



HAL
open science

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

Olivia Ménard, Didier Dupont

► To cite this version:

Olivia Ménard, Didier Dupont. Atouts et limites des modèles de digestion gastro-intestinale : de l'in vitro à l'in vivo. *Innovations Agronomiques*, 2014, 36, pp.27-41. 10.17180/5hxf-sz54 . hal-01209654

HAL Id: hal-01209654

<https://hal.science/hal-01209654v1>

Submitted on 27 May 2020

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

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

Ménard O.^{1,2}, Dupont D.^{1,2}

¹ INRA, UMR 1253 STLO, 65 rue de St Briec, F-35042 Rennes Cedex

² Agrocampus Ouest, UMR 1253 STLO, 65 rue de St Briec, F-35042 Rennes Cedex

Correspondance : olivia.menard@rennes.inra.fr

Résumé

Bien que la physiologie digestive ait fait l'objet de nombreuses études par le passé, les mécanismes fins de déconstruction de l'aliment dans le tube digestif restent peu élucidés. Au cours de la digestion des phénomènes chimiques, enzymatiques et mécaniques se produisent simultanément. Comprendre les mécanismes liés à la digestion demeure un objectif ambitieux et le nombre croissant de travaux portant sur la digestion ces dix dernières années en témoigne. Etudier la digestion nécessite de recourir à des modèles *in vitro* ou *in vivo*. Le choix du modèle de digestion dépend de nombreux facteurs notamment éthique, technique ou financier. L'objectif de cet article est de décrire les différents modèles existants adaptés aux études sur la digestion. Dans une première partie, les modèles de digestion *in vitro* seront exposés. Les différentes étapes de la digestion seront détaillées et les paramètres associés aux modèles statiques seront explicités. Pour aller vers des systèmes *in vitro* plus complexes et pertinents physiologiquement, différents modèles dynamiques uni ou multi-compartimentés ont été développés et seront explicités. Les modèles *in vitro* ne reproduisent pas la complexité biologique du tractus digestif, aussi, le recours à des modèles *in vivo*, animaux ou humains, demeure la meilleure approche pour étudier la digestion. Aussi, dans une seconde partie, les modèles *in vivo* seront décrits et discutés. Cette synthèse souligne la grande diversité des modèles de digestion et il s'avère important de bien connaître les avantages et les limites de ceux-ci afin de mettre en place le modèle répondant au mieux aux objectifs de l'étude à mener.

Mots-clés : digestion, modèle *in vitro*, *in vivo*, statique, dynamique, animal, homme

Abstract: Benefits and drawbacks of gastro-intestinal digestion models: from *in vitro* to *in vivo*

Although the digestive physiology has been studied a lot in the past, little is known about the sharp mechanisms of food disintegration in the digestive tract. During digestion, chemical, enzymatic and mechanical phenomena occur simultaneously. Understanding digestion mechanisms remains an ambitious objective and the increasing number of articles concerning digestion these last ten years demonstrates it. Studying digestion requires to use *in vitro* or *in vivo* models. The choice of digestion model depends on many factors such as ethical, technical or financial considerations. The objective of this article is to describe the various existing models adapted to digestion studies. First of all, the *in vitro* digestion models will be considered. The various stages of the digestion will be detailed and the associated parameters of static models will be elucidated. To go towards more complex and physiologically relevant *in vitro* systems, different dynamic models unicompartmental or multicompartmental have been developed and will be detailed.

In vitro models do not reproduce the biological complexity of the digestive tract, so, the resort to *in vivo* models, animal or human, remains the best approach to study digestion. So, in a second part, the *in vivo* models will be described and discussed. This synthesis underlines the variety of digestion models and highlights the importance of being aware of the advantages and drawbacks of digestion models to set up the best model matching the objectives of the study to be conducted.

Keywords: digestion, *in vitro* model, *in vivo* model, static, dynamic, animal, human

Introduction

La digestion est un processus biologique complexe qui permet à l'individu de tirer des aliments les nutriments indispensables à sa vie. Les aliments, au cours de leur passage dans le tube digestif, sont exposés à des phénomènes mécaniques et enzymatiques. La mastication en bouche, les mouvements péristaltiques de l'estomac et de l'intestin conduisent à la déstructuration des aliments en réduisant leur taille. Simultanément, les enzymes du tractus digestif, de la bouche à l'intestin, modifient chimiquement l'aliment et le transforment en nutriments. L'absorption de ces nutriments commence dès l'estomac (mineur) mais se déroule essentiellement dans l'intestin grêle.

Pour étudier la digestion, les études expérimentales chez l'animal ou les essais cliniques chez l'homme demeurent la meilleure approche. Les études cliniques de digestion chez l'homme sont éthiquement et techniquement difficiles à mettre en place. Ces études, également très coûteuses, sont impossibles à réaliser en grand nombre. Il convient alors de recourir à des méthodes alternatives comme les systèmes de digestion *in vitro*. Deux types de modèles *in vitro* existent : les modèles statiques et les modèles dynamiques. Les modèles de digestion gastro-intestinale seront explicités ci-après en reprenant les différents modèles existant en allant de l'*in vitro* à l'*in vivo*. Les points forts et les limites des modèles et leurs applications potentielles seront discutés.

1. Modèles de digestion gastro-intestinale *in vitro*

En comparaison avec les modèles *in vivo*, les modèles de digestion *in vitro* présentent certains avantages : réduction des coûts, gain de temps, meilleures répétabilité et reproductibilité, limitation des contraintes éthiques. Plusieurs modèles mimant le tractus digestif ont été développés pour répondre à des questions de recherche scientifiques dans différents domaines.

Deux types de modèles *in vitro* existent : des modèles statiques et des modèles dynamiques.

1.1 Modèles de digestion statiques

Les modèles de digestion statiques sont des modèles biochimiques simples mimant les conditions physico-chimiques digestives. Les modèles *in vitro* peuvent mimer deux grandes étapes de la digestion : l'estomac et l'intestin grêle. Ces différentes étapes peuvent être considérées seules ou en combinaison.

1.1.1 Systèmes de digestion *in vitro* statiques : les différentes étapes

Les modèles de digestion statiques consistent à recréer dans une série de réacteurs les conditions auxquelles l'aliment sera soumis au cours de son passage dans le tractus digestif. Ce sont des modèles simples, largement utilisés qui permettent de prédire le comportement de l'aliment au cours de la digestion.

A chaque étape, l'aliment est incubé à 37°C. Il est mélangé aux fluides (gastrique ou intestinal) pendant un temps défini. Le pH est adapté pour chaque étape de la digestion et maintenu à un pH fixe. De même pour chaque étape, les enzymes sont additionnées en un seul ajout et le ratio enzyme/substrat est constant.

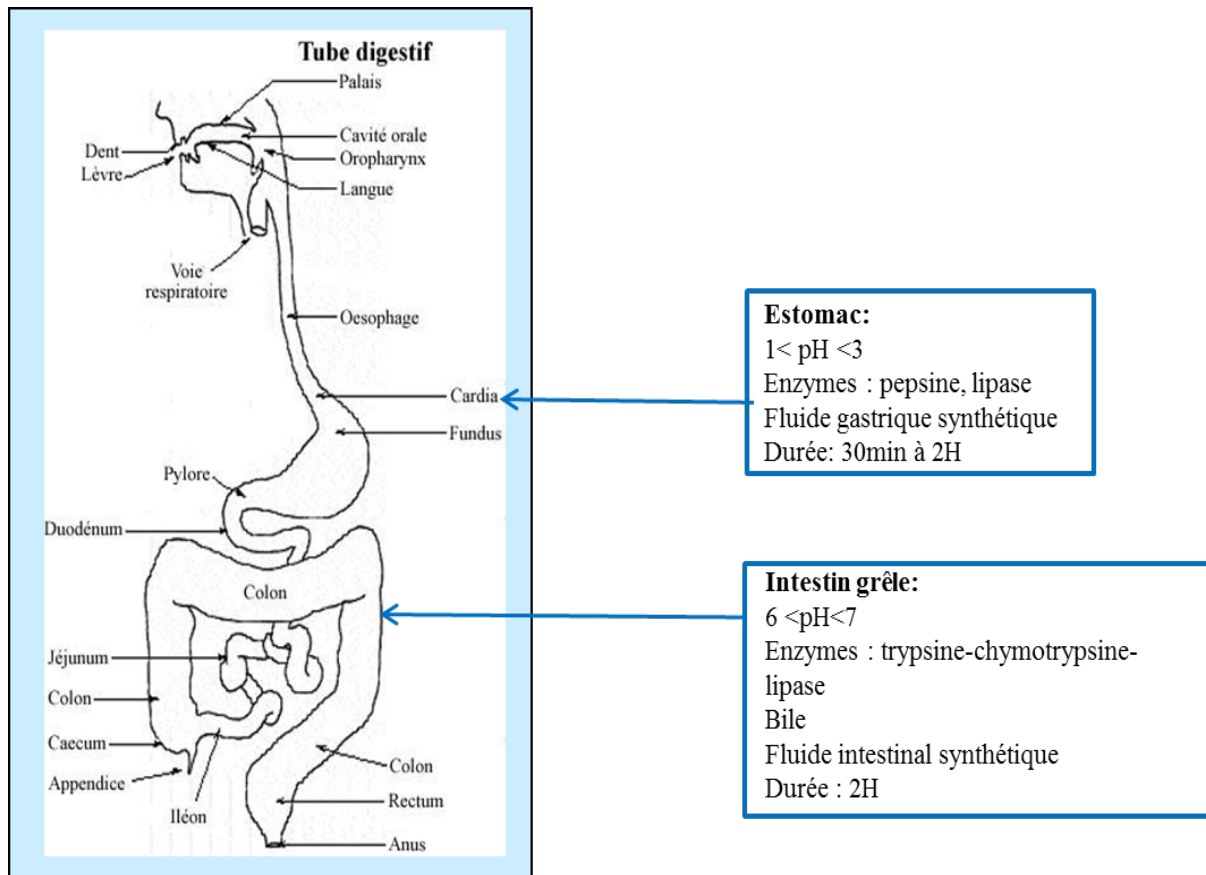


Figure 1 : Appareil digestif de l'homme et paramètres associés

Les différentes étapes de la digestion gastro-intestinale et les paramètres associés (Figure1) :

- Phase gastrique :

La fonction de l'estomac est de stocker l'aliment, de le broyer et de le déstructurer. Dans la partie haute de l'estomac (fundus), l'aliment est stocké et dans la partie basse (antrum), l'aliment est mélangé par des contractions plus fortes aux enzymes gastriques, à l'acide chlorhydrique et vidangé au fur et à mesure dans le duodénum.

Différents paramètres doivent être considérés pour mimer au mieux la phase gastrique : la quantité et nature des enzymes (pepsine et lipase), le pH, la force mécanique (agitation), la dilution avec le fluide gastrique, et le temps de séjour. La durée de cette étape est généralement de 1h, mais peut varier entre 30min à 2h suivant les protocoles *in vitro* statiques comme décrit par Hur *et al.* (2011).

- Phase intestinale :

La phase intestinale est très importante et c'est à ce niveau que l'absorption des nutriments se déroule. Après vidange de l'estomac vers l'intestin grêle, le pH du chyme est neutralisé par le bicarbonate et mélangé aux enzymes pancréatiques et à la bile. Les paramètres clés de la phase intestinale sont : le pH, la quantité d'enzymes pancréatiques, de bile, la dilution avec le fluide intestinal, le temps de séjour. Cette étape dure entre 1 à 2h (Aleinik *et al.*, 1986 ; McClements *et al.*, 2010).

1.1.2 Exemples de modèles statiques

Plusieurs modèles de digestion statique *in vitro* ont été développés et varient notamment en fonction du type d'aliment, de l'objectif de l'étude, du nombre d'étapes mimées et de la cible physiologique.

Le Tableau 1, reprenant quelques études de digestion appliquées aux matrices laitières, souligne l'hétérogénéité des paramètres utilisés.

Tableau 1 : Exemple de variabilité des modèles statiques *in vitro* appliqués à l'étude de digestion de produits laitiers (Hur *et al.*, 2009 ; Dupont *et al.*, 2010).

Objectif de l'étude	Nature des enzymes	Temps digestion (minutes)	pH	Référence
Digestion de lait bovin/caprin	Jus gastrique humain	30	2.5	Almaas <i>et al.</i> (2006)
	Jus duodénal humain	30	7.5	
Digestion de protéines de lait et lait maternel	Pepsine porcine ou jus gastrique (enfant)	60 60	Descente en pH de pH=6.5 à pH=2 en 60min	Chatterton <i>et al.</i> (2004)
Digestion β -lactoglobuline	Pepsine porcine	120	2.5	Moreno <i>et al.</i> (2008)
	Trypsine porcine et chymotrypsine et sels biliaires	15	6.5	
Digestion protéines purifiées issues du lait (β -lactoglobuline) (β -caséine)	Pepsine porcine	60	pH=3(modèle enfant)	Dupont <i>et al.</i> (2010)
	Trypsine et chymotrypsine porcine et sels biliaires	30	pH=2.5 (modèle adulte) pH=6.5	

1.1.3 Bilan des modèles de digestion statiques

a- Nombre d'étapes :

Suivant le type de matrice étudiée, les systèmes *in vitro* statiques comprennent une, deux ou trois étapes. Pour des matrices de type liquide la phase orale est généralement négligée. En revanche, la plupart des modèles de digestion *in vitro* statiques comprennent les deux phases successives (gastrique puis intestinale). Cette succession d'étapes ne reflète pas la réalité physiologique car ces phénomènes se déroulent simultanément *in vivo*.

b- Durée des étapes :

La phase gastrique dure de 30 min à 2 h suivant les études (Hur *et al.*, 2011). Concernant la phase intestinale elle varie également entre 30 min et 6 h et dépend notamment de la partie de l'intestin que l'on souhaite mimer (duodénum, ou ensemble de l'intestin grêle).

c- Fluides et enzymes utilisées :

Les fluides, mimant les sécrétions gastriques et intestinales, peuvent contenir une composition minérale variée (Versantvoort *et al.*, 2005 ; Oomen *et al.*, 2003), ou juste du chlorure de sodium (Dupont *et al.*, 2010). Ils visent à refléter la force ionique des sécrétions. Le pH est ajusté suivant la phase digestive considérée. La dilution du repas au cours de son passage dans le tractus digestif, respecte globalement ces proportions repas/fluide salivaire/fluide gastrique/fluide intestinal : 2/1/2/3 (v/v) et a été bien décrit par Versantvoort *et al.* (2005).

Les enzymes, les plus fréquemment utilisées, dans les systèmes de digestion *in vitro* sont la pepsine, la chymotrypsine, la trypsine, la lipase et l'amylase, des sels biliaires sont également ajoutés. Ces enzymes et sels biliaires sont le plus souvent d'origine animale notamment porcine voire bovine. Concernant la lipase gastrique d'origine animale, elle est indisponible commercialement et est ainsi souvent d'origine fongique. Les enzymes sont ajoutées sous forme purifiées ou dans le cas de la digestion intestinale sous forme d'extrait de sécrétions pancréatiques animales contenant l'ensemble des enzymes digestives intervenant à ce niveau. Certaines études utilisent des enzymes d'origine humaine après collecte de sucs gastriques ou intestinaux chez l'homme adulte (Almaas *et al.*, 2006), ou l'enfant (Chatterton *et al.*, 2004 ; Armand *et al.*, 1996). Outre le fait d'ajouter des enzymes dans des conditions physiologiques dans les systèmes de digestion *in vitro*, il est primordial de les caractériser et de vérifier leur activité dans les conditions digestives. Des facteurs comme la concentration, la température, le pH, la présence d'inhibiteurs ou d'activateur et le temps d'incubation influencent l'activité des enzymes. Concernant le ratio enzyme /substrat, il est difficile de trouver un consensus entre toutes les études.

Différents modèles de digestion statiques ont été développés, avec un paramétrage adapté à chaque cas d'étude, ce qui rend difficile la comparaison des résultats entre chaque étude. Par exemple en fonction de l'origine des enzymes digestives utilisées (porcine, humaine, fongique), la spécificité et l'activité des enzymes digestives seront différentes. De même, des différences de pH, de force ionique, nature des minéraux ajoutés dans les fluides, de temps de digestion ont été mises en évidence entre les différents systèmes. Ces variations dans le paramétrage de système de digestion *in vitro* vont directement influencer l'activité des enzymes et par conséquent modifier le résultat de digestion. Face à cette difficulté, à savoir l'impossibilité de comparer les résultats entre différentes études et au besoin d'harmoniser un protocole de digestion qui puisse être utilisé par l'ensemble de la communauté scientifique, le réseau de chercheurs européens COST « Infogest », dont l'objectif est de réunir une communauté de scientifiques dans le domaine de la digestion, a établi un consensus autour d'un protocole de digestion statique (Minekus *et al.*, 2014).

Bien que peu pertinents physiologiquement (pH constant, absence de flux de l'aliment entre les différents compartiments, absence d'absorption des nutriments...), les systèmes de digestion *in vitro* statiques présentent de nombreux avantages. Ce sont des outils simples et peu coûteux. Ils sont techniquement faciles à mettre en place, nécessitent peu de matériel. Ces systèmes sont préférentiellement utilisés pour l'étude de la digestion de molécules purifiées, pour évaluer l'allergénicité potentielle des protéines. Les modèles de digestion statiques sont utilisés comme des méthodes de pré-screening, quand un grand nombre d'essais doit être réalisé ou avant d'aller vers de systèmes plus complexes.

1.2 Modèles de digestion dynamiques

Les modèles de digestion dynamiques, contrairement aux modèles statiques, prennent en compte l'évolution au cours de la digestion, des phénomènes biochimiques et mécaniques qui se déroulent dans le tractus digestif. Ces systèmes artificiels sont plus proches physiologiquement de ce qui se passe chez l'homme car les aspects de flux sont pris en compte. L'évolution de l'acidification en phase gastrique, les flux d'enzymes et de sécrétions, les vidanges gastro-intestinales peuvent être mimés et régulés.

1.2.1 Paramétrage

- Modélisation des vidanges gastro-intestinale

Pour contrôler la vidange du bol alimentaire dans chaque compartiment, une équation mathématique de

type exponentielle puissance est utilisée : $f = 2^{-((t/t_{1/2})^\beta)}$ où f représente la fraction du repas

restant dans l'estomac (ou l'intestin), t le temps (en minutes) après le début de l'ingestion, $t_{1/2}$ le temps pour vidanger 50% du repas et β le coefficient décrivant l'allure de la courbe comme décrit par Elashoff *et al.* (1982) (Figure 2). Pour chaque type d'aliment le temps de demi-vidange et le coefficient β doivent être définis.

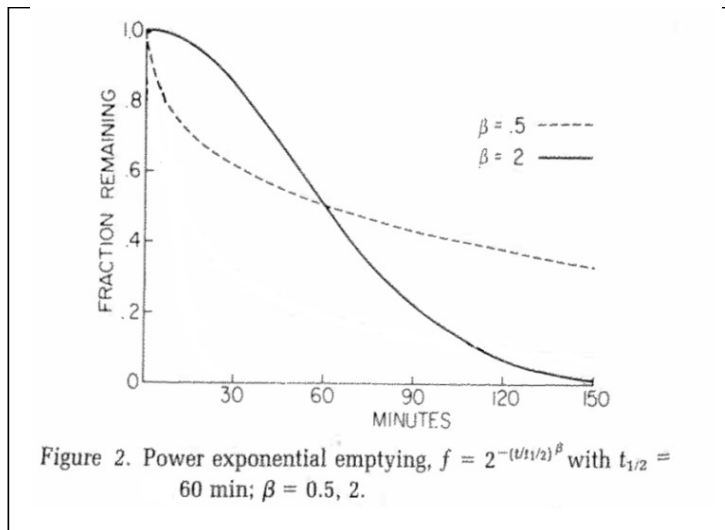


Figure 2 : Fraction restante dans l'estomac pour un aliment liquide (trait pointillé) et un aliment solide (trait plein). D'après Elashoff *et al.* (1982).

- Modélisation de l'acidification gastrique

Dans l'estomac, la production d'acide chlorhydrique (Figure 3) acidifie le chyme et contribue à la dégradation chimique de l'aliment. Cette acidité optimise également l'activité enzymatique car la pepsine a un optimum d'activité à pH=2 (Dipalma *et al.*, 1991) et la lipase gastrique à pH=5.5 (Ville *et al.*, 2002). Cette acidification est progressive et est fortement dépendante du pouvoir tampon de l'aliment.

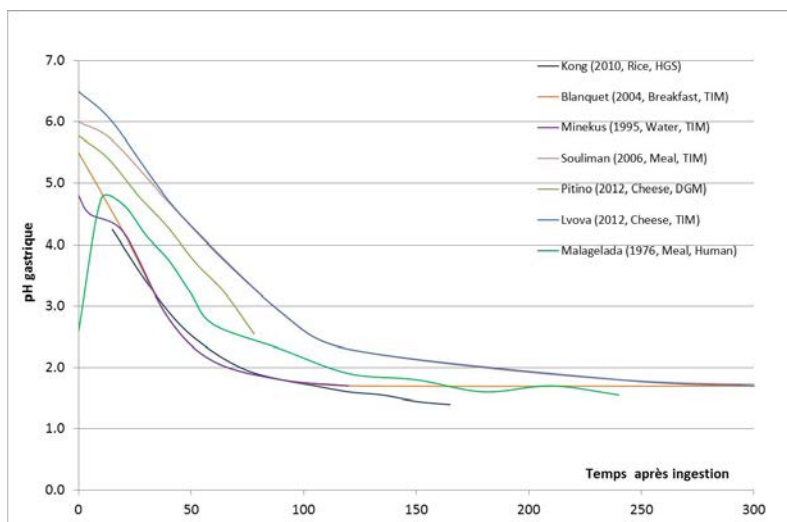


Figure 3 : Cinétique d'acidification gastrique

Ces données d'acidification gastrique, obtenues *in vivo* chez l'adulte ou utilisées sur des modèles *in vitro*, soulignent l'importance du pH initial du repas et de son pouvoir tampon sur la cinétique d'acidification gastrique. Globalement deux heures après l'ingestion le pH gastrique se situe autour de 2.

1.2.2 Modèles dynamiques : présentation de différents systèmes

Différents systèmes de digestion *in vitro* dynamiques ont été développés. Ils restent commercialement indisponibles ou très onéreux. Les différents modèles existant sont uni ou multi compartimentés et miment une ou plusieurs étapes de la digestion.

- **Modèles dynamiques stomacaux**

Modèle développé par Mercuri *et al.* (2011)

Ce modèle gastrique comporte deux étages (Figure 4). Le premier représente la partie haute de l'estomac (fundus ou corps de l'estomac) et le deuxième la partie basse (antrum). Au niveau de la partie haute, corps de l'estomac, le mélange de l'aliment avec les sécrétions gastriques est reproduit. La partie basse quant à elle, simule les forces de cisaillement permettant le broyage de l'aliment et la vidange gastrique. Un logiciel adapté pilote la régulation du pH, le flux de sécrétions gastriques et la vidange gastrique.

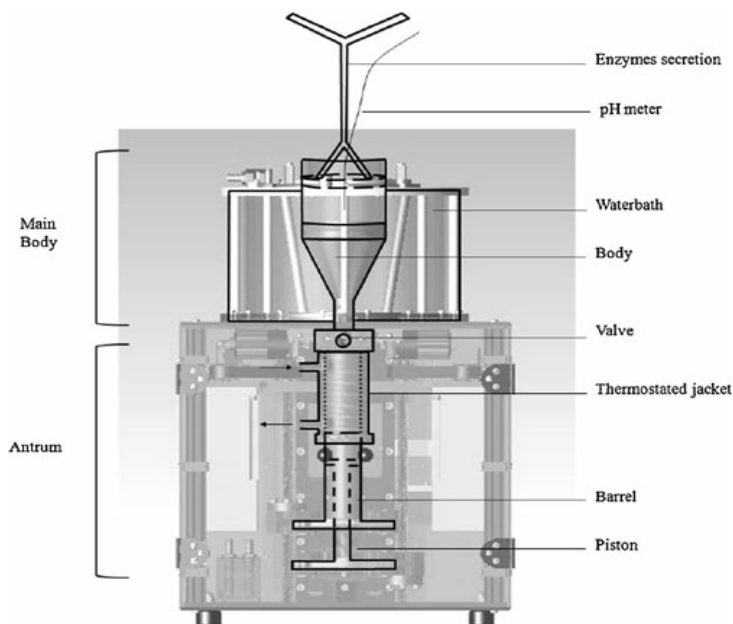


Figure 4 : DGM (Dynamic gastric model)

Modèle développé par Kong et Singh (2011)

Ce modèle (Figure 5) a été spécialement conçu pour mimer les forces de cisaillement appliquées à l'aliment dans l'estomac. Les ondes péristaltiques de l'estomac sont reproduites par un système de galets qui miment l'amplitude, la fréquence et l'intensité des ondes péristaltiques. Ces ondes, plus fortes notamment en bas du HGS, reproduisent les forces de contraction plus intenses au niveau du pylore nécessaires à la vidange du chyme vers l'intestin. Ce système simule également l'acidification gastrique, le flux de sécrétions. Ce système est le meilleur modèle pour l'étude *in vitro* de la déstructuration des aliments dans l'estomac. Ce modèle a été validé, par comparaison à des forces de contractions stomacales obtenues *in vivo*, pour simuler les forces de cisaillement stomacales.

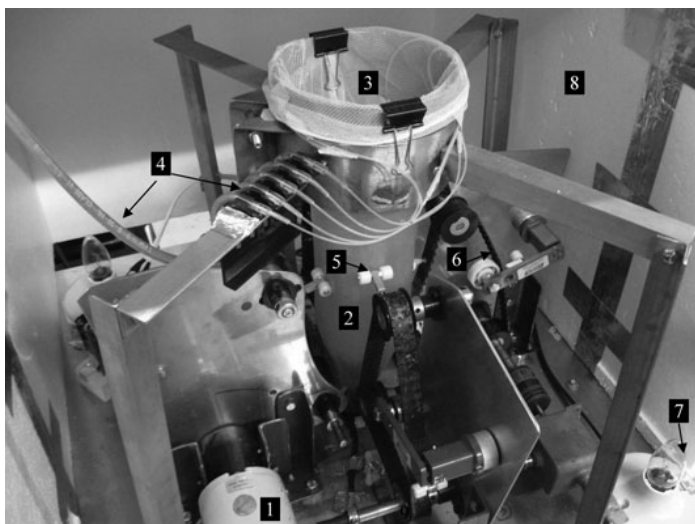


Figure 5 : HGS (Human gastric simulator)

- (1) Motor ; (2) latex lining ; (3) mesh bag ;
- (4) secretion tubing ; (5) roller ; (6) belt ;
- (7) light bulb for temperature control ;
- (8) plastic foam insulation

- **Modèles dynamiques gastro-intestinaux**

Les modèles gastro-intestinaux intègrent deux étapes de la digestion, la phase gastrique où l'aliment est broyé et subit des transformations chimiques et la phase intestinale où se déroule l'essentiel de la digestion chimique et l'absorption des nutriments.

Modèle développé par Minekus *et al.* (1995)

Le TIM-1 (TNO¹ Intestinal Model) (Figure 6) est le modèle gastro-intestinal le plus complet existant actuellement pour mimer les conditions digestives. Ce modèle comprend l'estomac et les trois parties de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon). Il permet de modéliser les paramètres essentiels de la digestion à savoir : le brassage du chyme, les vidanges gastrique et intestinale, l'acidification gastrique et la neutralisation du pH en phase intestinale, l'addition séquentielle des sécrétions digestives et l'absorption dans les parties intestinales de l'eau et des produits de digestion par un système de dialyse. Ce modèle a été validé par comparaison à des données *in vivo*.

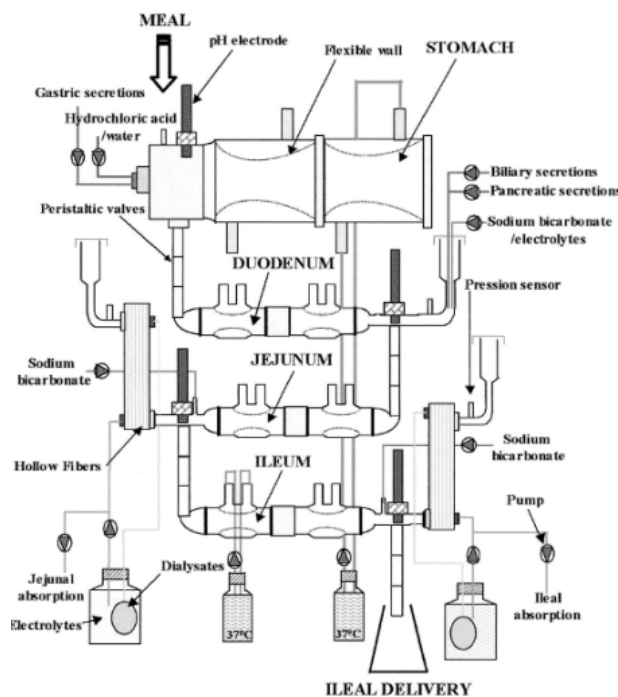


Figure 6 : TNO Intestinal Model (TIM-1)

Modèle développé par Ménard *et al.* (2014)

Ce modèle (Figure 7), bi-compartmental, développé récemment à l'INRA est un système simple, peu coûteux, pouvant s'adapter à différents types d'aliments. Il a été construit pour suivre la déconstruction et les cinétiques d'hydrolyse de l'aliment au cours d'une digestion simulée. Il reprend les parties hautes du système digestif, l'estomac et l'intestin. Pour le rendre physiologiquement pertinent, le logiciel associé à l'outil permet de piloter les vidanges gastriques et intestinales, la cinétique d'acidification gastrique, le flux de sécrétions et l'agitation dans les deux compartiments.

Ce système de digestion a été paramétré pour simuler notamment la digestion du nouveau-né. En s'appuyant sur une revue exhaustive des conditions digestives du nouveau-né (Bourlieu *et al.*, 2013), l'outil a été paramétré pour mimer au mieux l'acidification gastrique, les vidanges gastro-intestinales et les sécrétions enzymatiques du nouveau-né.

¹ Netherlands Organisation for Applied Scientific Research

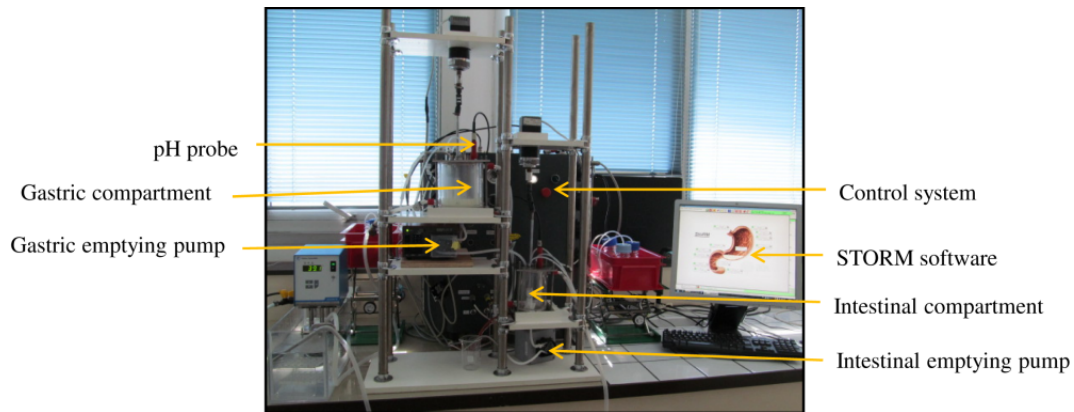


Figure 7 : Système dynamique de digestion gastro-intestinale DIDGI® (Digesteur gastro-intestinal)

Pour la validation de l'outil, la digestion d'une formule infantile, adaptée au besoin nutritionnel du porcelet, a été étudiée à la fois *in vitro*, sur système dynamique, et *in vivo*, sur porcelets. Cette expérimentation animale a été conduite sur 18 porcelets. Les cinétiques de digestion des protéines, obtenues *in vitro* ou *in vivo*, ont été suivies et comparées (Figure 8) (Ménard *et al.*, 2014).

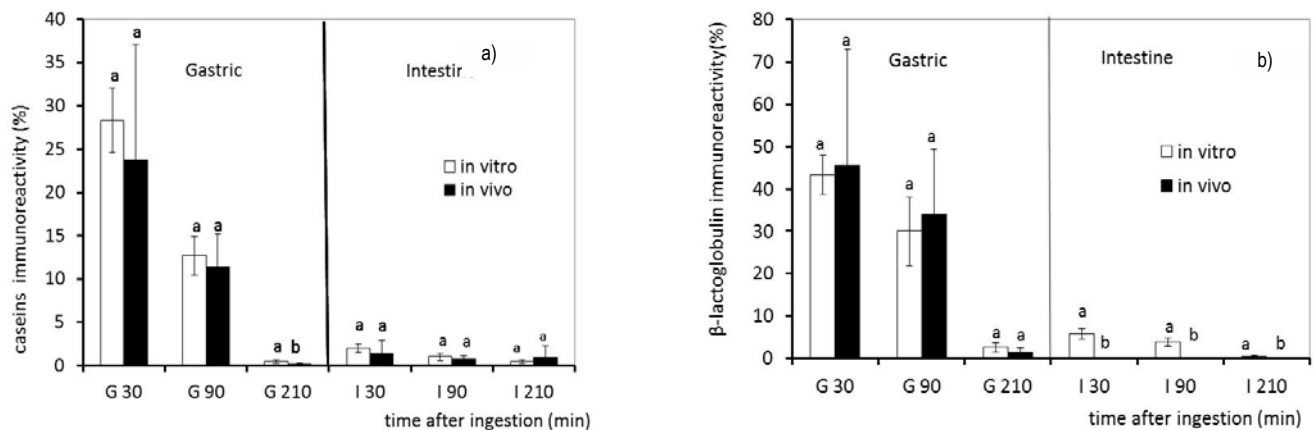


Figure 8 : Comparaison du pourcentage de caséines (a) de β -lactoglobuline (b) intactes après 30 min, 90 min et 210 min de digestion dans le compartiment gastrique (G) et l'intestin (I) entre les essais *in vitro* (□) et *in vivo* (■)

Les cinétiques de digestion des deux protéines majeures du lait, caséines et β -lactoglobuline, obtenues *in vitro* ou *in vivo*, sont comparables. La validation de ce digesteur a été une étape indispensable, elle permet de s'assurer de la pertinence physiologique de l'outil. En revanche, cet outil ne mime pas l'absorption car le compartiment intestinal n'est pas équipé de membranes de dialyse.

• Modèles coliques

Le gros intestin avec le microbiote intestinal qui y réside est un écosystème complexe qui joue un rôle dans la digestion humaine. Pour simuler cette étape, des systèmes *in vitro* recréent la flore intestinale pour mimer la partie colique du système digestif humain (Durand *et al.*, 1997).

L'objectif est de maintenir une population microbienne complexe sur une longue période (plusieurs semaines) par addition d'un milieu nutritif simulant les conditions nutritionnelles et biochimiques du chyme iléal et le retrait en parallèle d'une quantité équivalente du milieu fermentaire.

Modèle développé par Molly *et al.* (1993)

Ce système de digestion complet comporte six compartiments et mime le tractus digestif de l'estomac au colon (Figure 9). La partie colique est mimée par trois réacteurs en série. L'ensemble du système est maintenu en anaérobiose et la température et le pH sont contrôlés.

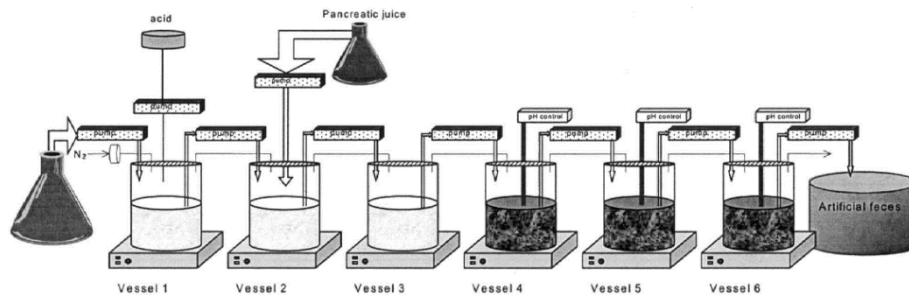


Figure 9 : SHIME(simulated Simulated Human Intestinal Microbial Ecosystem). Vessel 1 : estomac ; Vessel 2 et 3 : intestin ; Vessel 4 à 6 : colon

Un système différent (Figure 10) a également été développé par les chercheurs du TNO (Minekus *et al.*, 1999). Il permet l'élimination des métabolites et de l'eau tout en simulant le péristaltisme du gros intestin.

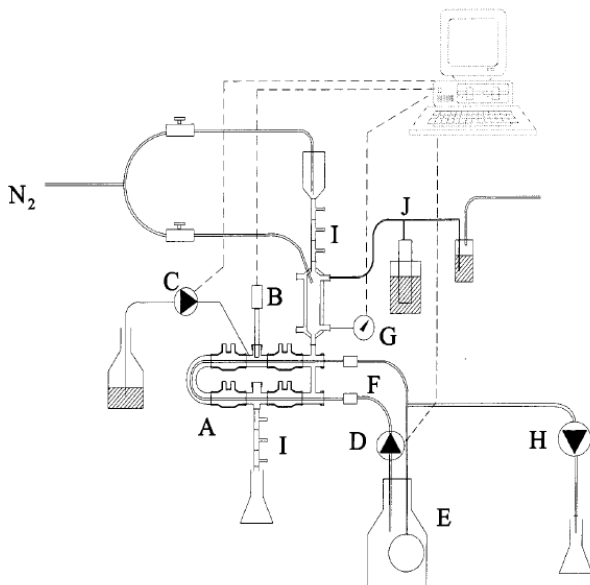


Figure 10 : Représentation schématique du système simulant les conditions du gros intestin

1.2.3 Bilan des modèles de digestion dynamiques

Contrairement aux modèles statiques, les modèles dynamiques reproduisent de façon plus pertinente les conditions digestives.

Ces modèles *in vitro* ont l'énorme avantage de ne pas poser de problème d'éthique. Les expérimentations sont répétées et reproductibles, contrairement aux expérimentations *in vivo* où la variabilité inter-individuelle nécessite d'avoir recours à un nombre important de sujets.

L'accès à des échantillons dans les différents compartiments, au cours du processus de digestion, permet d'obtenir des données sur le devenir de l'aliment tant en termes de cinétique de déstructuration, qu'en termes de cinétique d'hydrolyse des macronutriments. Plusieurs applications peuvent être envisagées avec ces systèmes *in vitro*. La bio-accessibilité de composés d'intérêt dans un aliment peut

être évaluée. De nombreuses études dans les domaines de la nutrition, la toxicologie, la pharmacologie ou encore la microbiologie ont été menées en utilisant ces systèmes de digestion *in vitro*. Ces outils présentent de nombreux avantages et peuvent être un bon tremplin avant d'aller vers des études *in vivo* chez l'homme ou l'animal. Pour s'assurer de la pertinence physiologique, des corrélations basées sur des comparaisons *in vitro/in vivo* de ces systèmes, s'avèrent indispensables.

Mais ces modèles, bien que très sophistiqués, ne reflètent pas complètement les conditions digestives de l'homme. Les mécanismes de rétropropulsion, les contrôles nerveux et les hormones liés à la digestion, sont des aspects qui ne peuvent pas être simulés.

Les revues de Wickham *et al.* (2009) et Guerra *et al.* (2012) synthétisent bien les atouts et les limites des différents systèmes de digestion *in vitro* existant.

2. Modèles *in vivo*

2.1 Les modèles animaux

Plusieurs espèces d'animaux ont permis d'accroître les connaissances scientifiques dans le domaine de la nutrition, en particulier le rat et le porc qui sont les plus fréquemment utilisées. De nombreuses études ont été réalisées sur le rat (Dardevet *et al.*, 2000). Le rat est un petit animal omnivore et monogastrique et a un tube digestif dont l'organisation générale est similaire à celui de l'homme : l'intestin grêle représente 81% de l'intestin total chez l'homme et 83% chez le rat (DeSesso *et al.*, 2001). Des différences anatomiques sont à souligner tout de même, l'estomac du rat comporte deux parties, l'une pour la digestion bactérienne et l'autre pour les sécrétions acides et enzymatiques.

Le rat produit en continu de la bile dans l'intestin. Son gros intestin est principalement représenté par un volumineux caecum. De plus, c'est un rongeur et il n'a pas les mêmes habitudes alimentaires que l'homme car il fractionne ses repas tout au long de la journée. Ce modèle animal a l'avantage d'être peu onéreux. Après euthanasie des animaux, des prélèvements dans les différents compartiments du tube digestif peuvent être réalisés mais de faibles quantités d'effluents sont récupérées. Généralement, ces études nécessitent de sacrifier un nombre important d'animaux.

Le modèle animal de prédilection utilisé actuellement pour les études nutritionnelles est le porc dont la physiologie du tube digestif est semblable à l'homme en termes de transit, d'efficacité digestive (Guilloteau *et al.*, 2010). Il peut ingérer une grande variété d'aliments et cela permet d'étudier un large panel d'aliments. Sous intervention chirurgicale, la pose de canules à différents niveaux du tube digestif et/ou de cathéter autorise l'accès à des effluents et/ou des prélèvements sanguins. Ces canules rendent possible la collecte d'effluents à différents temps post-prandiaux et à différents niveaux du tube digestif. Ces prélèvements permettent d'étudier parallèlement les cinétiques de déstructuration mais également d'hydrolyse des constituants de l'aliment après ingestion. Les mesures d'absorption des nutriments sont réalisées à partir des prélèvements sanguins, l'idéal étant d'effectuer ce prélèvement au niveau de la veine porte hépatique. Contrairement aux rats, les porcs canulés ne sont pas euthanasiés suite à l'ingestion de l'aliment et peuvent servir à plusieurs études. En raison de sa petite taille, de sa stabilité pondérale et sa facilité de manipulation, le mini-porc est actuellement de plus en plus utilisé pour les études nutritionnelles. Comme pour les porcs conventionnels, on peut leur implanter des cathéters et des canules à différents niveaux du tube digestif. Ce modèle a été utilisé dans une étude visant à comparer les cinétiques de digestion des protéines en fonction de la structure de l'aliment (Barbé *et al.*, 2013). Le porcelet est également utilisé comme modèle pour la digestion du nouveau-né. Ce modèle a été utilisé pour évaluer la vidange gastrique, la cinétique d'acidification gastrique suite à l'ingestion de repas à base de protéines de lait et/ou de soja (Moughan *et al.*, 1992) mais également, plus récemment, pour étudier la cinétique de digestion de formules infantiles (Bouzerzour *et al.*, 2012).

Le modèle porc nécessite d'avoir recours à du personnel qualifié, notamment pour les actes chirurgicaux ainsi que pour le suivi des animaux et le coût des études reste plus important que pour les études menées chez le rat. En fonction des objectifs de l'étude, le modèle animal à utiliser doit être réfléchi au regard des contraintes et des avantages liés à chaque modèle animal. Les études chez l'animal sont techniquement lourdes à mener, la variabilité entre individus est un inconvénient majeur et un nombre important d'animaux doit être inclus pour s'affranchir de cette variabilité.

2.2 Les sujets humains

Pour étudier la digestion chez l'homme, on a recours à des méthodes dites directes ou indirectes.

2.2.1 Méthodes directes

Le contenu digestif doit être recueilli par aspiration du chyme à l'aide de sonde naso-gastrique ou naso-intestinal. Cette méthode est invasive car un tube est inséré dans le nez du sujet, volontaire sain ou patient jusqu'à la cible digestive souhaitée. L'évaluation du pH stomacal, du volume résiduel de l'estomac peut être faite grâce à l'accès au contenu gastrique au cours de la digestion. L'accès aux contenus iléaux peut également se faire chez des patients iléostomisés, pour lesquels l'intestin a subi une dérivation et les effluents intestinaux sont alors récupérés dans une poche externe. Il faut tout de même souligner que ces patients souffrent de pathologies digestives de type inflammatoire mais des études ont reporté un niveau d'absorption similaire à celui de sujets sains.

Les prélèvements en cinétique après ingestion permettent d'évaluer l'hydrolyse des macronutriments.

Suivant la composition de l'aliment, la quantité de protéines intactes ou de triglycérides résiduels sont mesurées à différents temps post-prandiaux mais également les produits d'hydrolyse associés (peptides, acides aminés, ou acides gras libres, mono ou diglycérides) (Armand *et al.*, 1996 ; Gaudichon *et al.*, 1995 ; Roman *et al.*, 2007). L'emploi de marqueur non absorbable permet de dissocier la part alimentaire, de la part sécrétoire, la dilution du repas par les sécrétions peut être ainsi évaluée, de même que la vidange gastrique.

La digestibilité peut être mesurée soit au niveau de l'iléon soit au niveau des fèces. Elle est estimée à partir de la quantité de protéines, sucres ou lipides retrouvée dans l'iléon ou dans les fèces par rapport à la quantité présente dans l'aliment avant ingestion. Pour les protéines, le recours à des techniques de marquages est nécessaire pour permettre de distinguer les protéines alimentaires des protéines endogènes.

Parmi les méthodes d'imagerie, la scintigraphie est la technique d'imagerie la plus fréquemment utilisée pour suivre le bol alimentaire dans l'estomac. Cette méthode, décrite par Griffith *et al.* (1966), consiste à marquer l'aliment avec un radio-isotope, comme le technicium 99, qui se fixe à la phase solide de l'aliment. Par caméra à rayons gamma, la radioactivité est détectée et mesurée. Le suivi et l'évaluation de la vidange sont possibles par cette technique. Le recours à des marqueurs radio actifs limite ces études. La scintigraphie est utilisée également chez le porc pour évaluer la vidange gastrique suivant la nature de l'aliment ingéré (Malbert *et al.*, 1997). En modélisant les données obtenues, la fraction vidangée au cours du temps peut être tracée.

2.2.2 Méthodes indirectes

Pour mesurer la biodisponibilité, c'est à dire la quantité de nutriments digérés et absorbés et qui se retrouvent dans la circulation sanguine, des prises de sang sur les sujets à différents temps postprandiaux sont effectuées. Les cinétiques de digestion par mesure d'acides aminés, de triglycérides et de glucose dans le plasma sanguin sont évaluées. La difficulté réside dans la différenciation et l'évaluation des nutriments exogènes (origine alimentaire) et endogènes. Pour contourner ce problème un marqueur (isotope stable) peut être additionné au repas (Deglaire *et al.*, 2008).

L'accès à des effluents par sondes gastro-intestinales chez l'homme demeure une approche idéale pour des études en nutrition, mais les études chez l'homme restent rares en raison de contraintes

techniques et éthiques majeures. Le recours à des modèles animaux est possible, le rat comme le porc restent les modèles animaux les plus couramment utilisés actuellement. Dans les études *in vivo*, la grande variabilité individuelle nécessite d'inclure un nombre de sujets (animaux ou humains) important et rend l'étude lourde à mener. Le choix du modèle *in vivo* dépend de la question de recherche posée, de la faisabilité. Pour cela la maîtrise des atouts et des limites des différentes méthodes est indispensable afin d'appréhender au mieux le choix du modèle.

Références bibliographiques

- Aleinik S.I., Stan E.I., Chernikov M.P., 1986. Mechanism of inhibition of acid secretion into the stomach by peptides of kappa-casein. *Fiziologicheskii zhurnal SSSR imeni I.M.Sechenova* 72, 799-803.
- Almaas H., Cases A.L., Devold T.G., Holm H., Langsrud T., Aabakken L., Aadnoy T., Vegarud G.E., 2006. In vitro digestion of bovine and caprine milk by human gastric and duodenal enzymes. *International Dairy Journal* 16, 961-968.
- Armand M., Hamosh M., Mehta N.R., Angelus P.A., Philpott J.R., Henderson T.R., Dwyer N.K., Lairon D., Hamosh P., 1996. Effect of Human Milk or Formula on Gastric Function and Fat Digestion in the Premature Infant. *Pediatric Research* 40.
- Barbé F., Ménard O., Le Gouar Y., Buffière C., Famelart M.-H., Laroche B., Le Feunteun S., Dupont D., Rémond D., 2013. The heat treatment and the gelation are strong determinants of the kinetics of milk proteins digestion and of the peripheral availability of amino acids. *Food Chemistry* 136, 1203-1212.
- Bouzerzour K., Morgan F., Cuinet I., Bonhomme C., Jardin J., Le Huerou-Luron I., Dupont, D., 2012. In vivo digestion of infant formula in piglets: protein digestion kinetics and release of bioactive peptides. *British Journal of Nutrition* 108, 1-10.
- Chatterton D.E.W., Rasmussen J.T., Heegaard C.W., Sorensen E.S., Petersen T.E., 2004. In vitro digestion of novel milk protein ingredients for use in infant formulas: Research on biological functions. *Trends in Food Science and Technology* 15, 373-383.
- Dardevet D., Sornet C., Balage M., Grizard J., 2000. Stimulation of in vitro rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age. *Journal of Nutrition* 130, 2630-2635.
- Deglaire A., Moughan P.J., Bos C., Petzke K., Rutherford S.M., Tome D., 2008. A casein hydrolysate does not enhance gut endogenous protein flows compared with intact casein when fed to growing rats. *Journal of Nutrition* 138, 556-561.
- DeSesso J.M., Jacobson C.F., 2001. Anatomical and physiological parameters affecting gastrointestinal absorption in humans and rats. *Food and Chemical Toxicology* 39, 209-228.
- Dipalma J., Kirk C.L., Hamosh M., Colon A.R., Benjamin S.B., Hamosh P., 1991. Lipase and Pepsin Activity in the Gastric-Mucosa of Infants, Children, and Adults. *Gastroenterology* 101, 116-121.
- Dupont D., Mandalari G., Molle D., Jardin J., Rolet-Repecaud O., Duboz G., Leonil J., Mills E.N.C., Mackie A.R., 2010. Food processing increases casein resistance to simulated infant digestion. *Molecular Nutrition & Food Research* 54, 1677-1689.
- Dupont D., Mandalari G., Molle D., Jardin J., Leonil J., Faulks R.M., Wickham M.S.J., Mills E.N.C., Mackie A.R., 2010. Comparative resistance of food proteins to adult and infant in vitro digestion models. *Molecular Nutrition & Food Research* 54, 767-780.
- Durand M., Beaumatin P., Bulman B., Bernalier A., Grivet J.P., Serezat M., Gramet G., Lahaye M., 1997. Fermentation of green alga sea-lettuce (*Ulva* sp) and metabolism of its sulphate by human colonic microbiota in a semi-continuous culture system. *Reproduction Nutrition Development* 37, 267-283.
- Elashoff J.D., Reedy T.J., Meyer J.H., 1982. Analysis of Gastric-Emptying Data. *Gastroenterology* 83, 1306-1312.

- Gaudichon C., Mahe S., Roos N., Benamouzig R., Luengo C., Huneau J.F., Sick H., Bouley C., Rautureau J., Tome D., 1995. Exogenous and endogenous nitrogen flow-rates and level of protein hydrolysis in the human jejunum after [N-15]milk and [N-15]yogurt ingestion. *British Journal of Nutrition* 74, 251-260.
- Griffith G., Owen G., Kirkman S., Shields R., 1966. Measurement of rate of gastric emptying using chromium-51. *Lancet* 1, 1244-1245.
- Guerra A., Etienne-Mesmin L., Livrelli V., Denis S., Blanquet-Diot S., Alric M., 2012. Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion. *Trends in biotechnology* 30, 591-600.
- Guilloteau P., Zabielski R., Hammon H.M., Metges C.C., 2010. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? *Nutrition Research Reviews* 23, 4-22.
- Hur S.J., Lim B.O., Decker E.A., McClements D.J., 2011. In vitro digestion models for food applications. *Food Chemistry* 125, 1-12.
- Hur S.J., Decker E.A., McClements D.J., 2009. Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during in vitro digestion. *Food Chemistry* 114, 253-262.
- Kong F., Singh R.P., 2011. A Human Gastric Simulator (HGS) to Study Food Digestion in Human Stomach (vol 75, pg E627, 2010). *Journal of Food Science* 76, VIII-VIII.
- Malbert C.H., Mathis C., Bobillier E., Laplace J.P., Horowitz M., 1997. Measurement of gastric emptying by intragastric gamma scintigraphy. *Neurogastroenterology and Motility* 9, 157-165.
- McClements D.J., Li Y., 2010. Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & Function* 1, 32-59.
- Menard O., Cattenoz T., Guillemin H., Souchon I., Deglaire A., Dupont D., Picque D., 2014. Validation of a new in vitro dynamic system to simulate infant digestion. *Food Chemistry* 145, 1039-1045.
- Minekus M., Marteau P., Havenaar R., Huisintveld J.H.J., 1995. A Multicompartmental Dynamic Computer-Controlled Model Simulating the Stomach and Small-Intestine. *Atla-Alternatives to Laboratory Animals* 23, 197-209.
- Minekus M., Smeets-Peeters M., Bernalier A., Marol-Bonnin S., Havenaar R., Marteau P., Alric M., Fonty G., Veld J., 1999. A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53, 108-114.
- Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carriere F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., 2014. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food & Function* 9, in press.
- Molly K., Woestyne M.V., Verstraete W., 1993. Development of A 5-Step Multichamber Reactor As A Simulation of the Human Intestinal Microbial Ecosystem. *Applied Microbiology and Biotechnology* 39, 254-258.
- Moreno F.J., Quintanilla-Lopez J.E., Lebron-Aguilar R., Olano A., Sanz M.L., 2008. Mass spectrometric characterization of glycated beta-lactoglobulin peptides derived from galacto-oligosaccharides surviving the in vitro gastrointestinal digestion. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 19, 927-937.
- Moughan P.J., Birtles M.J., Cranwell P.D., Smith W.C., Pedraza M., 1992. The piglet as a model animal for studying aspects of digestion and absorption in milk-fed human infants. *World Review of Nutrition and Dietetics* 67, 40-113.
- Oomen A.G., Rompelberg C.J.M., Bruil M.A., Dobbe C.J.G., Pereboom D.P.K.H., Sips A.J.A.M., 2003. Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 44, 281-287.
- Roman C., Carriere F., Villeneuve P., Pina M., Millet V., Simeoni U., Sarles J., 2007. Quantitative and qualitative study of gastric lipolysis in premature infants: Do MCT-enriched infant formulas improve fat digestion? *Pediatric Research* 61, 83-88.

Versantvoort C.H.M., Oomen A.G., Van de Kamp E., Rompelberg C.J.M., Sips A.J.A.M., 2005. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food and Chemical Toxicology* 43, 31-40.

Ville E., Carriere F., Renou C., Laugier R., 2002. Physiological study of pH stability and sensitivity to pepsin of human gastric lipase. *Digestion* 65, 73-81.

Wickham M., Faulks R., Mills C., 2009. In vitro digestion methods for assessing the effect of food structure on allergen breakdown. *Molecular Nutrition & Food Research* 53, 952-958.