelheid glutamine produceren, in vergelijking met opname van glutamine door de longen in de controle groep. Op basis van de gegevens van deze studie werd geschat dat ongeveer de helft van de glutamine afkomstig was van eiwitafbraak. De ernst van sepsis had geen effect op glutamine fluxen, in tegenstelling tot de aan- of afwezigheid van longinfiltraten op de thorax foto: bij aanwezigheid van een infiltraat was er geen sprake meer van glutamine efflux. Dit zou kunnen wijzen op toegenomen lokale glutamine consumptie bijvoorbeeld door geactiveerde immuuncellen. In **hoofdstuk 6** worden de relaties tussen (anthropometrische) maten voor depletie en klinisch chemische dan wel hematologische maten voor ontstekingsactiviteiten met glutamine concentraties in plasma en darmslijmvlies bekeken. Tevens worden relaties met slijmvliesmorfologie en darm barrière functie bestudeerd. Het bleek dat de aanwezigheid van ontstekingsactiviteit maar niet van depletie significant gerelateerd was met glutamine concentraties in darm en plasma, en ook met darmpermeabiliteit. Aan de andere kant was depletie maar niet ontstekingsactiviteit gerelateerd aan veranderingen in darmmorfologie.

In het volgende deel beschrijven we het resultaat van 3 studies die gericht zijn op de effecten van exogene glutamine suppletie. In **hoofdstuk 7** worden de functionele effecten gepresenteerd van een prospectieve gerandomiseerde studie naar glutamine verrijkte totale



parenterale voeding in een deplete patiëntenpopulatie. Ondanks eerdere aanwijzingen dat depletie een risicofactor is voor glutamine depletie, werden geen effecten in glutamine concentraties in plasma gevonden. Ook werden geen effecten op darmpermeabiliteit, darmslijmvlies morfologie of tekenen van toegenomen inflammatoire activiteit in de darm gevonden. Op basis van analyse van de verschillen in patiëntenpopulatie tussen deze en een eerder door de onderzoeksgroep gerapporteerde studie naar de effecten van glutamine verrijkte totale parenterale voeding, werd de hypothese gesteld dat niet zozeer depletie maar veeleer aanwezigheid van systemische ontstekingsactiviteit effect heeft op glutamine metabolisme. Dit werd bevestigd door data die zijn beschreven in **hoofdstuk 6**. In **hoofdstuk 8** worden de effecten van toediening van glutamine verrijkte totale parenterale voeding op de glutamine flux in plasma bij patiënten beschreven. De belangrijkste bevinding van deze studie was dat de endogene glutamine flux niet afnam door toediening van extra glutamine, waardoor dit resulteerde in een toename van het glutamine aanbod.

In **hoofdstuk 9** zijn de metabole effecten van infusie van glutamine verrijkte totale parenterale voeding in meer detail bestudeerd in een varkensmodel. De varkens werden gerandomiseerd tussen 2 groepen die totale parenterale voeding toegediend kregen waarbij de ene groep wel en de andere groep geen glutamine kreeg. Infusie van parenterale voeding resulteerde in een toegenomen turnover van eiwit op totaal lichaamsniveau, en had anabole effecten op spier en darmweefsel. Door toevoeging van glutamine nam eiwitdepositie in de spier verder toe. Aan de andere kant nam eiwitsynthese in de darm af, maar door een sterkere stijging van eiwitafbraak was het netto effect ook positief. Glutamine toediening leidde tot verhoogde plasma concentraties maar niet tot veranderingen in glutamine efflux uit de spier. De opname van glutamine door de darm werd door deze verhoogde concentraties ook niet versterkt, maar nam juist af. Ook mucosa glutamine concentraties daalden. Tegelijkertijd nam de *de novo* synthese van glutamine door de darm toe.

Het extra toegediende glutamine werd derhalve niet door de darm maar voornamelijk door de lever gemetaboliseerd.

In **hoofdstuk 10** worden de hierboven beschreven resultaten in een breder kader geplaatst door ze te integreren in een literatuuroverzicht betreffende glutamine metabolisme. In het eerste deel worden enkele basale aspecten van glutamine metabolisme toegelicht waarbij wat dieper wordt ingegaan op methodologische aspecten van metingen van interorgaan metabolisme. Daarna worden achtereenvolgens de beschikbare gegevens over glutamine metabolisme in gezondheid, tijdens ziekte en bij toediening van exogeen glutamine samengevat.