

Atouts et limites des modèles de digestion gastro-intestinaux : de l'*in vitro* à l'*in vivo*

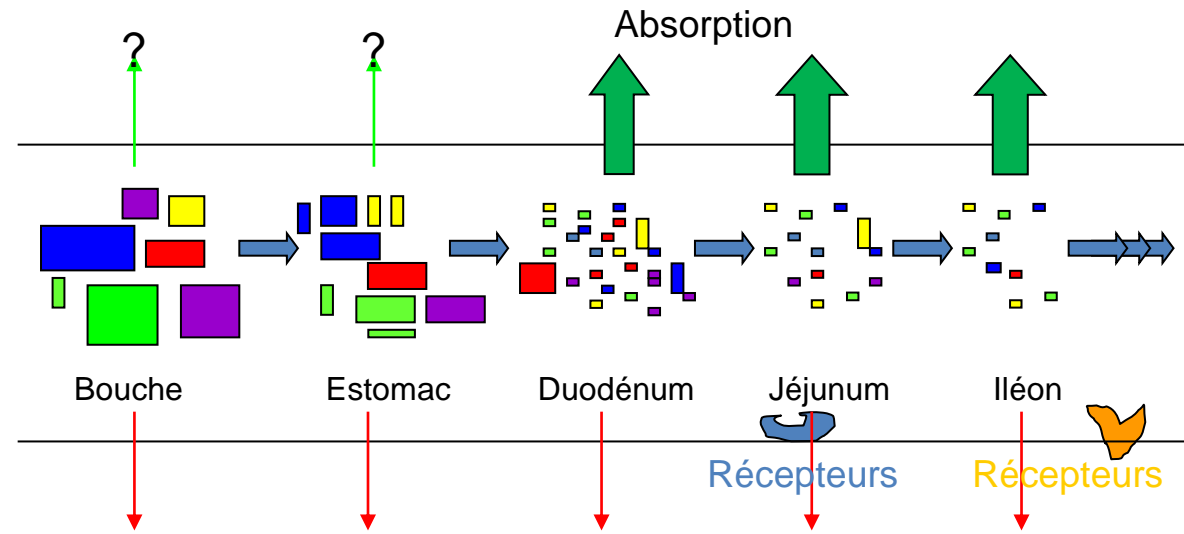
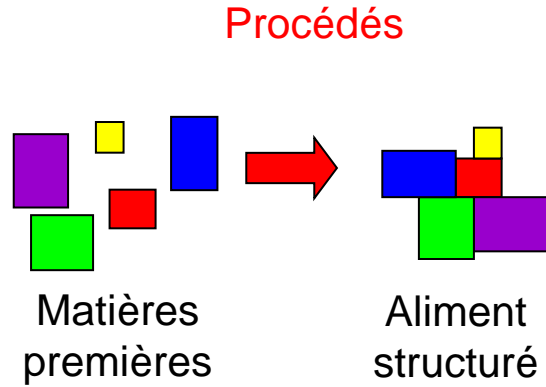
Olivia Ménard & Didier Dupont

INRA-UMR 1253 STLO, Agrocampus Ouest, Rennes

Mardi 13 mai 2014



Nos objectifs



Molécules bioactives

- Peptides bioactifs
- Acides gras
- Minéraux...

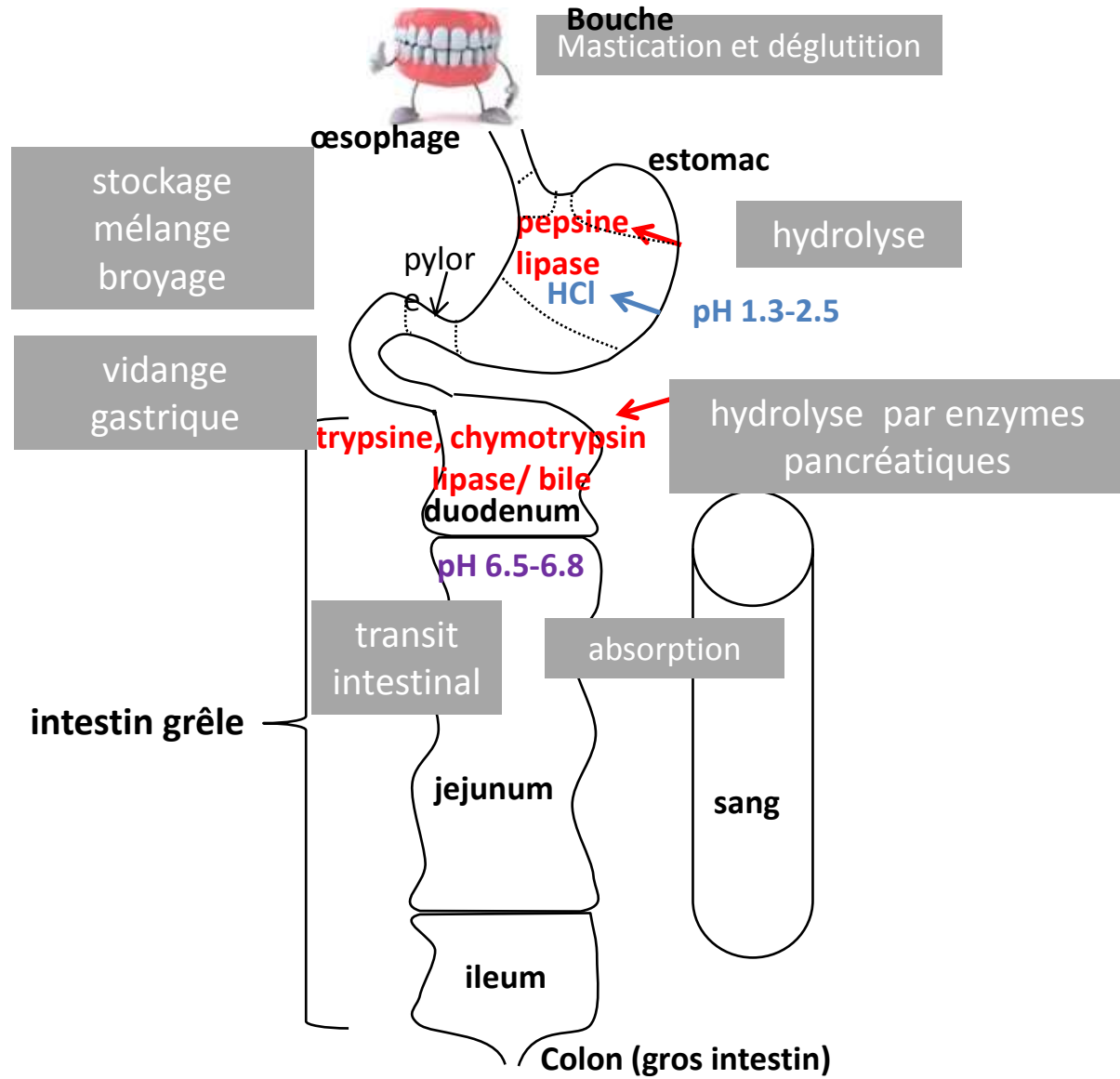


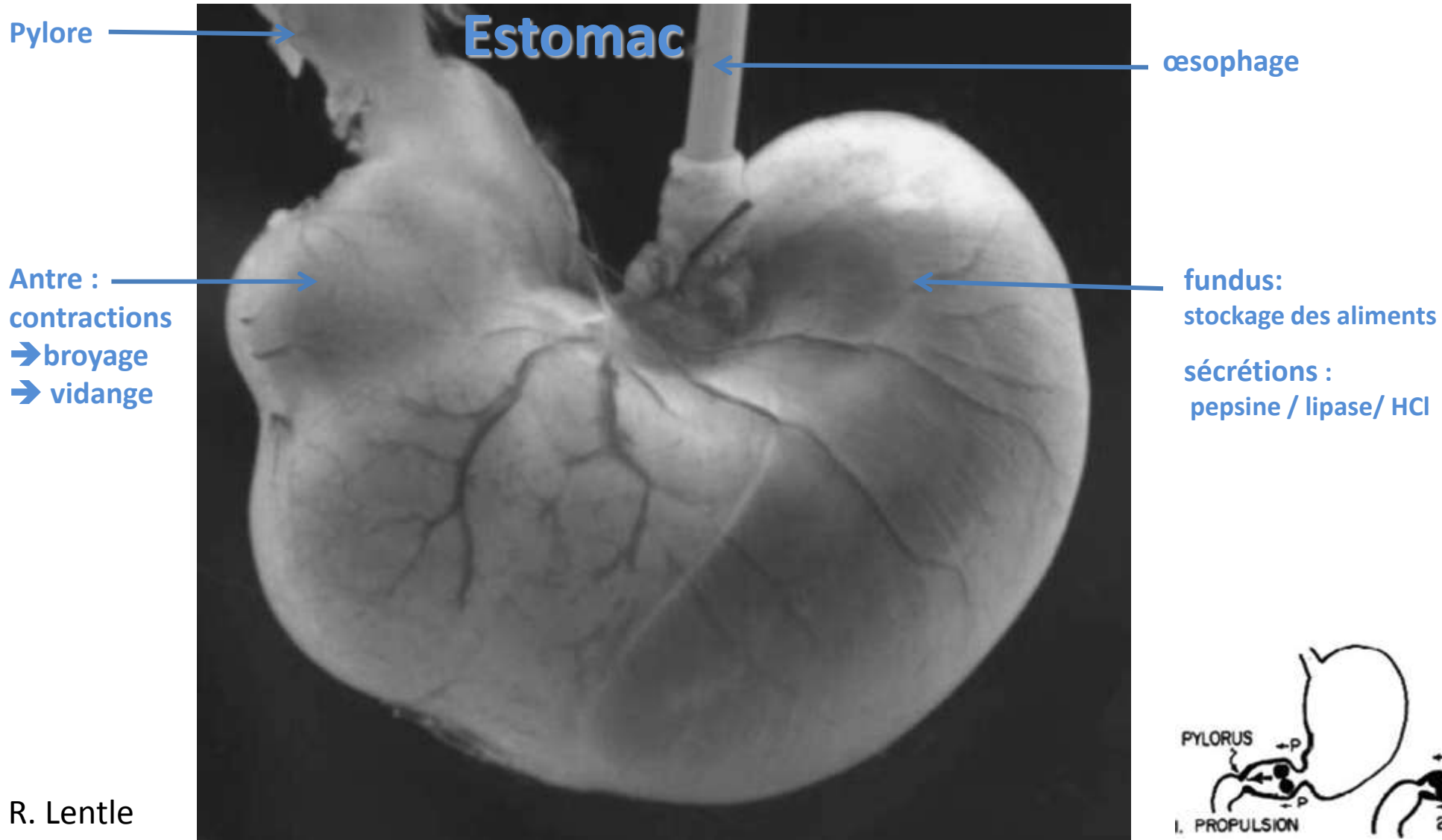
Effet physiologique



- ☞ Comprendre les mécanismes de déconstruction de l'aliment et de ses constituants dans le tube digestif et identifier les molécules bénéfiques libérées au cours de la digestion
- ☞ Déterminer l'impact de la structure et de la composition de l'aliment sur ses mécanismes de déconstruction
- ☞ Modéliser ces phénomènes pour développer une démarche d'ingénierie réverse

Le processus digestif





R. Lentle

Kong and Singh, 2008



Modèles de digestion

In vitro statique
modèles de digestion
adaptés à l'enfant ou
l'adulte
INFOGEST



In vivo
Essais
cliniques
CHU Rennes



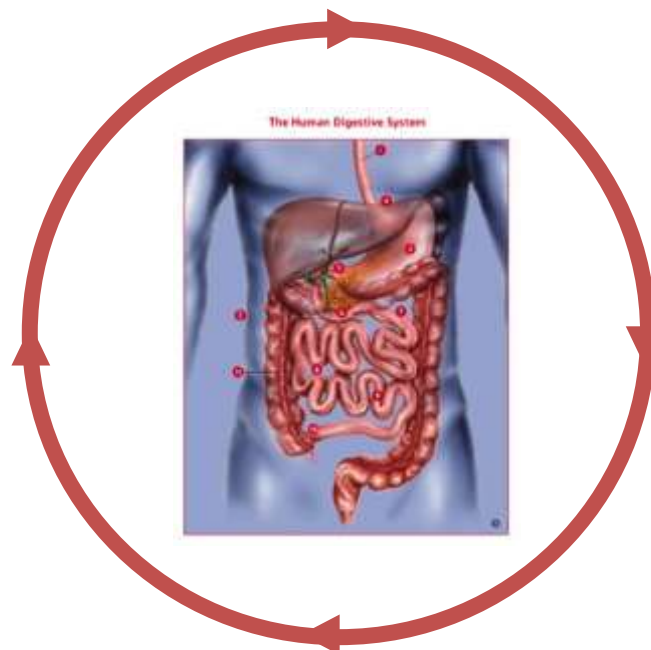
In vivo
INRA ADNC
(porc adulte &
porcelets...)



In vitro dynamique
INRA GMPA/STLO



Ex vivo
Chambres d'Ussing
INRA ADNC



Modèles *in vitro* : pourquoi?



In vivo



In vitro



Raisons :

- Ethiques -Réglementaires -Techniques – Budgétaires

Avantages:

- Standardisation des conditions expérimentales
- Reproductibilité et répétabilité des expériences
- Répétitions des expériences
- Fréquence d'échantillonnage (cinétique) et points de prélèvements
- Etude techniquement difficile *in vivo*



Outils complémentaires

- Expériences préliminaires
- Screening

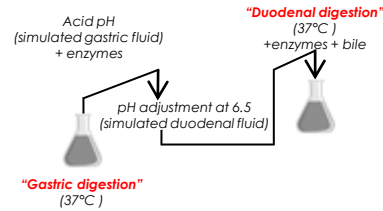
Objectifs :

- comprendre les mécanismes de déstructuration des matrices
- mesurer l'impact des structures sur ces mécanismes
- évaluer la bio-accessibilité de nutriments, de principes actifs,...
- étudier la survie de micro-organismes

Modèles de digestion *in vitro*

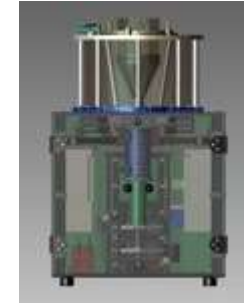
Modèles statiques

- Facile à mettre en œuvre
- Faible coût
- Valeurs finales de concentration



Modèles dynamiques mono-compartmenté

- Systèmes contrôlés
- Flux de sécrétions, de vidange et mélange
- Simulation d'une étape de digestion



Modèles dynamiques multi-compartmentés

- Systèmes contrôlés
- Flux de sécrétions, de vidange et mélange
- simulation de plusieurs étapes de digestion



Complexité et pertinence croissantes

Modèle *in vitro* statique

INFOGEST

Réseau international
– 330 chercheurs
– 110 Instituts
– 34 pays

A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food- an international consensus, Food & Function, (Minekus et al. 2014)

Oral phase

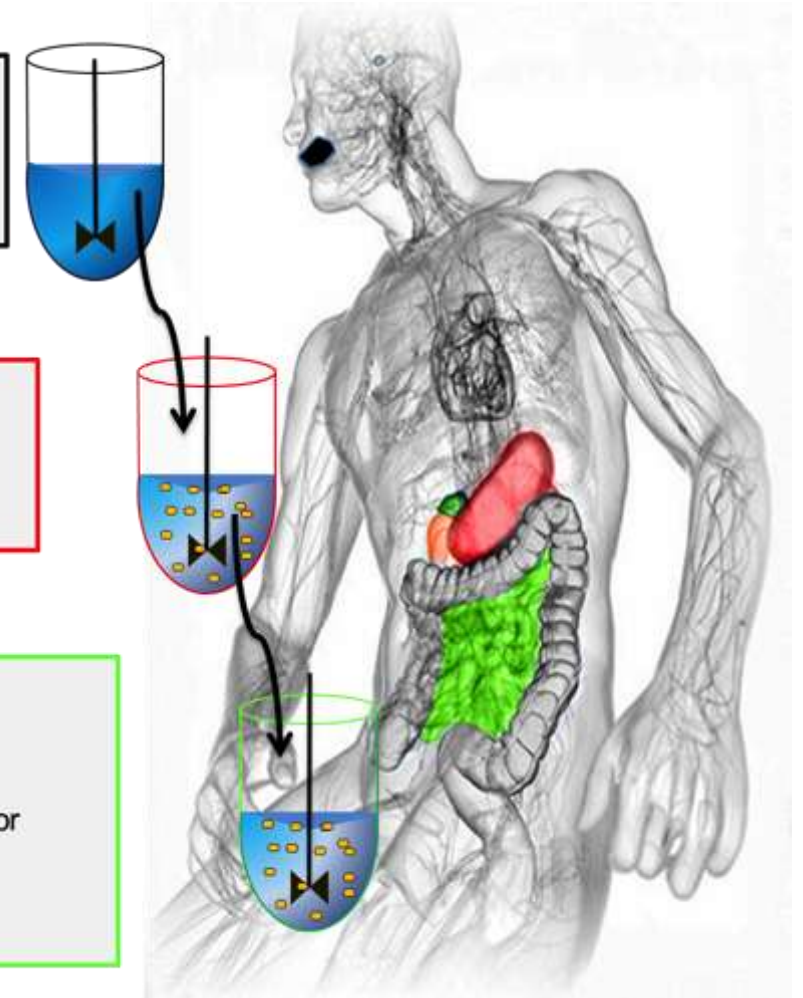
Mix 1:1 with Simulated Salivary Fluid (SSF)
salivary amylase (75 U/mL)
2 min, pH 7

Gastric Phase

Mix 1:1 with Simulated Gastric Fluid (SGF)
Pepsin 2000 U/ml
2h, pH 3

Intestinal Phase

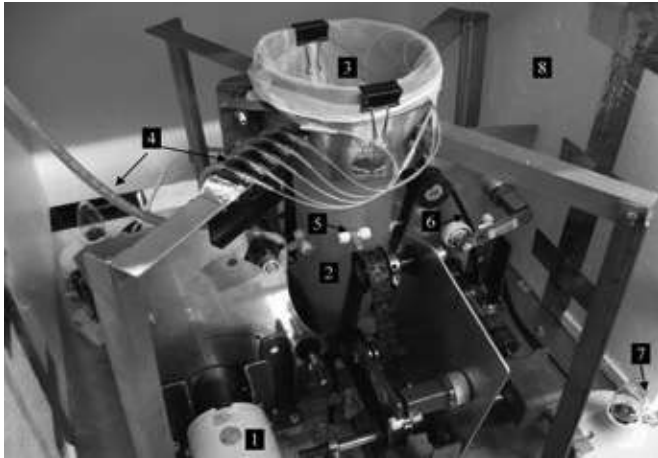
Mix 1:1 with Simulated Intestinal Fluid (SIF)
Enzymes
Pancreatin (based on trypsin 100 U/mL) or
Pure enzymes
Bile (10mM)
2h, pH 7



→ modèle statique : absence de flux

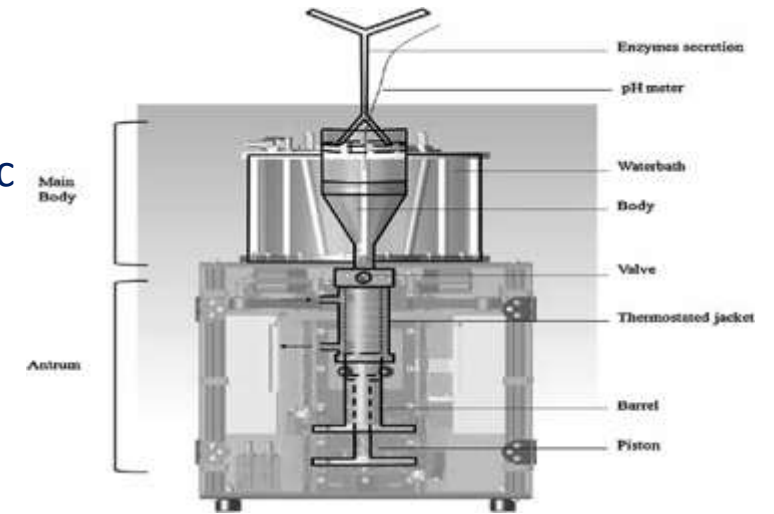
Modèles dynamiques mono-compartmentés

Human Gastric Simulator (HGS)



Kong and Singh, USA, 2010

Dynamic gastric model(DGM)



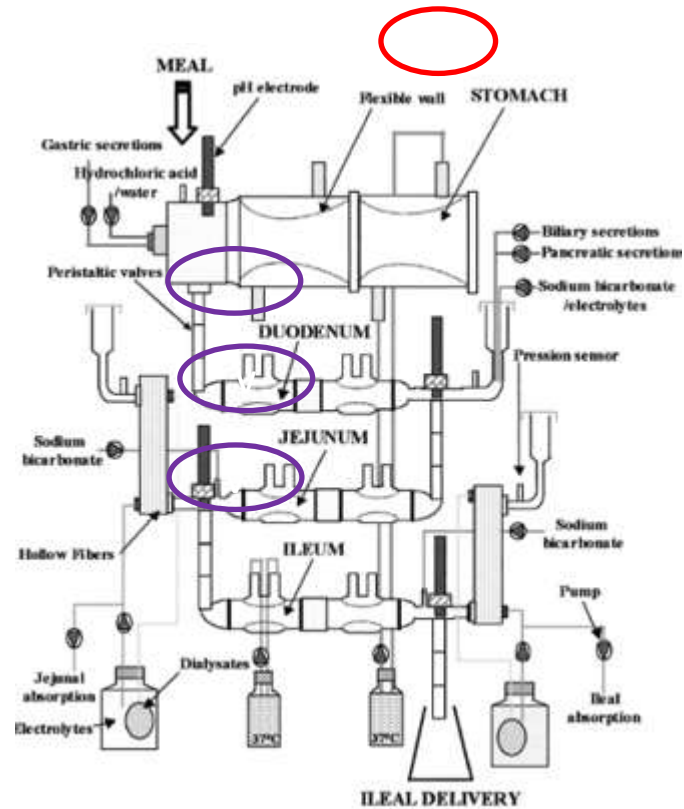
M Wickham, R Faulks, IFR, UK. *Brevet WO 2007*

Colon artificiel



Denis, CIDAM
Univ. Clermont

Modèles dynamiques multi-compartimentés



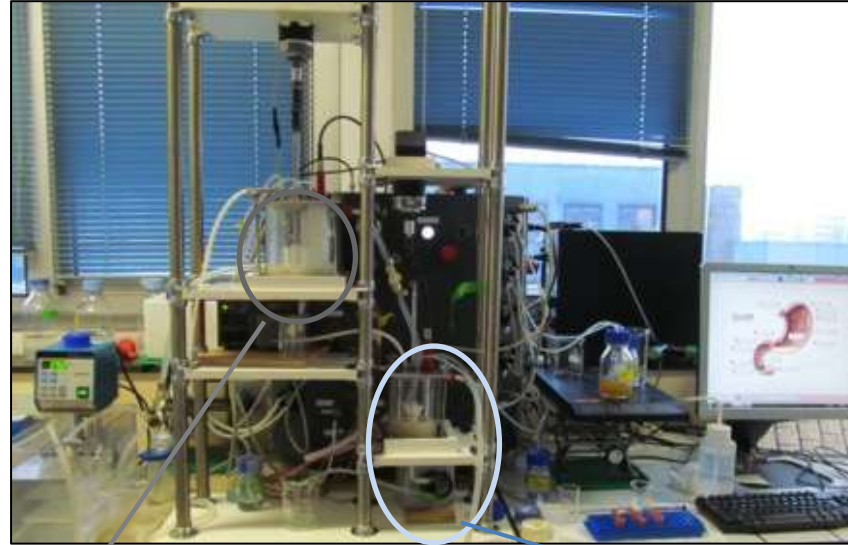
TIM-1 (TNO Intestinal Model)
Minekus et al. (1995)

SHIME (Simulated Human Intestinal Microbial Ecosystem)



Molly et al., 1993, Univ Gent

Digesteur gastro-intestinal DIDGI®



Logiciel StoRM®

Estomac



Intestin grêle



**Vidange :
Modélisation
(Elashoff)**

**Vidange :
Modélisation
(Elashoff)**

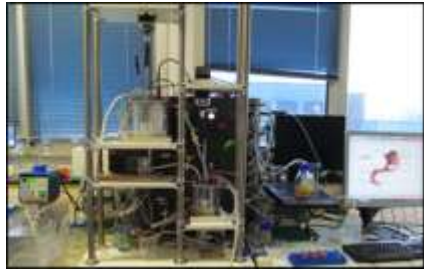
Fluides intestinaux:

- pancréatine
- bile
- fluide intestinal simulé
- NaHCO₃

Fluides gastriques

- pepsine
- lipase
- fluide gastrique simulé
- HCl

Validation du système dynamique de digestion *in vitro*



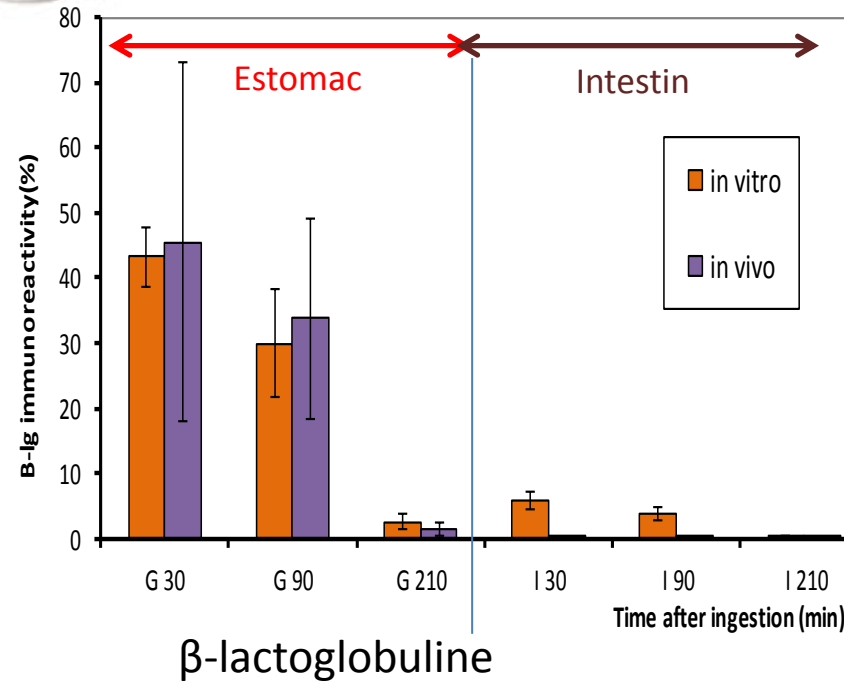
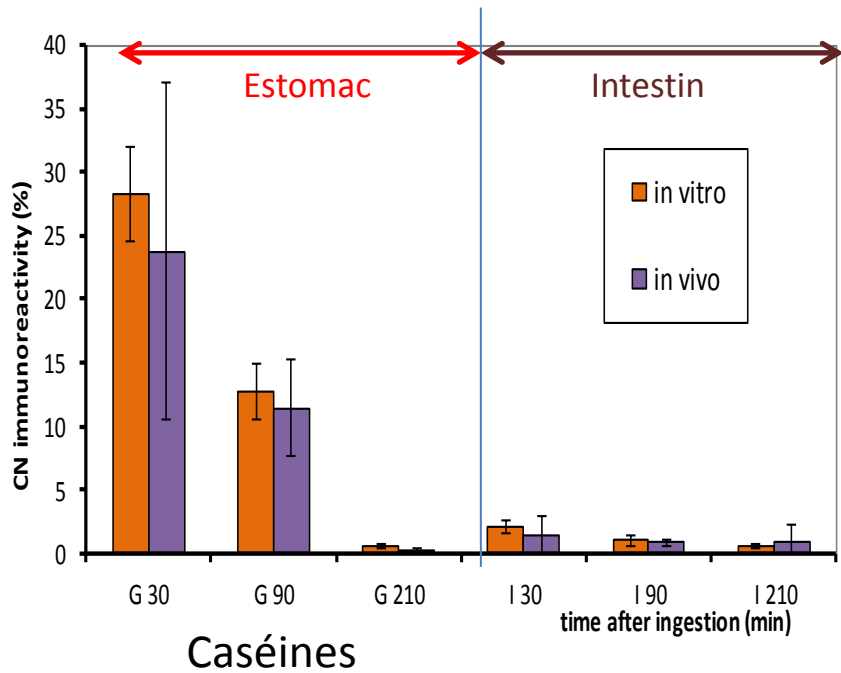
In vitro
←
N=3

Formule
infantile



In vivo
→

18 porcelets

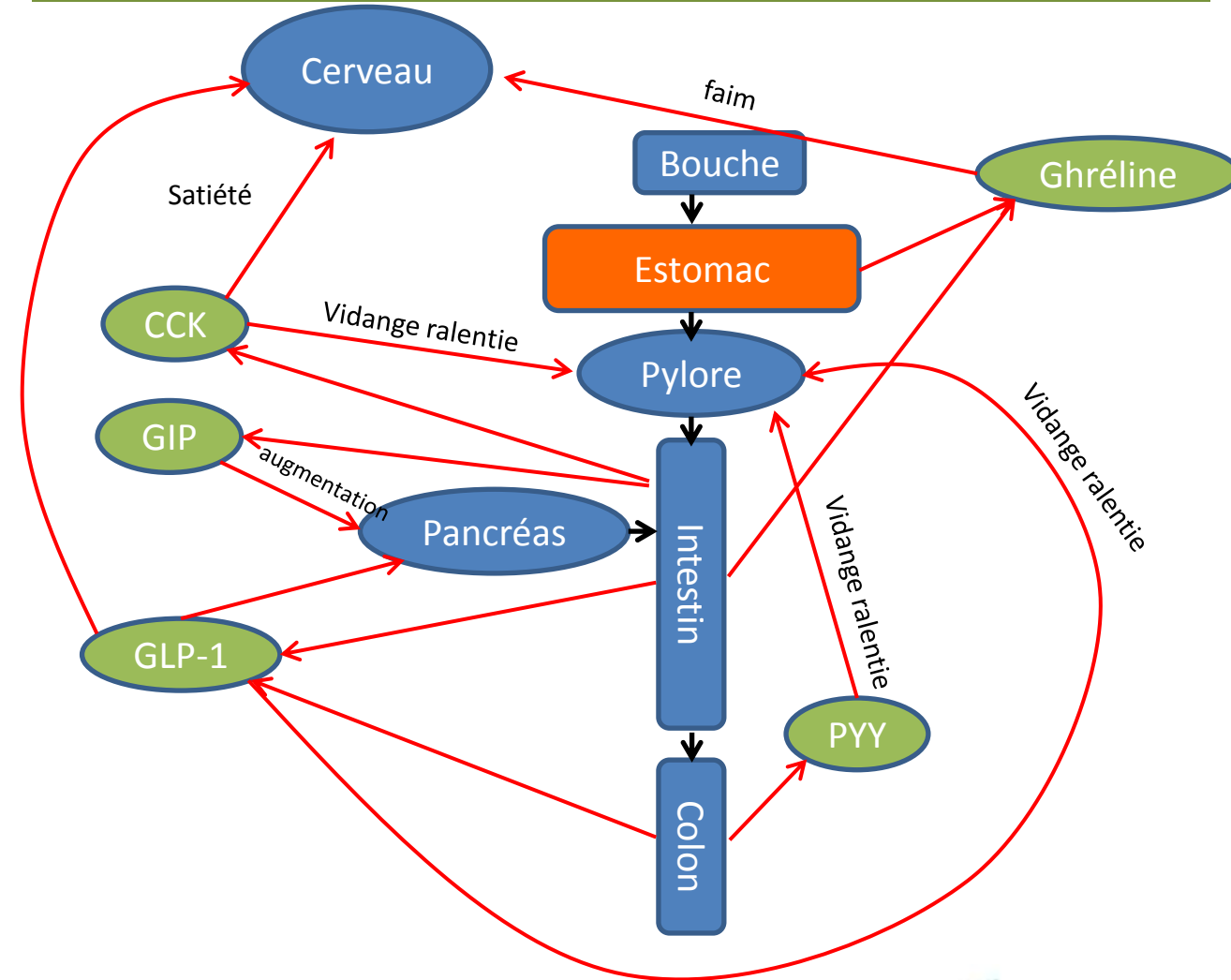


→ Modèle validé
contre des données *in vivo*
pour la digestion du nouveau né
(Ménard et al. 2014,)

Face à la complexité de l'*in vivo*,
les modèles de digestion peuvent reproduire :

- Régulation du pH (acidification gastrique et neutralisation en phase intestinale)
- Mélange/ broyage des aliments
- Sécrétions et flux (enzymes, bile, fluides)
- Vidanges gastro-intestinales
- Absorption

Impossible à reproduire :
Contrôles nerveux et hormonaux associés à la digestion



Modèles *in vivo* : modèles animaux

Rats / Porcs

après abattage des animaux:

- Collecte d'effluents gastriques et/ou intestinaux, prélèvements de tissus, d'organes
- nombre d'animaux importants



Collaboration I. Luron
INRA St Gilles



Porcs ou mini-porc

Canule :

- prélèvements en cinétique post-prandiale

Catheter :

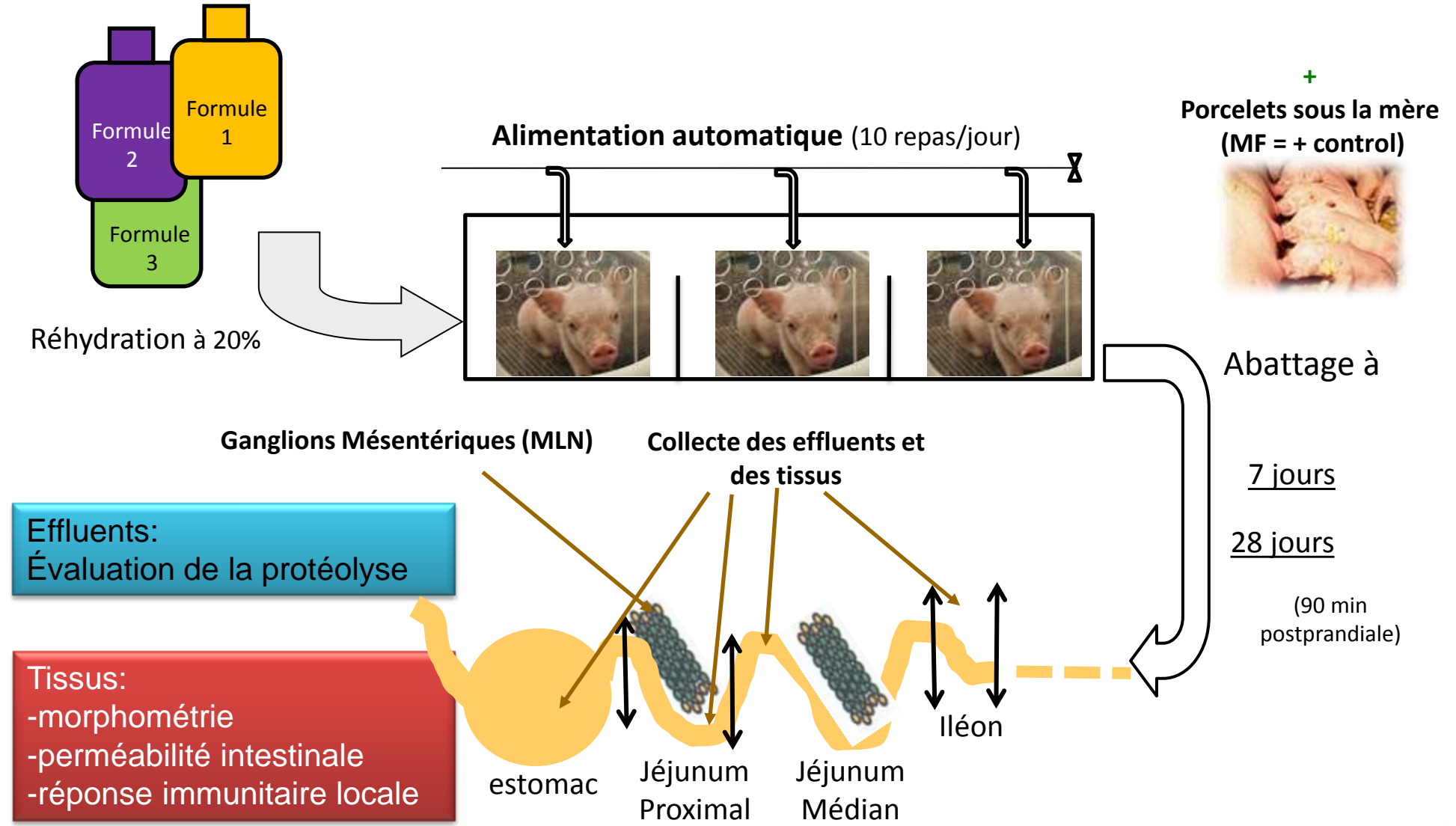
- prélèvements sanguins



Collaboration
D. Rémond
INRA Theix

Exemple
d'étude
in vivo
sur animal

La composition des formules infantiles peut-elle moduler la réponse physiologique de l'hôte?



Modèles *in vivo* : essai cliniques chez 'Homme

Collecte d'effluents:

- Ileostomisés : représentativité?



- Intubation naso-iléale : adulte volontaire sa



Nature et cinétique d'arrivée des peptides en fonction de la nature des protéines

Digestion par l'homme de protéines de lait

- 16 sujets nourris avec 30g de:
 - caséines
 - protéines sériques
 - mélange caséines + protéines sériques (50/50)

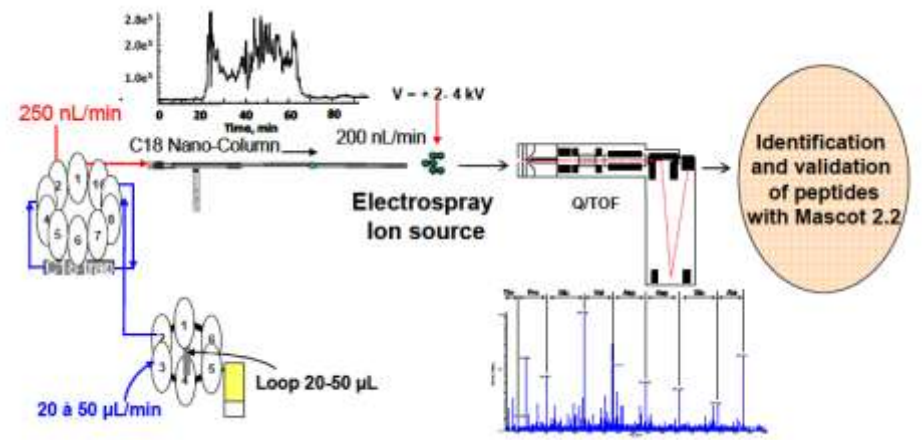


ANR *Surprol*



➤ Collecte, pendant 6H après ingestion, des contenus intestinaux par sonde naso-intestinale placée au niveau du jéjunum (pose de la sonde sous contrôle radiographique)

- Les peptides de taille supérieure à 5 acides aminés ont été caractérisés par ESI-MS-MS



Systemes *in vitro* :

simple

moins representatif (pertinence physiologique -)



Etude à mener:
Quel modèle ?

Systemes *in vitro* :

pas contraintes éthiques / peu couteux

expérimentations répétées et reproductibles

techniquement plus aisée

pas de limites du nombre d'expérience



Essais *in vivo*:

contraintes éthiques et techniques

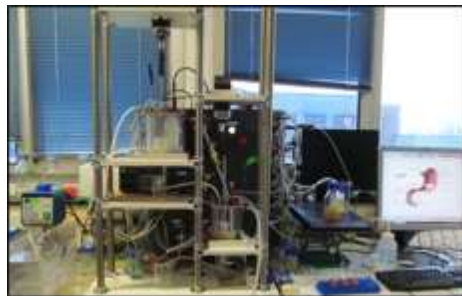
variabilité inter-individuelle importante

limités en nombre

Essais *in vivo* :

pertinence +++

données *in vivo* « précieuses »



Merci de votre attention

