



HAL
open science

Modélisation comportementale du métabolisme interrégional de l'azote alimentaire et des cinétiques de l'urée à l'état nourri non stationnaire chez l'homme

Barbara Juillet

► **To cite this version:**

Barbara Juillet. Modélisation comportementale du métabolisme interrégional de l'azote alimentaire et des cinétiques de l'urée à l'état nourri non stationnaire chez l'homme. Life Sciences [q-bio]. INAPG (AgroParisTech), 2006. English. NNT : 2006INAP0031 . pastel-00002662

HAL Id: pastel-00002662

<https://pastel.hal.science/pastel-00002662>

Submitted on 4 Jul 2007

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.

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARIS-GRIGNON

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE PARIS-GRIGNON

Présentée et soutenue publiquement

par

Barbara JUILLET

Ingénieur de l'École Polytechnique

Ingénieur de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon

Le 21 décembre 2006

**MODÉLISATION COMPARTIMENTALE DU MÉTABOLISME INTER-
RÉGIONAL DE L'AZOTE ALIMENTAIRE ET DES CINÉTIQUES DE
L'URÉE À L'ÉTAT NOURRI NON-STATIONNAIRE CHEZ L'HOMME**

Directeur de thèse : Daniel Tomé

JURY

Pr. Daniel Tomé	Président
Pr. Bernard Sève	Rapporteur
Dr. Jean-Luc Gouzé	Rapporteur
Dr. Jaap van Milgen	Examineur
Pr. Jean-Jacques Daudin	Examineur
Dr. Hélène Fouillet	Examineur

COLLABORATIONS ET REMERCIEMENTS

Ce travail de recherche (Allocation de Moniteur Polytechnicien, AMX) a été effectué au sein de l'UMR INRA INA-PG 914 de Physiologie de la Nutrition et du Comportement Alimentaire (PNCA) à l'INA-PG, sous la direction du Pr. Daniel Tomé, directeur du laboratoire.

Je remercie sincèrement Daniel Tomé de m'avoir accueillie dans son laboratoire et de m'avoir fait confiance dans la réalisation de mes projets de thèse.

Je tiens à remercier l'École Polytechnique pour m'avoir accordé une allocation de recherche qui a assuré mon financement personnel pendant trois ans.

Je remercie également le Pr. Bernard Sève et le Dr. Jean-Luc Gouzé de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de ce travail, ainsi que le Dr. Jacob van Milgen et le Pr. Jean-Jacques Daudin d'avoir accepté de participer à ce jury.

Toute ma reconnaissance et mes plus chaleureux remerciements vont plus particulièrement à Hélène Fouillet qui a assuré le co-encadrement de ma thèse et m'a soutenue par sa disponibilité et son aide, toujours précieuse. Je la remercie de m'avoir guidée et de m'avoir tant appris au cours de ces trois années. Je la remercie également pour nos échanges passionnants, pour sa participation et pour son aide dans notre tentative commune de faire communiquer entre elles deux disciplines qui me sont chères, les mathématiques et la biologie.

Je remercie également Claire Gaudichon pour sa participation à ce travail, pour son soutien et pour sa gentillesse pendant ces trois années.

Toute ma reconnaissance va également à François Mariotti pour nos discussions scientifiques fructueuses, et pour sa bonne humeur qui aura égayé mon travail tout du long.

Merci enfin à Cécile Bos pour sa gentillesse et son aide toujours efficace et chaleureuse.

Les expérimentations cliniques qui ont fourni les données expérimentales utilisées dans ces travaux ont été menées dans le service de Gastro-Entérologie du Pr. Benamouzig, Hôpital Avicenne, Bobigny (93). Tous mes remerciements vont à l'ensemble des personnes qui ont participé à la mise en place des protocoles et à l'obtention des données expérimentales, et en particulier à Robert Benamouzig, Cécile Bos, Sophie Daré, Claire Gaudichon, Catherine Luengo, Sylvain Mahé, Céline Morens et Maria Pueyo. Ces diverses expérimentations ont pu être menées grâce au soutien financier de Danone et de l'ITCF, que je remercie ici vivement.

Je remercie par ailleurs Daniel Tomé et Hélène Fouillet de m'avoir encouragée à participer au Centre d'Été 2004 de Mathématiques et de Recherche Avancées en Calcul Scientifique sur le thème des « Mathématiques et Applications en Biologie et en Médecine », organisé par Jean-Frédéric Gerbeau (INRIA Rocquencourt) et Éric Cancès (Ponts et Chaussées). Ce centre d'été a été un lieu de discussions passionnantes et très enrichissantes qui m'a permis de confronter mes travaux de modélisation en physiologie de la nutrition à ceux de mathématiciens ou modélisateurs s'intéressant à d'autres systèmes biologiques ou physiologiques. En particulier, je suis reconnaissante à Antoine Gloria (en thèse au CERMICS, Ponts et Chaussées) pour m'avoir fait connaître cette école d'été, à Éric Cancès pour m'avoir fait grandement profiter de ses idées et de ses compétences, et à Julien Salomon (en thèse au laboratoire Jacques Louis Lions, Paris VI) pour notre collaboration fructueuse.

Enfin, je veux remercier toutes les personnes du laboratoire que j'ai eu le plaisir de côtoyer durant ces trois années : Anne Blais, Nicolas Darcel, Sophie Daré, Fabienne Decuq, Michel Dubarry, Patrick Even, Rodolphe Faipoux, Romy Fisher, Marianne François-Collange, Gilles Fromentin, Benjamin Guesdon, Dominique Hermier, Jean-François Huneau, Magali Lacroix, Christiane Larue-Achiagotis, Géraldine Leforestier, Dominique Lucenay, Catherine Luengo, Joëlle Magne, Véronique Mathé...

Plus particulièrement, je tiens à remercier Clémence Blouet et Amélie Deglaire pour leur amitié, leur gentillesse et leur soutien au cours de ma thèse, je les remercie de m'avoir aidée à rebondir dans les moments difficiles et de m'avoir apporté le plaisir quotidien de leur bonne humeur et de leurs rires.

TABLE DES MATIÈRES

<i>Liste des figures</i>	8
<i>Liste des tableaux</i>	12
<i>Liste des fiches techniques</i>	14
<i>Liste des abréviations</i>	15
<i>Liste des articles et communications</i>	16

INTRODUCTION GÉNÉRALE..... 19

A. DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA DISTRIBUTION ET LE METABOLISME REGIONAL DE L'AZOTE ALIMENTAIRE EN PHASE POSTPRANDIALE 24

1. Mise à disposition et métabolisme régional de l'azote et des AA à l'état nourri	24
1.1. Processus de mise à disposition de l'azote issu des protéines alimentaires	24
1.1.1. Digestion et absorption intestinale des protéines alimentaires	25
<i>i. Différentes étapes</i>	25
<i>ii. Aspects cinétiques</i>	26
<i>iii. Bilan d'absorption</i>	27
1.1.2. Identification et devenir de l'azote dans le côlon.....	27
<i>i. Métabolisme colique des AA</i>	27
<i>ii. Recyclage entéro-hépatique de l'urée</i>	28
1.2. Métabolisme splanchnique à l'état nourri	29
1.2.1. Extraction et métabolisme splanchnique des AA alimentaires.....	29
<i>i. Extraction splanchnique des AA alimentaires</i>	29
<i>ii. Utilisation des AA alimentaires pour les protéosynthèses splanchniques</i>	30
1.2.2. Coopération et rôles respectifs de l'intestin et du foie dans le métabolisme splanchnique.....	31
<i>i. Métabolisme intestinal</i>	31
<i>ii. Métabolisme hépatique</i>	32
<i>iii. Importance relative de l'intestin et du foie dans le métabolisme splanchnique</i>	33
<i>iv. Utilisation relative des AA alimentaires et endogènes pour les synthèses intestinales et hépatiques</i>	34
1.2.3. Modulation des vitesses de renouvellement des protéines de l'intestin et du foie à l'état nourri	34
<i>i. Renouvellement des protéines intestinales</i>	35
<i>ii. Renouvellement des protéines hépatiques</i>	35
1.2.4. Mécanismes de l'anabolisme splanchnique postprandial : rôles de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie.....	36
1.3. Métabolisme périphérique à l'état nourri	38
1.3.1. Extraction et métabolisme périphérique des AA alimentaires	38

1.3.2.	Modulation des vitesses de renouvellement des différentes protéines périphériques à l'état nourri.....	39
i.	<i>Vitesses de renouvellement des différentes protéines périphériques.....</i>	39
ii.	<i>Modulation des vitesses de renouvellement des protéines périphériques à l'état nourri.....</i>	40
1.3.3.	Anabolisme musculaire postprandial : rôles spécifiques de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie dans la régulation des cinétiques protéiques musculaires.....	40
i.	<i>Rôle de l'hyperaminoacidémie sur les cinétiques protéiques musculaires.....</i>	41
ii.	<i>Rôle spécifique de l'hyperinsulinémie sur les cinétiques protéiques musculaires.....</i>	42
1.4.	Métabolisme inter-organes, protéines labiles, homéostasie	43
2.	Modulations alimentaires du métabolisme régional de l'azote et des AA	44
2.1.	Influence de la nature et de la quantité des protéines alimentaires	45
2.1.1.	Influence du niveau d'apport protéique.....	45
i.	<i>Effet de l'hyperaminoacidémie postprandiale : modulation de l'orientation métabolique des AA par la taille des pools précurseurs</i>	<i>45</i>
ii.	<i>Réponses métaboliques à une modification aiguë de l'apport protéique</i>	<i>46</i>
iii.	<i>Réponses métaboliques à des variations chroniques de l'apport protéique.....</i>	<i>46</i>
2.1.2.	Influence de la nature de la source protéique et de sa composition en AA	48
i.	<i>Effets de la nature des protéines alimentaires sur le métabolisme régional</i>	<i>48</i>
ii.	<i>Notion de qualité protéique</i>	<i>49</i>
2.1.3.	Influence des cinétiques de mise à disposition des protéines alimentaires.....	50
2.2.	Influence de la quantité et de la nature des nutriments énergétiques non protéiques du repas ..	52
2.2.1.	Rôle sur l'oxydation des AA.....	52
2.2.2.	Rôle sur l'extraction splanchnique des AA alimentaires et les cinétiques protéiques régionales	53
B.	ETAT DES LIEUX SUR LA MODELISATION COMPARTIMENTALE DU MÉTABOLISME DES PROTÉINES, DES AA ET DE L'AZOTE	55
1.	Les modèles compartimentaux.....	55
1.1.	Définitions	55
1.2.	Principes et formalisme.....	56
1.2.1.	Principe de conservation de la masse et formulation générale du problème	56
1.2.2.	Modèles linéaires et non linéaires.....	57
1.2.3.	Outils logiciels	58
1.3.	Structures, valeurs et états particuliers	59
1.3.1.	Structures particulières.....	59
1.3.2.	Durée de vie et temps de résidence moyen dans un compartiment	59
1.3.3.	Etat stationnaire	60
1.3.4.	Notion de renouvellement de la substance présente dans un compartiment.....	60
2.	Application de la modélisation compartimentale à l'étude du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote.....	61
2.1.	Variété des objectifs d'application des modèles compartimentaux.....	61
2.2.	Application des modèles compartimentaux à des données cinétiques de traceur	63

2.3. Application des modèles compartimentaux à l'étude de la digestion et du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote	64
2.3.1. Développement et optimisation de stratégies alimentaires chez l'animal	64
2.3.2. Estimation des vitesses de renouvellement des différents pools protéiques à l'état stationnaire chez l'animal	66
2.3.3. Modélisation du métabolisme des protéines et des AA à l'état stationnaire chez l'homme	67
i. <i>Modèles globaux</i>	67
ii. <i>Modèles régionaux</i>	68
2.3.4. Modélisation du métabolisme de l'azote à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme.....	69
2.3.5. Modélisation des cinétiques de l'urée chez l'homme et chez l'animal	71

C. DEMARCHE DE LA MODELISATION COMPARTIMENTALE : METHODES ET LIMITES..... 74

1. Détermination de la structure et identifiabilité théorique	75
1.1. Détermination de la structure	75
1.1.1. Gestion de la complexité des systèmes métaboliques étudiés	75
1.1.2. Différentes approches utilisées pour déterminer la structure d'un modèle.....	77
1.1.3. Discrimination de différentes structures candidates	78
1.2. Identifiabilité théorique (<i>a priori</i>)	80
1.2.1. Position du problème et définition	80
1.2.2. Méthodes et outils.....	81
1.2.3. Gestion pratique des problèmes d'identifiabilité théorique.....	82
2. Estimation des paramètres et identifiabilité numérique	83
2.1. Estimation des paramètres	84
2.1.1. Différentes approches et estimateurs.....	84
i. <i>Méthode des moindres carrés</i>	84
ii. <i>Approche fishérienne</i>	84
iii. <i>Approche bayésienne</i>	85
iv. <i>Influence de l'estimateur choisi : moindres carrés vs. maximum de vraisemblance</i>	86
2.1.2. Méthodes d'optimisation.....	88
i. <i>Méthodes locales</i>	89
ii. <i>Méthodes globales</i>	90
2.1.3. L'estimation des paramètres en pratique.....	92
2.2. Identifiabilité numérique (<i>a posteriori</i>)	94
2.2.1. Position du problème	94
2.2.2. Méthodes.....	95
2.2.3. Gestion pratique des problèmes d'identifiabilité numérique.....	96
2.3. Validation du modèle sélectionné	97
2.3.1. Validation interne	97
2.3.2. Validation externe.....	97

<i>i. Notion de plausibilité.....</i>	<i>98</i>
<i>ii. Notion d'utilité.....</i>	<i>99</i>

CONCLUSIONS ET JUSTIFICATION DES TRAVAUX	101
---	------------

TRAVAUX PERSONNELS	105
---------------------------------	------------

DISCUSSION.....	144
------------------------	------------

CONCLUSION GÉNÉRALE.....	166
---------------------------------	------------

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	169
--	------------

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** : Propulsion, broyage et rétropulsion des solides sous l'action des ondes de contractions péristaltiques dans l'estomac distal.
- Figure 2** : Digestion et absorption intestinale des protéines.
- Figure 3** : Profils de l'évacuation gastrique des phases solide et liquide d'un repas mixte chez l'homme.
- Figure 4** : Absorptions gastro-jéjunale et gastro-iléale de l'azote alimentaire après l'ingestion de protéines de pois chez l'homme.
- Figure 5** : L'ammoniaque dans l'intestin et le recyclage entéro-hépatique de l'urée.
- Figure 6** : Devenir métabolique de l'urée produite au niveau hépatique et quantification de son recyclage entéro-hépatique.
- Figure 7** : Disponibilité portale des AA chez le porc.
- Figure 8** : Différentes voies d'alimentation en AA des organes splanchniques.
- Figure 9** : Corrélation entre le taux de synthèse et le taux de dégradation des protéines de la peau et du muscle chez le lapin.
- Figure 10** : Évolution des taux de synthèse des protéines musculaires en phase postabsorptive et pendant la perfusion intraveineuse constante d'un mélange d'AA chez l'homme.
- Figure 11** : Rôles de l'hyperinsulinémie et de l'hyperaminoacidémie dans la régulation des cinétiques protéiques musculaires chez le rat.
- Figure 12** : Échange d'AA entre la zone splanchnique et la zone périphérique à l'état postabsorptif chez l'homme.
- Figure 13** : Schéma du trafic inter-organes d'AA après l'ingestion d'un repas protéique chez l'homme.
- Figure 14** : Bilans splanchniques et musculaires des AA à chaîne ramifiée (BCAA) et non ramifiée (N-BCAA) avant et après l'ingestion d'un repas mixte chez l'homme.
- Figure 15** : Cycles de l'équilibre azoté dans l'organisme.
- Figure 16** : Relation entre le niveau habituel d'apport azoté et la production d'urée chez le jeune adulte (n=34) pour une large gamme d'apports.
- Figure 17** : Relation entre le niveau habituel d'apport azoté et la production d'urée sous différentes conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques chez l'homme.

- Figure 18** : Profils de la production d'urée pour différents niveaux d'apport protéique chez l'homme.
- Figure 19** : Devenir postprandial de l'azote dans le foie chez des rats adaptés à des régimes modérément hypoprotéique vs. modérément hyperprotéique.
- Figure 20** : Taux de synthèse de certaines protéines intestinales et hépatiques exportées vers le plasma, à différents niveaux d'apport protéique.
- Figure 21** : Utilisation postprandiale protéique nette des protéines de lait vs. soja à différents niveaux d'apport protéique chez l'homme.
- Figure 22** : Concentration plasmatique de leucine après l'ingestion d'un repas contenant des caséines vs. protéines de lactosérum chez l'homme.
- Figure 23** : Turnover quotidien des différentes sources d'énergie dans l'organisme (protéines, triglycérides et glycogène) et leur contribution respective à la consommation journalière d'énergie chez l'homme.
- Figure 24** : Excrétion urinaire d'azote chez l'homme pour différents niveaux d'apport en glucides.
- Figure 25** : Modélisation compartimentale d'un système métabolique.
- Figure 26** : Concept général de la modélisation du métabolisme des nutriments.
- Figure 27** : Schéma général du $i^{\text{ème}}$ compartiment d'un modèle compartimental linéaire à coefficients constants.
- Figure 28** : Deux structures particulières des modèles compartimentaux.
- Figure 29** : Durée de demi-vie et durée de vie moyenne d'une substance dans un compartiment.
- Figure 30** : Vitesse et temps de renouvellement d'une substance dans un compartiment à l'état stationnaire.
- Figure 31** : Modèle des métabolismes protéique et énergétique chez le veau préruminant en croissance.
- Figure 32** : Modèle à 16 compartiments du renouvellement protéique estimé à partir du flux de leucine à l'état stationnaire chez le chien.
- Figure 33** : Modèle à 6 compartiments du renouvellement protéique estimé à partir du flux de leucine à l'état stationnaire chez la souris.
- Figure 34** : Modèle à 10 compartiments du métabolisme de la leucine et de son produit de transamination l'acide céto-isocaproïque (KIC) à l'état stationnaire chez l'homme.

- Figure 35** : Modélisation des flux splanchniques et périphériques de leucine à l'état stationnaire chez l'homme après l'ingestion fractionnée d'un repas sans protéines (A) ou d'un repas complet (B).
- Figure 36** : Modèle à 6 compartiments des cinétiques protéiques musculaires à l'état stationnaire chez l'homme.
- Figure 37** : Modèle à 3 compartiments des cinétiques protéiques musculaires à l'état stationnaire chez l'homme.
- Figure 38** : Modèle à 3 compartiments des cinétiques protéiques corporelles à l'état non stationnaire chez l'enfant.
- Figure 39** : Modèles compartimentaux de la distribution et du métabolisme de l'azote alimentaire à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme.
- Figure 40** : Modèle à 1 compartiment des cinétiques de l'urée à l'état stationnaire chez l'homme.
- Figure 41** : Modèle à 2 compartiments des cinétiques de l'urée à l'état stationnaire chez l'homme.
- Figure 42** : Modèle à 2 compartiments des cinétiques d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée à l'état stationnaire chez le chat.
- Figure 43** : Modèle à 6 compartiments des cinétiques de rétention de l'azote alimentaire et des cinétiques de l'urée pendant les phases postprandiale et postabsorptive à l'état stationnaire chez l'homme.
- Figure 44** : Différentes étapes de l'identification d'un modèle.
- Figure 45** : Démarche de l'analyse compartimentale.
- Figure 46** : Le paradigme « garbage in - garbage out ».
- Figure 47** : Principe de l'estimation des paramètres d'un modèle compartimental.
- Figure 48** : Différents types de minima (local et global) de la fonction objectif rencontrés pendant l'optimisation.
- Figure 49** : La courbure de la fonction objective autour du minimum global est un indicateur de la précision avec laquelle les paramètres ont été estimés.
- Figure 50** : Technique de perfusion intestinale chez le volontaire sain.
- Figure 51** : Protocole expérimental de nos études cliniques chez l'homme.
- Figure 52** : Schéma du modèle de la vidange gastrique d'un repas solide.
- Figure 53** : Valeurs observées vs. valeurs prédites pour le contenu stomacal en azote alimentaire par différents modèles linéaires de la vidange gastrique.

- Figure 54** : Différentes structures de modèle candidates pour l'analyse compartimentale de données de traceur concernant la distribution postprandiale de l'azote alimentaire après l'ingestion d'un repas constitué de protéines de blé chez l'homme.
- Figure 55** : Modèle compartimental décrivant la distribution postprandiale et le métabolisme régional de l'azote alimentaire après l'ingestion d'un repas mixte solide contenant des protéines de blé chez l'homme.
- Figure 56** : Simulations par le modèle sélectionné des cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans l'estomac et dans les compartiments des AA libres et protéines splanchniques.
- Figure 57** : Prédications par le modèle sélectionné de la distribution postprandiale de l'azote alimentaire entre les différents compartiments de rétention et d'élimination d'azote de l'organisme.
- Figure 58** : Contenu stomacal en azote alimentaire après l'ingestion de repas protéiques mixtes liquides et solides chez l'homme.
- Figure 59** : Utilisation postprandiale protéique nette des protéines de lait, de soja et de blé à différents niveaux d'apport protéique chez l'homme.
- Figure 60** : Flux d'absorption intestinale et d'utilisation splanchnique catabolique et anabolique de l'azote alimentaire après l'ingestion de protéines de lait vs. soja à différents niveaux d'apport protéique.
- Figure 61** : Corrélation entre le taux d'absorption intestinale proximale de l'azote alimentaire et les taux d'utilisation splanchnique pour la production d'urée et les synthèses protéiques locales chez des sujets ayant ingéré des protéines de lait ou de soja après adaptation à un régime normoprotéique (NP) ou hyperprotéique (HP).
- Figure 62** : Utilisation splanchnique de l'azote alimentaire pour la production d'urée et recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique produit après l'ingestion de repas mixtes contenant différentes protéines alimentaires chez l'homme – prédictions des modèles globaux du métabolisme postprandial inter-régional de l'azote alimentaire.
- Figure 63** : Modèle à 4 compartiments des cinétiques de l'urée d'origines alimentaire et totale à l'état nourri non stationnaire chez l'homme.
- Figure 64** : Corrélation entre l'hydrolyse et la production postprandiales d'urée chez des sujets adaptés à un régime normoprotéique (NP) ou hyperprotéique (HP).

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1** : Évacuation gastrique de l'énergie après l'ingestion de repas de différentes compositions et énergies chez le singe.
- Tableau 2** : Évacuation gastrique, flux entrant dans le jéjunum et flux d'absorption par le jéjunum de l'énergie et des protéines après l'ingestion de repas de différentes compositions chez le porcelet.
- Tableau 3** : Temps de demi-vidange gastrique de repas de différentes compositions et énergies sous différentes conditions physiopathologiques chez l'homme.
- Tableau 4** : Métabolisme splanchnique de l'azote et des AA alimentaires à l'état nourri.
- Tableau 5** : Métabolisme intestinal et hépatique de l'azote et des AA alimentaires à l'état nourri.
- Tableau 6** : Effet de l'état nutritionnel sur les taux de renouvellement de différents pools protéiques corporels chez l'homme.
- Tableau 7** : Métabolisme périphérique de l'azote et des AA alimentaires à l'état nourri.
- Tableau 8** : Production, excrétion et hydrolyse de l'urée pour différents niveaux d'apport et sous différentes conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques chez l'homme.
- Tableau 9** : Évacuation gastrique de l'azote après l'ingestion de repas contenant différentes sources protéiques chez l'homme.
- Tableau 10** : Digestibilité, PD-CAAS, UPPN et VB de différentes protéines alimentaires.
- Tableau 11** : Utilisation anabolique de l'azote alimentaire dans les zones splanchniques et périphériques après l'ingestion d'un repas protéique mixte sous forme de bolus : comparaison des résultats de modélisation et des données de la littérature obtenus chez l'homme et chez l'animal.
- Tableau 12** : Résultats de modélisation concernant l'influence de la source protéique dans le repas et du niveau habituel d'apport protéique sur l'utilisation métabolique postprandiale de l'azote alimentaire chez l'homme.
- Tableau 13** : Prédications du modèle régional (article 8) : influence de la source protéique dans le repas et du niveau habituel d'apport protéique sur la production, l'excrétion et l'hydrolyse postprandiales d'urée totale et d'urée d'origine alimentaire.

Tableau 14 : Prédiction du modèle global (articles 6 et 7) : influence de la source protéique dans le repas et du niveau habituel d'apport protéique sur la production, l'excrétion et l'hydrolyse postprandiales d'urée d'origine alimentaire.

Tableau 15 : Prédiction du modèle régional (article 8) : influence de la source protéique dans le repas et du niveau habituel d'apport protéique sur les taux de transfert d'azote alimentaire entre les compartiments du modèle.

LISTE DES FICHES TECHNIQUES

FT1 : Lois linéaires et non linéaires.

FT2 : Formulation mathématique et solutions analytiques des modèles compartimentaux linéaires à coefficients constants.

FT3 : Méthodes numériques d'intégration des équations différentielles ordinaires du premier ordre.

FT4 : Discrimination de structures candidates : critères objectifs et tests statistiques.

FT5 : Identifiabilité théorique.

FT6 : Estimateur des moindres carrés.

FT7 : Estimateur du maximum de vraisemblance.

FT8 : Optimisation locale : principes et algorithmes.

FT9 : Algorithme du simplexe de Nelder-Mead.

FT10 : Analyse de sensibilité.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA : acides aminés

AACR : acides aminés à chaîne ramifiée

AAG : acides aminés glucoformateurs

EDO : équations différentielles ordinaires

vs. : *versus*

LISTE DES ARTICLES ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS PRÉSENTÉES DANS CE MANUSCRIT :

➤ Développements méthodologiques

Juillet B, Fouillet H, Gaudichon C, Bos C, & Tomé D (**soumis**). Parameter estimation for linear compartmental models – A sensitivity analysis approach.

Juillet B, Saccomani MP, Gaudichon C, Bos C, Tomé D, & Fouillet H (**2006**). Multicompartmental modeling of a complex physiological system: special emphasis on the steps of *a priori* identifiability and parameter estimation. *Lecture Note in Control and Information Sciences* 341: 121-128.

Juillet B, Saccomani MP, Bos C, Gaudichon C, Tomé D, & Fouillet H (**2006**). Conceptual, methodological and computational issues concerning the compartmental modeling of a complex biological system: postprandial inter-organ metabolism of dietary nitrogen in humans. *Mathematical Biosciences* : sous presse.

Juillet B, Salomon J, Tomé D, & Fouillet H (**2005**). Development and calibration of a modeling tool for the analysis of clinical data in human nutrition. *ESAIM: Proceedings* 14: 124-155.

➤ Applications à des problématiques nutritionnelles et expérimentations cliniques

Juillet B, Fouillet H, Gaudichon C, Bos C, Mariotti F, & Tomé D (**en préparation**). Urea-nitrogen production and salvage are substantial in fed humans and modulated by qualitative and quantitative factors of protein intake.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Mariotti F, Gausserès N, Benamouzig R, Tomé D, & Gaudichon C (**soumis**). Increasing habitual protein intake results in reduced postprandial efficiency of peripheral anabolic wheat protein nitrogen use in humans.

Fouillet H, Bos C, **Juillet B**, Mariotti F, Tomé D, & Gaudichon C (**soumis**). Modulation of the regional utilization of dietary nitrogen by both the protein source in the meal and the habitual protein intake: a compartmental analysis.

Bos C, **Juillet B**, Fouillet H, Turlan L, Daré S, Luengo C, N'tounda R, Benamouzig R, Gausserès N, Tomé D, & Gaudichon C (**2005**). Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *American Journal of Clinical Nutrition* 81(1): 87-94.

COMMUNICATIONS ORALES :

Juillet B, Saccomani MP, Gaudichon C, Bos C, Tomé D, & Fouillet H. Multicompartmental modeling of a complex physiological system: special emphasis on the steps of *a priori* identifiability and parameter estimation, *Second Multidisciplinary International Symposium on Positive Systems: Theory and Applications*, Août **2006**, Grenoble, France.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Tomé D, & Gaudichon C. Modulation of the postprandial utilization of dietary protein by both qualitative and quantitative factors of the protein intake in humans. *Experimental Biology*, Avril **2006**, San Francisco, USA.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Gaudichon C, Mariotti F, & Tomé D. Effets du niveau habituel d'apport protéique sur le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme. *Journées ABIES*, Mars **2005**, Paris, France.

Juillet B, Fouillet H, Salomon J, Cancès E, Delmas JF, Turinici G, Oudet E, Saidi A, & Tomé D. Calibration of a compartmental model of dietary nitrogen metabolism in humans. *Centre d'Été de Mathématiques et Recherche Avancées en Calcul Scientifique 2004: Mathematics and Applications in Biology and Medicine*, Août **2004**, Marseille, France.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Mariotti F, Tomé D, & Gaudichon C. Exploitation de données cliniques par analyse compartimentale : simulation du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme. *Congrès de la Société Française de Nutrition*, Novembre **2003**, Clermont-Ferrand, France.

POSTERS :

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Gaudichon C, & Tomé D. Effet du niveau habituel d'apport protéique sur les métabolismes splanchnique et périphérique de l'azote alimentaire. *Congrès de la Société Française de Nutrition*, Novembre **2005**, Marseille, France.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Gaudichon C, Mariotti F, & Tomé D. Modulation of the dietary nitrogen metabolic fate and urea recycling by the nature of protein in humans: a compartmental analysis. *Experimental Biology*, Avril **2005**, San Diego, USA.

Juillet B, Bos C, Fouillet H, Gaudichon C, Mariotti F, & Tomé D. Influence de la qualité protéique sur le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire et le recyclage entéro-hépatique de l'urée. *5^{ème} Journées Francophones de Nutrition*, Décembre **2004**, Lyon, France.

Juillet B, Fouillet H, Bos C, Mariotti F, Tomé D, & Gaudichon C. Dietary nitrogen transfer to metabolic pools and urea recycling after wheat protein ingestion: a compartmental analysis. *Experimental Biology*, Avril **2004**, Washington, USA.

Fouillet H, Bos C, Mariotti F, **Juillet B**, Gaudichon C, & Tomé D. Effect of increasing habitual protein intake on dietary nitrogen metabolic fate and urea recycling in humans: a compartmental analysis. *Experimental Biology*, Avril **2004**, Washington, USA.

Bos C, **Juillet B**, Turlan L, N'tounda R, Daré S, Fouillet H, Benamouzig R, Tomé D, & Gaudichon C. ¹⁵N-labeled wheat protein true ileal digestibility and postprandial retention in humans. *Experimental Biology*, Avril **2003**, San Diego, USA.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La biologie est une discipline scientifique qui s'appuie sur l'observation et l'expérimentation. Ce n'est pas une science théorique, car dans le monde du vivant, peu d'évènements sont totalement prévisibles ou reproductibles, et l'expérimentateur le sait bien. En outre, rien n'est constant : le temps fait évoluer les objets vivants dans leurs formes et dans leurs fonctions, souvent de manière irréversible. Enfin, l'identité totale de deux objets biologiques n'existe pas, ni à l'intérieur d'une même espèce, ni même au sein d'un couple de jumeaux. Ainsi, deux obstacles majeurs tendent à freiner la formalisation et la modélisation des systèmes biologiques : la diversité du vivant et sa complexité (Bouletreau, 2000). Ceci explique en partie pourquoi les mathématiques, qui nouent pourtant des relations fortes avec de nombreuses autres disciplines scientifiques (astronomie, mécanique, informatique, chimie...), entretiennent des liens plus ténus avec les sciences de la vie. Cependant, depuis quelques décennies, il n'est plus un domaine des sciences du vivant (génétique, génétique moléculaire, génétique des populations, biologie moléculaire, écosystèmes, physiologie, neurosciences...) qui ne fasse appel aux mathématiques, ou qui ne soit devenu tributaire des mathématiques pour son propre développement. En effet, les mathématiques rendent possible une description globale des systèmes et des processus biologiques, et sont capables de faire émerger des structures, des organisations ou des règles, jusqu'alors masquées sous la diversité et la complexité (Bouletreau, 2000). Les mathématiques permettent ainsi de construire des représentations du vivant, qui le résument à ses règles essentielles, et proposent des modèles formels de son organisation et de son fonctionnement. Ces modèles sont le plus souvent des simplifications des systèmes étudiés, et seule leur confrontation aux réalités biologiques qu'ils sont supposés représenter permet de les valider et d'accepter les hypothèses sur la base desquelles ils ont été construits (Cobelli *et al.*, 1984). Ainsi, la modélisation mathématique ne se substitue pas à l'expérimentation (Cobelli & Caumo, 1998). Au contraire, la modélisation et l'expérimentation s'alimentent l'une l'autre au sein d'une boucle de rétroaction positive : d'une part, l'expérimentation procure de nouvelles connaissances sur le système biologique considéré, permettant d'élaborer de nouveaux modèles ou d'améliorer les modèles existants ; d'autre part, les modèles développés permettent de tirer le maximum d'informations des données expérimentales (souvent parcellaires) disponibles sur le système, et de déterminer les principaux mécanismes qui sous-tendent son fonctionnement (Cobelli & Caumo, 1998).

En physiologie, l'utilisation de modèles mathématiques pour analyser et comprendre le fonctionnement de systèmes aussi divers que la circulation sanguine dans les artères et les capillaires, la répartition de *sprays* inhalés dans les voies respiratoires, ou encore le devenir métabolique d'un médicament ou d'une molécule dans un organe, est en pleine progression et suit le processus de conceptualisation et de formalisation qui a pu être observé dans d'autres disciplines scientifiques (Cobelli *et al.*, 1984). Equations différentielles ordinaires ou équations aux dérivées partielles, équations déterministes ou stochastiques, méthodes numériques d'intégration ou d'optimisation sont quelques uns des très nombreux domaines mathématiques impliqués dans la modélisation des systèmes physiologiques, dont certains constituent encore aujourd'hui de véritables défis théoriques ou de mise en œuvre pratique (Causin *et al.*, 2005 ; D'Angelo & Papelier, 2005 ; Maury *et al.*, 2005). En physiologie de la nutrition plus particulièrement, le choix des modélisateurs s'est rapidement porté sur des modèles mathématiques simples – malgré la complexité des systèmes métaboliques étudiés – en raison principalement du peu de données expérimentales généralement disponibles pour construire, identifier et valider les modèles proposés, en particulier chez l'homme (Cobelli *et al.*, 1984 ; Jacquez, 1996). Dans ce domaine des sciences biologiques, les modèles les plus utilisés sont en effet des modèles à compartiments, ou modèles compartimentaux, régis par le principe d'action de masse (les flux de matière entre deux compartiments sont supposés proportionnels à la quantité de matière présente dans le compartiment source), et décrits par des équations différentielles simples (souvent des équations différentielles ordinaires du premier ordre) (Jacquez, 1996). En outre, l'utilisation de ces modèles compartimentaux se justifie par la caractéristique structurelle forte de l'organisme (notion de compartiment métabolique), et par le fait que les transferts de matière entre deux compartiments sont généralement représentés de manière satisfaisante par des lois (linéaires ou non) de proportionnalité à la taille du compartiment source (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996). De nombreux modèles compartimentaux ont ainsi été développés au cours des dernières décennies, et ont permis d'étudier le métabolisme de nutriments et de micronutriments divers, comme le métabolisme du zinc (Miller *et al.*, 2000) ou de l'azote alimentaire (Fouillet *et al.*, 2000), ou encore le métabolisme hépatique de l'arginine (Tavill *et al.*, 1975) ou du glucose (El-Refai & Bergman, 1976). Différents modèles compartimentaux ont également été développés dans le but d'étudier les mécanismes de régulation de certains systèmes métaboliques, comme celui du glucose par l'insuline (Cobelli & Caumo, 1998).

Le système nutritionnel que nous avons souhaité modéliser dans nos travaux de thèse est celui du métabolisme postprandial des protéines et des acides aminés (AA) alimentaires chez

l'homme. En raison de la nature discontinue de l'apport alimentaire, le métabolisme protéique subit l'alternance de périodes postprandiales qui caractérisent les périodes d'absorption des repas (correspondant aux 6 à 8 heures suivant leur ingestion), et de périodes postabsorptives qui s'étalent entre la fin de l'absorption d'un repas et le repas suivant (e.g., le jeûne nocturne). Pendant la phase postabsorptive (i.e., en l'absence d'apports alimentaires), le bilan azoté de l'organisme est négatif car il existe des pertes obligatoires liées aux besoins métaboliques (Millward, 1998). Les AA nécessaires pour subvenir à ces besoins sont alors fournis par la dégradation des protéines de l'organisme, qui a lieu majoritairement dans les organes splanchniques (intestin et foie) pendant les premières heures du jeûne, puis s'effectue dans le muscle qui devient la source majeure d'azote pour l'organisme lorsque le jeûne se prolonge au-delà d'un jour (Scornik *et al.*, 1997). Pendant la phase postprandiale, les apports alimentaires permettent de compenser ces pertes protéiques postabsorptives par la déposition protéique (Millward, 1998). Une fois ingérées, les protéines sont en effet soumises à une cascade de phénomènes métaboliques qui assurent l'assimilation des AA alimentaires dans l'organisme, et qui incluent la digestion, l'absorption, la désamination (aboutissant à la formation d'urée et d'ammoniaque) et l'incorporation des AA alimentaires dans les différentes protéines corporelles. Les protéines alimentaires sont d'abord hydrolysées dans le tractus gastro-intestinal sous l'action d'enzymes digestives diverses, puis les produits de cette dégradation protéique (AA, di- et tri-peptides) sont absorbés (Silk, 1980) et partiellement extraits par l'intestin pour assurer son propre métabolisme (Wu, 1998). La fraction des AA alimentaires qui n'est pas séquestrée par l'intestin est ensuite acheminée via la veine porte vers le foie, qui en extrait et en métabolise à son tour une partie importante. Le devenir métabolique des AA alimentaires dans les tissus splanchniques recouvre la désamination (étape préalable de l'uréogénèse) (Waterlow, 1999), la formation de glucose par néoglucogénèse (Brosnan, 2000), la conversion des AA alimentaires en d'autres AA par transamination (Matthews *et al.*, 1999) et leur utilisation pour les synthèses protéiques locales (Stoll *et al.*, 1998a). Les AA alimentaires qui ne sont pas métabolisés par les tissus splanchniques sont ensuite dirigés via la circulation systémique vers les tissus de la zone périphérique comme le muscle, où ils participent aux protéosynthèses et à la réplétion protéique (Millward, 1998). Ces flux postprandiaux d'AA entre les différents pools protéiques de l'organisme varient en réponse à l'apport alimentaire, et en particulier leurs niveaux et leurs profils cinétiques sont modulés par la nature et la quantité des protéines et des nutriments énergétiques non protéiques (glucides et/ou lipides) ingérés (Mariotti, 2001). Cependant, la plupart des méthodes d'investigation (De Feo, 1998) ne permettent pas d'appréhender la complexité du métabolisme protéique à

l'état non stationnaire chez l'homme, et donc d'étudier les mécanismes des réponses aiguës du métabolisme régional à l'ingestion d'un repas protéique.

Dans ce contexte, la modélisation compartimentale constitue un outil de choix pour étudier la distribution et le métabolisme régional de l'azote alimentaire à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2000). En effet, la modélisation d'un tel système nutritionnel permet de fournir des informations à la fois qualitatives et quantitatives sur la structure et le fonctionnement du système, informations qu'il aurait été difficile ou impossible d'obtenir par la seule voie expérimentale chez l'homme. L'étude du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire par modélisation compartimentale a donc été amorcée au laboratoire il y a quelques années, et a déjà conduit à l'élaboration de deux modèles compartimentaux chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003), qui permettent de simuler la distribution postprandiale de l'azote alimentaire dans différents pools azotés de l'organisme, comme l'estomac, la lumière intestinale, les pools d'AA libres et de protéines splanchniques, plasmatiques et périphériques, ou encore les pools d'urée corporelle, d'urée et d'ammoniaque urinaires. Le premier modèle (Fouillet *et al.*, 2000) a ainsi permis d'étudier la modulation de l'absorption et de l'utilisation régionale de l'azote ingéré par différents facteurs alimentaires, comme la nature des protéines (lait vs. soja) et des nutriments énergétiques non protéiques (glucides vs. lipides) présents dans le repas (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b). En outre, le deuxième modèle (Fouillet *et al.*, 2003) est une légère complexification du premier, et a permis de déterminer la contribution relative des différentes protéines splanchniques (constitutives et exportées) à l'anabolisme protéique postprandial après l'ingestion d'un repas protéique mixte. Cependant, la modélisation compartimentale d'un système nutritionnel aussi complexe que celui du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme se heurte à plusieurs difficultés lors de sa mise en oeuvre (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003), en raison essentiellement de l'inadéquation entre la complexité du système et le peu de données expérimentales disponibles pour des raisons techniques et/ou éthiques. Les travaux de modélisation récemment menés au laboratoire ont ainsi montré que deux étapes principalement étaient limitantes lors de la construction et de l'identification de modèles compartimentaux du métabolisme azoté chez l'homme : l'analyse de l'identifiabilité théorique *a priori* du modèle considéré (Fouillet *et al.*, 2003), qui consiste à s'assurer que tous ses paramètres ont une solution unique (au moins théoriquement), et l'estimation numérique de ses paramètres (Fouillet *et al.*, 2000). Ces deux problèmes d'identifiabilité théorique et d'identification numérique constituent en effet des problèmes mathématiques complexes, qui sont très difficiles à résoudre par les outils logiciels actuellement disponibles en modélisation

compartimentale (Audoly *et al.*, 1998 ; Steiner *et al.*, 1990). En outre, la complexité de ces deux problèmes croît considérablement avec l'ordre du modèle considéré (i.e., le nombre de compartiments et de voies d'échange entre eux) (Audoly *et al.*, 1998 ; Fouillet *et al.*, 2000). Récemment, l'utilisation d'outils mathématiques sophistiqués d'algèbre différentielle a toutefois ouvert des pistes intéressantes facilitant la résolution du problème d'identifiabilité théorique des modèles compartimentaux d'ordre élevé (Audoly *et al.*, 2001 ; Saccomani *et al.*, 2003). Par contre, l'étape d'estimation des paramètres reste difficile à mettre en œuvre pour des modèles complexes, et nécessite le développement de méthodes d'optimisation plus puissantes et plus robustes que celles qui sont classiquement utilisées en modélisation compartimentale des systèmes nutritionnels (Cobelli & Foster, 1998 ; Steiner *et al.*, 1990).

Dans la première partie de cette introduction, nous allons présenter les connaissances actuelles concernant notre système d'étude, c'est-à-dire les données disponibles dans la littérature sur la distribution postprandiale et le métabolisme régional de l'azote alimentaire. Les deux parties suivantes seront consacrées à la modélisation compartimentale du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote chez l'homme et chez l'animal : la seconde partie de l'introduction s'attachera à décrire les principes, la formulation et les caractéristiques principales des modèles compartimentaux, avant d'effectuer un état des lieux des modèles existants et de leurs champs d'application dans le domaine du métabolisme des protéines et des AA ; et dans la troisième et dernière partie de l'introduction, nous détaillerons les différentes étapes du développement des modèles compartimentaux ainsi que leurs contraintes et problèmes spécifiques, et nous commenterons la manière avec laquelle cette démarche a été abordée et mise en œuvre lors de l'élaboration des modèles déjà publiés.

A. DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LA DISTRIBUTION ET LE METABOLISME REGIONAL DE L'AZOTE ALIMENTAIRE EN PHASE POSTPRANDIALE

Lorsque l'on souhaite modéliser un système métabolique, il est essentiel d'effectuer au préalable la recherche la plus exhaustive possible concernant les connaissances relatives au système considéré. En effet, la prise en compte de l'ensemble des connaissances ainsi rassemblées sera déterminante lors du développement ultérieur du modèle adapté à l'étude du système, que ce soit pour identifier sa structure ou pour vérifier la plausibilité physiologique de ses prédictions (Cobelli & Caumo, 1998). Ainsi, dans cette première partie de l'introduction, nous allons présenter les données actuellement disponibles dans la littérature concernant l'absorption, la distribution et le métabolisme régional de l'azote et des AA alimentaires en phase postprandiale.

1. Mise à disposition et métabolisme régional de l'azote et des AA à l'état nourri

1.1. Processus de mise à disposition de l'azote issu des protéines alimentaires

Après un repas protéique, la digestion, le transit et l'absorption intestinale constituent des étapes déterminantes dans la mise à disposition pour l'organisme des AA issus des protéines ingérées (Boirie *et al.*, 1997a ; Bos *et al.*, 2003a ; Dangin *et al.*, 2001 ; Fouillet, 2002 ; Mariotti *et al.*, 2000a ; Mariotti, 2001). Ces phénomènes sont modulés par de nombreux facteurs alimentaires tels que la quantité et la nature des protéines ingérées ou encore la présence dans le repas de nutriments énergétiques non protéiques, de fibres, de facteurs anti-nutritionnels... Ces facteurs peuvent affecter la biodisponibilité des protéines alimentaires de manière quantitative (en modifiant leur digestibilité), ou qualitative (en jouant sur les paramètres cinétiques de digestion, de transit ou d'absorption) (Bos *et al.*, 2003a ; Mariotti, 2001).

1.1.1. Digestion et absorption intestinale des protéines alimentaires

i. Différentes étapes

Après la phase buccale, essentiellement mécanique, la digestion des protéines alimentaires est initiée dans l'estomac. Les sécrétions gastriques (HCl, pepsine...) augmentent le volume des liquides présents dans l'estomac et diluent les aliments solides en les acidifiant (Bernier *et al.*, 1988). Simultanément, des ondes de contractions péristaltiques apparaissent au niveau de l'estomac distal et se propagent dans l'antre : elles pétrissent le bol alimentaire, le broient et le mélangent, achevant de solubiliser les grosses particules ingérées (Bernier *et al.*, 1988 ; Kelly, 1980) (**Figure 1**). Ainsi, les protéines du repas sont dénaturées et partiellement dégradées dans l'estomac sous l'action de processus à la fois chimiques et mécaniques. Ceci aboutit à la formation de polypeptides, d'oligopeptides et d'AA libres, qui sont progressivement évacués de l'estomac via le pylore. Ces peptides et AA alimentaires progressent dans la lumière intestinale qui accueille également des sécrétions protéiques d'origine endogène (mucus, desquamation, sécrétions salivaires, gastriques, biliaires et pancréatiques...). La digestion se poursuit dans l'intestin grêle sous l'action d'enzymes diverses et les produits des dégradations enzymatiques sont ensuite convertis par des peptidases des cellules de la bordure en brosse de l'intestin grêle en tri- et di-peptides et AA libres qui sont ensuite absorbés (Erickson & Kim, 1990 ; Silk, 1980) (**Figure 2**). Le transfert à l'intérieur de l'entérocyte de ces produits terminaux de la digestion intraluminaire s'effectue selon différents processus de transports, passifs (diffusion simple ou facilitée) ou actifs (le plus souvent par couplage avec le transport de sodium ou d'hydrogène) (Ganapathy *et al.*, 1994 ; Webb, 1990). Enfin, les di- ou tri-peptides présents dans le cytosol de l'entérocyte sont dégradés par des peptidases solubles (Alpers, 1987), si bien que l'azote libéré dans la circulation sanguine est essentiellement sous forme d'AA libres (Grimble, 2000). En outre, l'intestin grêle présente des différences régionales de capacité d'absorption : dans la partie proximale (i.e., duodénum et jéjunum) où la lumière intestinale est riche en peptides, l'intestin possède une grande capacité de transport des peptides et une activité peptidasique cytosolique importante, tandis que dans la partie distale (iléon) où la lumière est riche en AA, le transport des AA à travers la paroi intestinale est facilité (Ganapathy *et al.*, 1994 ; Webb, 1990). Ces différences régionales permettraient une absorption optimale des AA alimentaires par l'intestin.

ii. Aspects cinétiques

La vitesse de l'évacuation gastrique du chyme alimentaire est déterminante pour les phases ultérieures de la digestion, puisqu'elle contrôle le degré de dégradation et la vitesse d'entrée des protéines et des AA alimentaires dans le duodénum. Elle joue donc un rôle important sur les cinétiques postprandiales de transit, d'absorption et d'utilisation métabolique de l'azote alimentaire (Bos *et al.*, 2003a ; Dangin *et al.*, 2001 ; Darcy, 1984 ; Gaudichon *et al.*, 1994). De nombreux facteurs semblent moduler la vitesse de l'évacuation gastrique du chyme alimentaire tels que la quantité et la nature des nutriments ingérés, l'osmolarité et la viscosité du chyme. En particulier, l'évacuation gastrique est contrôlée par la densité calorique du repas (Calbet & MacLean, 1997 ; Fouillet *et al.*, 2001 ; Hunt & Stubbs, 1975 ; Jian *et al.*, 1986 ; Weber & Ehrlein, 1998a). En effet, la vitesse d'entrée de l'énergie dans le duodénum est assez stable après l'ingestion de repas mixtes d'énergie équivalente, quoique de composition différente (Kalogeris *et al.*, 1983 ; Maerz *et al.*, 1994 ; McHugh & Moran, 1979 ; Weber & Ehrlein, 1998a) (**Tableau 1**). Ceci permettrait d'ajuster l'entrée luminale des nutriments aux capacités d'absorption de l'intestin (**Tableau 2**). En outre, l'évacuation des différents composés du chyme gastrique est hétérogène, puisque la phase solide du repas est évacuée moins rapidement que la phase liquide (Bernier *et al.*, 1988 ; Hinder & Kelly, 1977 ; Kelly, 1980) (**Figure 3**) et que les différents nutriments ne quittent pas l'estomac à la même vitesse (Beckoff *et al.*, 2001) (**Tableau 3**). Ainsi, il est bien établi que les lipides alimentaires sont évacués plus tardivement que les autres nutriments (Bernier *et al.*, 1988 ; Jian *et al.*, 1982 ; Kumar *et al.*, 1987 ; Maes *et al.*, 1998). Par ailleurs, pour une même vitesse d'évacuation du chyme, le flux d'entrée des protéines dans l'intestin varie selon la teneur de ce nutriment dans le repas (Tableau 2). Ensuite, la vitesse de transit dans l'intestin détermine la distribution du chyme alimentaire entre les différents sites d'absorption, et est donc susceptible de contrôler les cinétiques de mise à disposition des AA alimentaires. Enfin, il a été montré que la grande majorité (~80%) de l'absorption intestinale de l'azote alimentaire a lieu dans la partie proximale de l'intestin grêle (**Figure 4**) (Baglieri *et al.*, 1995 ; Ehrlein & Stockmann, 1998 ; Fouillet *et al.*, 2003 ; Gausseres *et al.*, 1996 ; Zhao *et al.*, 1996). Ainsi, il semble que l'évacuation gastrique des protéines d'un repas constitue l'étape déterminante des cinétiques de mise à disposition de l'azote alimentaire pour l'organisme.

iii. Bilan d'absorption

En raison de la présence de sécrétions endogènes dans la lumière intestinale, l'évaluation de la digestibilité des protéines alimentaires nécessite de distinguer l'azote alimentaire de l'azote endogène dans la lumière intestinale par des méthodes directes ou indirectes (Fuller & Reeds, 1998 ; Mariotti *et al.*, 2000a ; Nakai *et al.*, 2005 ; Otto *et al.*, 2003 ; Reeds *et al.*, 2000b). Les méthodes utilisant le marquage des protéines ingérées ou des sécrétions endogènes, à l'aide d'un isotope stable de l'azote (^{15}N) ou du carbone (^{13}C), apparaissent comme les méthodes les plus précises pour déterminer la digestibilité des protéines ingérées. Chez l'homme, une des méthodes les plus couramment utilisées consiste en effet à marquer intrinsèquement et uniformément au ^{15}N les protéines du repas (Gausseres *et al.*, 1996 ; Mahe *et al.*, 1994). Le principe de dilution isotopique permet alors de déterminer la proportion d'azote alimentaire présent à un niveau donné du tube digestif, c'est-à-dire la proportion qui n'a pas été absorbée sur la longueur d'intestin considérée (Bos *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 1999). La principale incertitude de cette méthode provient de la possible utilisation de l'azote alimentaire pour la synthèse de protéines sécrétées dans l'intestin. Étant donné l'existence de ce recyclage, la méthode tend ainsi à sous-estimer la quantité d'azote alimentaire véritablement absorbée par l'intestin, et donc la digestibilité des protéines ingérées (Leterme *et al.*, 1996). Toutefois, l'importance de l'erreur commise reste difficile à estimer, d'autant que les autres méthodes classiquement utilisées souffrent d'incertitudes semblables, voire supérieures, quoique de sens opposé (Hess *et al.*, 2000 ; Leterme *et al.*, 1996). Par ailleurs, les mesures au niveau iléal impliquent de plus grandes contraintes techniques que les mesures fécales, puisqu'elles nécessitent la mise en place de sondes au niveau de l'iléon terminal chez des sujets non iléostomisés (Mariotti *et al.*, 2000b). Cependant, étant donné l'importance du métabolisme bactérien dans le côlon, la digestibilité oro-iléale des protéines alimentaires est un indice plus fiable de la biodisponibilité des AA alimentaires que la digestibilité oro-fécale (Mariotti *et al.*, 2000a).

1.1.2. Identification et devenir de l'azote dans le côlon

i. Métabolisme colique des AA

En raison de l'importante capacité d'absorption de l'intestin grêle (Weber & Ehrlein, 1998b), l'azote alimentaire atteignant le côlon est majoritairement sous forme protéique (Gausseres *et al.*, 1996) et correspond vraisemblablement à des fractions protéiques réfractaires à

l'hydrolyse enzymatique (Gibson *et al.*, 1989). Les protéines entrant dans le côlon sont hydrolysées par la microflore colique, qui métabolise ensuite les AA libérés (synthèse de protéines bactériennes, dégradation et formation d'ammoniaque et d'acides gras à chaîne courte ou ramifiée...). La capacité du côlon à absorber les AA (qui proviennent de l'intestin grêle ou qui sont libérés par la dégradation des protéines alimentaires ou par le métabolisme bactérien) a longtemps été considérée comme marginale (Darragh *et al.*, 1994 ; Hume *et al.*, 1993 ; Torrallardona *et al.*, 1996), mais fait l'objet depuis quelques années d'un débat renouvelé (Millward *et al.*, 2000 ; Petzke *et al.*, 1998). Toutefois, étant donné les faibles quantités d'AA alimentaires pénétrant dans le côlon après l'ingestion d'un repas protéique et leur importante utilisation métabolique par les bactéries, les quantités d'AA alimentaires qui pourraient être absorbées au niveau colique sont certainement négligeables par rapport aux quantités absorbées dans l'intestin grêle. Par ailleurs, l'absorption colique des AA alimentaires serait très retardée par rapport à leur absorption dans la partie haute de l'intestin grêle, puisqu'elle implique le transit des protéines résistantes jusqu'au côlon, leur hydrolyse par les bactéries coliques et la diffusion des AA alimentaires jusqu'aux sites d'absorption. Ainsi, ce phénomène est certainement mineur dans les heures qui suivent l'ingestion du repas, mais il serait intéressant de le quantifier.

ii. Recyclage entéro-hépatique de l'urée

L'azote pénètre également (en second passage) sous forme d'urée dans la lumière intestinale. En effet, une fois formé, ce produit terminal du catabolisme hépatique des AA est éliminé essentiellement par excrétion urinaire (ou de manière plus minoritaire par transpiration), mais il diffuse également librement dans tous les compartiments liquidiens de l'organisme. En particulier, l'urée formée diffuse dans l'intestin, et on estime qu'environ 20% de l'urée produite est hydrolysée par les bactéries intestinales (Jackson, 1995 ; Long *et al.*, 1978 ; Petzke *et al.*, 1998 ; Wrong, 1978 ; Wrong & Vince, 1984 ; Young *et al.*, 2000a). Le côlon étant beaucoup plus riche en bactéries que le reste de l'intestin, il est vraisemblable que l'essentiel de l'hydrolyse de l'urée s'y produise (Wrong & Vince, 1984). Cela conduit à la formation d'ammoniaque qui est ensuite soit réabsorbée par l'intestin, soit incorporée dans les protéines bactériennes, puisque son excrétion fécale est réduite (Jackson, 1995 ; Wrong & Vince, 1984). L'ammoniaque ainsi réabsorbée au niveau intestinal est de nouveau soumise au métabolisme splanchnique, c'est-à-dire qu'elle est en partie catabolisée pour donner lieu à de la production d'urée, tandis qu'une autre partie est disponible pour les processus anaboliques splanchniques. La fraction de l'ammoniaque réabsorbée qui est de nouveau transformée en

urée au niveau hépatique est estimée à 10-40% selon les études (Badaloo *et al.*, 1999 ; Faber *et al.*, 2003 ; Jackson *et al.*, 1984 ; Long *et al.*, 1978 ; Meakins *et al.*, 1998), le reste étant alors disponible pour la synthèse d'AA non-essentiels par transamination ou incorporation directe (Metges *et al.*, 1999b ; Petzke *et al.*, 1998 ; Wrong & Vince, 1984). Le cycle et le recyclage de l'urée sont représentés **Figure 5**. Si l'on estime que 20 à 40% de l'urée produite diffuse dans l'intestin et est hydrolysée par les bactéries intestinales, puis que 30 à 60% de l'azote ainsi libéré est réabsorbé, environ 5 à 25% de l'azote uréique initialement produit serait réincorporé au niveau du pool d'AA circulants. Finalement, une fois déduite la nouvelle exposition de ces AA au catabolisme (10-40%), on peut estimer qu'environ 3 à 23% de l'azote uréique initialement formé serait réellement retenu par l'organisme (**Figure 6**). Enfin, des AA synthétisés par les bactéries à partir de l'ammoniaque sont absorbés et peuvent également participer à l'apport d'AA essentiels et non-essentiels (Metges *et al.*, 1999a ; Millward *et al.*, 2000 ; Petzke *et al.*, 1998). Toutefois, ces AA d'origine microbienne seraient majoritairement absorbés dans l'intestin grêle (Metges, 2000), quoique l'existence de transporteurs d'AA dans le côlon ait été démontrée (Hatanaka *et al.*, 2002 ; Ugawa *et al.*, 2001).

1.2. Métabolisme splanchnique à l'état nourri

1.2.1. Extraction et métabolisme splanchnique des AA alimentaires

i. Extraction splanchnique des AA alimentaires

L'interposition de l'intestin et du foie entre le site d'absorption des nutriments et la circulation systémique favorise le prélèvement et l'utilisation métabolique des AA alimentaires par les tissus splanchniques, qui modulent ainsi la libération des AA alimentaires vers la zone périphérique (Barrett *et al.*, 1986 ; Battezzati *et al.*, 1999 ; Ferrannini *et al.*, 1988 ; Krempf *et al.*, 1993 ; Yu *et al.*, 1990). Chez l'homme et chez l'animal (chien et porc), des études de bilan d'organes employant la technique de cathétérisme artério-veineux ont montré que la zone splanchnique passe d'un bilan postabsorptif négatif à un bilan positif après l'ingestion d'AA ou de protéines, et ne relâche qu'environ un tiers des AA ingérés vers la zone périphérique (Aoki *et al.*, 1976 ; Barrett *et al.*, 1986 ; Bloomgarden *et al.*, 1981 ; Capaldo *et al.*, 1999 ; Gelfand *et al.*, 1986 ; Rerat *et al.*, 1992 ; Wahren *et al.*, 1976). Par ailleurs, les quantités d'AA alimentaires extraits par les tissus splanchniques varient selon les AA, les AA à chaîne ramifiée (AACR : valine, leucine et isoleucine) étant moins prélevés que la plupart

des autres AA, et en particulier que les AA glucoformateurs (AAG : alanine, glutamine, glutamate, sérine...) (Rerat *et al.*, 1992). Chez l'homme, l'utilisation de traceurs administrés simultanément par voie orale et intraveineuse (méthodes double traceur) a permis d'estimer directement l'extraction splanchnique de certains AA alimentaires (Battezzati *et al.*, 1999 ; Biolo *et al.*, 1992b ; Castillo *et al.*, 1993 ; Cayol *et al.*, 1997). Ces études ont confirmé chez l'homme et l'animal que les différents AA alimentaires sont plus ou moins prélevés par la zone splanchnique en phase postprandiale, les valeurs obtenues s'échelonnant entre 10 et 65% des quantités ingérées selon l'AA considéré (**Tableau 4**). Toutefois, la variabilité des résultats obtenus pour un même AA est également très importante : par exemple, les valeurs d'extraction splanchnique obtenues pour la leucine varient entre 10 et 40% selon les études (Biolo *et al.*, 1992b ; Biolo & Tessari, 1997 ; Boirie *et al.*, 1997b ; Castillo *et al.*, 1993 ; Cayol *et al.*, 1997 ; Crenn *et al.*, 2000 ; Krempf *et al.*, 1993 ; Kurpad *et al.*, 2001 ; Kurpad *et al.*, 2003 ; Luiking *et al.*, 2005 ; Tessari *et al.*, 2002), tandis que celles de la phénylalanine s'échelonnent entre 25 et 60% (Biolo *et al.*, 1992b ; Krempf *et al.*, 1993 ; Sanchez *et al.*, 1996 ; Volpi *et al.*, 1999). Ces différences suggèrent que l'extraction des AA par la zone splanchnique (et donc leur disponibilité pour les tissus périphériques) pourrait dépendre des conditions nutritionnelles utilisées dans ces études. Ainsi, des études récentes de modélisation compartimentale du métabolisme de l'azote alimentaire à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme ont confirmé l'importance de l'extraction splanchnique des AA alimentaires dans les heures qui suivent l'ingestion du repas, ainsi que sa modulation par la composition du repas (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003). En effet, à l'issue de la phase postprandiale (i.e., 6 à 8 heures après l'ingestion du repas sous forme de bolus), l'extraction splanchnique de l'azote alimentaire varie entre 45 et 60% de l'azote ingéré (Tableau 4), et est modulée à la fois par la présence de nutriments énergétiques (glucides, lipides) dans le repas (Fouillet *et al.*, 2001) et par la nature de la protéine ingérée (Fouillet *et al.*, 2002b).

ii. Utilisation des AA alimentaires pour les protéosynthèses splanchniques

L'intestin et le foie sont le lieu d'un métabolisme protéique très actif en phase postprandiale, et ils répondent par une synthèse protéique nette à l'influx d'AA alimentaires (Scornik *et al.*, 1997). L'utilisation anabolique des AA alimentaires en zone splanchnique a été mesurée chez l'animal dans différentes études qui fournissent des résultats très disparates (Bos *et al.*, 2002b ; Deutz *et al.*, 1998 ; Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001 ; Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 1999a ; Yu *et al.*, 1990 ; Yu *et al.*, 1995b). Dans ces

études, les quantités d'azote ou d'AA alimentaires incorporées dans les protéines splanchniques varient en effet entre 10 et 50% des quantités ingérées selon les conditions nutritionnelles (Tableau 4). Chez l'homme, de rares études d'analyse compartimentale de données traceur ont montré qu'à l'issue de la phase postprandiale (6-8h après l'ingestion sous forme de bolus d'un repas protéique mixte), l'incorporation de l'azote alimentaire dans les protéines splanchniques s'échelonne entre 30 et 40% de l'azote ingéré selon la composition du repas (Tableau 4) (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003). Ainsi, près des deux tiers de l'azote alimentaire prélevé par la zone splanchnique est incorporé dans les protéines splanchniques constitutives et exportées (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003). Cependant, la part du prélèvement splanchnique utilisée pour les synthèses protéiques varie selon l'AA concerné (Stoll *et al.*, 1998b). Par exemple, chez le chien recevant une perfusion intra-gastrique constante d'AA, plus de la moitié de la leucine prélevée est incorporée dans les protéines splanchniques constitutives et exportées (Yu *et al.*, 1990). En revanche, si les AAG sont davantage extraits par la zone splanchnique que les AACR, ils participent relativement moins aux synthèses protéiques, en raison notamment de leur utilisation hépatique pour la néoglucogénèse et l'uréogénèse (Battezzati *et al.*, 1999), (Capaldo *et al.*, 1999), (Yu *et al.*, 1990).

1.2.2. Coopération et rôles respectifs de l'intestin et du foie dans le métabolisme splanchnique

Les techniques qui sont utilisées chez l'animal afin de distinguer le rôle des différents organes splanchniques (cathétérisme des veines porte et hépatique, biopsies intestinales et hépatiques) sont très invasives et ne sont pas applicables chez l'homme. C'est pourquoi les données distinguant les métabolismes particuliers de l'intestin et du foie sont beaucoup plus rares chez l'homme que celles concernant l'ensemble du métabolisme splanchnique.

i. Métabolisme intestinal

Après leur entrée dans l'entérocyte, une partie seulement des AA luminaux (alimentaires et endogènes) est libérée dans le sang portal et acheminée vers le foie. L'autre partie est prélevée par la cellule épithéliale intestinale et est utilisée, ainsi que les AA endogènes captés par voie artérielle, pour les transaminations, l'oxydation et la synthèse de protéines (mucines, enzymes digestives, protéines constitutives) et d'autres composés azotés (glutathion, polyamines...) (Reeds & Burrin, 2000 ; Reeds *et al.*, 2000a ; Reeds *et al.*, 2000b). Une grande proportion des

AA extraits par l'entérocyte est catabolisée. Par exemple chez le chien, sur les 30% de leucine extraite par l'intestin, la moitié environ est désaminée (Yu *et al.*, 1990). Les quantités d'AA alimentaires retrouvées dans le sang portal varient selon l'AA considéré et sont soit supérieures (indiquant une production intestinale nette), soit inférieures, voire très inférieures (indiquant un prélèvement intestinal important) aux quantités ingérées (**Figure 7**). En particulier, l'intestin prélève majoritairement la glutamine, le glutamate et l'aspartate alimentaires qui sont utilisés pour la production d'énergie et à partir desquels sont principalement formés de l'ammoniaque et de l'alanine, relâchés dans la veine porte (Barrett *et al.*, 1986 ; Reeds *et al.*, 1996 ; Reeds *et al.*, 2000a ; Reeds & Burrin, 2001 ; Wu, 1998). La thréonine est l'AA essentiel le plus retenu par l'intestin, et est utilisé notamment pour la synthèse de protéines mucosales (Reeds *et al.*, 2000b ; Reeds & Burrin, 2001 ; Schaart *et al.*, 2005). Ainsi le métabolisme intestinal influence la disponibilité des AA alimentaires pour les autres tissus, et joue un rôle particulièrement important sur les quantités et proportions relatives des AA libérés vers le foie.

ii. Métabolisme hépatique

Le foie est le site de nombreux processus métaboliques. D'abord, il prélève une partie des AA relâchés par l'intestin dans la veine porte, et capte des AA endogènes par voie artérielle. Les AA ainsi extraits sont catabolisés (désaminations et décarboxylations), convertis en d'autres AA par transamination ou utilisés pour les synthèses protéiques. Les protéines synthétisées dans le foie sont soit constitutives (e.g., enzymes hépatiques), soit exportées vers le plasma (e.g., albumine, fibrinogène, protéines de la phase aiguë...). Le foie est également le site de l'uréogénèse, processus qui lui permet de traiter la grande quantité d'ammoniaque provenant de l'intestin et de le transformer en urée, qui est ensuite libérée dans la circulation générale pour être finalement excrétée dans les urines (Waterlow, 1999). Le foie a également une importante activité de néoglucogénèse : les AAG, et tout particulièrement l'alanine, sont utilisés pour produire du glucose (Ozand *et al.*, 1978). Il a ainsi été montré chez le chien qu'environ un tiers du glycogène formé après l'ingestion d'un repas mixte dérivait de précurseurs néoglucogéniques comme les AAG (Moore *et al.*, 1994). Le foie n'extrait pas tous les AA dans les mêmes proportions, et les AACR sont relativement épargnés par son métabolisme (Bloomgarden *et al.*, 1981). De manière générale, l'extraction hépatique se ferait essentiellement en fonction des teneurs en AA dans la veine porte (Bloomgarden *et al.*, 1981), et donc l'absorption et l'extraction intestinales des AA contrôleraient leur disponibilité systémique.

iii. Importance relative de l'intestin et du foie dans le métabolisme splanchnique

L'intestin et le foie exercent des rôles coopératifs dans le contrôle de la quantité et de la nature des AA rendus disponibles pour la zone périphérique (Brosnan, 2003 ; Yu *et al.*, 1990). Les extractions et transaminations ayant lieu dans ces organes splanchniques modulent le profil des AA libérés dans la circulation générale, ce qui assure en particulier une bonne disponibilité des AACR pour les tissus périphériques (Capaldo *et al.*, 1999). Toutefois, il n'y a pas de données chez l'homme concernant l'importance relative de l'intestin et du foie dans le métabolisme splanchnique. En ce qui concerne les données obtenues chez l'animal (**Tableau 5**), des études menées à l'état nourri chez le porcelet (Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 1999a) et chez le chien (Yu *et al.*, 1990 ; Yu *et al.*, 1992 ; Yu *et al.*, 1995b) indiquent que l'intestin dominerait quantitativement le métabolisme splanchnique : 75 à 85 % de l'extraction splanchnique des AA alimentaires aurait lieu dans l'intestin (contre 15 à 25% dans le foie), ce qui remet en cause les données plus anciennes obtenues chez le chien (Barrett *et al.*, 1986 ; Ferrannini *et al.*, 1988). Dans ces études récentes menées chez le porcelet (Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 1999a), l'importance de l'intestin dans le métabolisme splanchnique a cependant pu être surestimée (Bos *et al.*, 2002b ; van Goudoever *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'orientation des AA dans le métabolisme serait assez différente entre l'intestin et le foie, puisque les AA alimentaires participeraient moins au catabolisme et davantage aux synthèses dans le foie que dans l'intestin (Tableau 5). En effet, l'utilisation pour les synthèses protéiques ne concernerait que 25 à 50% du prélèvement intestinal contre 65 à 75% du prélèvement hépatique chez l'animal à l'état nourri (Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1998b ; Yu *et al.*, 1990). De plus, dans les études menées chez l'animal, les protéines hépatiques représentent de 40 à 70% de l'utilisation anabolique totale de l'azote alimentaire dans la zone splanchnique (Bos *et al.*, 2002b ; Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001 ; Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 1999a). En outre, au sein de ces protéines hépatiques, les protéines constitutives sont majoritaires (de 60 à 70% des protéines hépatiques totales) par rapport aux protéines exportées (Bos *et al.*, 2002b ; Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001 ; Stoll *et al.*, 1998b).

iv. Utilisation relative des AA alimentaires et endogènes pour les synthèses intestinales et hépatiques

Pendant les premières heures suivant l'ingestion d'un repas protéique, les protéosynthèses intestinales et hépatiques sont augmentées. Des AA alimentaires et endogènes sont utilisés du fait des nombreuses voies d'alimentation des organes splanchniques (**Figure 8**) (Alpers, 1987 ; Stoll *et al.*, 1997). Différents résultats obtenus chez l'homme (Berthold *et al.*, 1995 ; Cayol *et al.*, 1996) et l'animal (Stoll *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 1999a) montrent l'importance à l'état nourri de la source alimentaire pour les synthèses protéiques intestinales et hépatiques. En effet, s'il semble que l'intestin prélève quantitativement plus d'AA d'origine artérielle à l'état nourri, il utiliserait préférentiellement les AA luminaux pour les synthèses (Coeffier *et al.*, 2003 ; Reeds & Burrin, 2000). En particulier, il a été montré chez le porcelet ayant ingéré un repas mixte sous forme de bolus, que l'intestin prélève préférentiellement la lysine d'origine alimentaire (Bos *et al.*, 2003b). Ce phénomène serait encore plus marqué dans le foie. En effet, chez le porcelet en phase postprandiale, près de 60% de la phénylalanine incorporée dans les protéines mucosales serait d'origine alimentaire (contre 40% d'origine artérielle), tandis que la phénylalanine incorporée dans les protéines hépatiques serait presque exclusivement d'origine alimentaire (Stoll *et al.*, 1999a). Cette utilisation préférentielle de la source entérale d'AA pour les protéosynthèses dans le foie pourrait s'expliquer par la compartimentation du métabolisme hépatique, la synthèse des protéines d'exportation s'effectuant majoritairement dans les hépatocytes périportaux où les AA portaux sont utilisés pour les synthèses sans se mélanger librement au pool intracellulaire (Bennet & Haymond, 1991 ; Berthold *et al.*, 1995 ; Cayol *et al.*, 1996 ; Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1999a). Enfin, l'importance de l'utilisation des AA alimentaires pour les protéosynthèses intestinales et hépatiques est cohérente avec le fait que la synthèse protéique hépatique ne soit pas sensible à la perfusion intraveineuse de nutriments (Ahlman *et al.*, 2001 ; Mosoni *et al.*, 1993), et avec le fait que la nutrition parentérale puisse conduire à une chute de la synthèse protéique intestinale (Dudley *et al.*, 1998b ; Stoll *et al.*, 2000), voire à l'atrophie de l'intestin (Brunser *et al.*, 1991 ; Niinikoski *et al.*, 2004 ; Wu, 1998).

1.2.3. Modulation des vitesses de renouvellement des protéines de l'intestin et du foie à l'état nourri

Le renouvellement des différents pools protéiques de l'organisme s'effectue à des vitesses très variables. Les taux de synthèse de différentes protéines tissulaires et plasmatiques mesurés

chez l'homme à l'état postabsorptif ou nourri sont présentés dans le **Tableau 6**. Les organes splanchniques possèdent des vitesses de renouvellement protéique très importantes en phase postabsorptive. De plus, ces vitesses de renouvellement sont fortement augmentées à l'état nourri pour certaines protéines splanchniques, en particulier l'albumine (Tableau 6). Ainsi, en phase postprandiale, la participation des tissus splanchniques à l'accrétion protéique totale est majoritaire (Yu *et al.*, 1990), bien qu'ils représentent une masse protéique beaucoup plus faible que celle des muscles.

i. Renouvellement des protéines intestinales

Chez l'homme, le taux de synthèse protéique au niveau du duodénum est important (mais plus faible que chez l'animal), de l'ordre de 30 à 60% de sa masse protéique par jour (Bouteloup-Demange *et al.*, 1998 ; Coeffier *et al.*, 2003 ; Nakshabendi *et al.*, 1995), et la participation de l'intestin grêle au renouvellement protéique corporel total atteint 10% (Bouteloup-Demange *et al.*, 1998 ; Nakshabendi *et al.*, 1995 ; Nakshabendi *et al.*, 1999). Cependant, il y a peu de données sur la façon dont l'état nutritionnel (postprandial vs. postabsorptif) affecte la synthèse protéique intestinale. Chez l'homme, il apparaît que la synthèse protéique duodénale n'est pas ou peu modifiée après l'ingestion d'un repas mixte (Bouteloup-Demange *et al.*, 1998) ou après un apport modéré en glutamine (Bouteloup-Demange *et al.*, 2000), contrairement à ce qui a été observé à l'état nourri chez l'animal en croissance (Davis *et al.*, 1996) ou adulte (Yu *et al.*, 1990 ; Yu *et al.*, 1992). Par contre, une charge très importante de glutamine ou d'AA non essentiels permet d'augmenter de manière significative le taux de renouvellement des protéines mucosales, ce qui pourrait offrir des pistes de traitements pour certaines pathologies de l'intestin (Coeffier *et al.*, 2003).

ii. Renouvellement des protéines hépatiques

Le taux de synthèse des protéines hépatiques totales est important chez l'homme (mais plus faible que chez l'animal), atteignant environ 25% par jour chez le sujet sain (Barle *et al.*, 1997 ; Heys *et al.*, 1992). Par ailleurs, il a été montré chez l'animal que le taux de synthèse des protéines hépatiques totales est stimulé lors de la reprise de l'alimentation après un régime protéoprive (Mosoni *et al.*, 1996) ou un jeûne (Yaman *et al.*, 2000), et lors de l'administration intra-gastrique d'un mélange d'AA (Yu *et al.*, 1990 ; Yu *et al.*, 1992). En outre, la stimulation des protéosynthèses splanchniques observée lors de l'administration entérale d'un mélange d'AA est supérieure à celle observée après leur administration parentérale, ce qui indique que la voie d'administration des nutriments affecte la réponse anabolique des organes

splanchniques à l'état nourri (Yu *et al.*, 1992). Chez l'homme par contre, il n'y a pas de données concernant la modulation à l'état nourri du turnover protéique dans le foie du fait de la grande difficulté d'accès aux protéines hépatiques constitutives chez le sujet sain (Barle *et al.*, 1997). Ainsi, les seules données disponibles concernent les protéines hépatiques exportées vers le sang. Les taux de synthèse de ces protéines plasmatiques atteignent environ 10% par jour pour l'albumine (Barber *et al.*, 2000 ; Cayol *et al.*, 1996 ; De Feo *et al.*, 1992 ; Hunter *et al.*, 1995 ; Mansoor *et al.*, 1997 ; Volpi *et al.*, 1996) et 20% par jour pour le fibrinogène (Barber *et al.*, 2000 ; Cayol *et al.*, 1996 ; De Feo *et al.*, 1992 ; Mansoor *et al.*, 1997 ; Volpi *et al.*, 1996). Par ailleurs, l'ingestion d'un repas mixte contenant des protéines ou des AA entraîne chez l'homme une augmentation de 20 à 90% du taux de synthèse de l'albumine (Barber *et al.*, 2000 ; Cayol *et al.*, 1996 ; De Feo *et al.*, 1992 ; Hunter *et al.*, 1995 ; Volpi *et al.*, 1996), tandis que les taux de synthèse du fibrinogène (Barber *et al.*, 2000 ; Cayol *et al.*, 1996 ; De Feo *et al.*, 1992 ; Volpi *et al.*, 1996) et de l'antithrombine III (Volpi *et al.*, 1996) ne sont pas modifiés. En particulier, l'augmentation du taux de synthèse de l'albumine représente près du tiers de l'augmentation totale de la synthèse protéique en phase postprandiale (De Feo *et al.*, 1992), et l'albumine contribue de manière importante (11 à 16%) à la synthèse protéique totale à l'état nourri (De Feo *et al.*, 1992 ; Tessari *et al.*, 1996b). Dans la mesure où l'albumine représente une proportion constante (environ 13%) des protéines hépatiques synthétisées à l'état postabsorptif et postprandial chez le rat adulte (Hunter *et al.*, 1995), il semble possible, bien que cela reste à démontrer, que la synthèse des protéines hépatiques totales augmente parallèlement à celle de l'albumine à l'état nourri. Une étude récente de modélisation compartimentale de la distribution postprandiale de l'azote alimentaire chez l'homme semble corroborer cette hypothèse, puisque elle a permis de montrer qu'après l'ingestion d'un repas protéique mixte, la fraction de l'azote alimentaire incorporé dans les protéines splanchniques totales (intestinales et hépatiques, constitutives et exportées), qui est utilisée pour la synthèse des protéines exportées, est constante au cours de la période postprandiale (Fouillet *et al.*, 2003).

1.2.4. Mécanismes de l'anabolisme splanchnique postprandial : rôles de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie

L'effet anabolique de l'ingestion d'un repas protéique mixte sur les protéines splanchniques peut s'opérer via l'hyperinsulinémie et/ou l'hyperaminoacidémie qu'il engendre. En effet, l'insuline et la disponibilité des AA (i.e., leur concentration intracellulaire) sont les deux

facteurs principaux qui régulent le métabolisme des AA et les cinétiques protéiques de synthèse et de dégradation (Beaufrere *et al.*, 2000). Les organes splanchniques sont les plus exposés à l'hyperaminoacidémie postprandiale du fait de leur interposition entre le site d'absorption des AA alimentaires et les tissus périphériques. De plus, le foie est largement exposé à l'hyperinsulinémie et une partie importante de l'insuline sécrétée dans la veine porte y est extraite (Polonsky *et al.*, 1988).

Les principales études permettant de distinguer les effets respectifs de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie sur les cinétiques protéiques splanchniques de synthèse et de dégradation s'accordent sur le fait que l'hyperaminoacidémie stimule la synthèse des protéines splanchniques (Cayol *et al.*, 1997 ; Nygren & Nair, 2003 ; Scornik *et al.*, 1997), et plus particulièrement des protéines hépatiques (Scornik *et al.*, 1997 ; Shah *et al.*, 1999 ; Yoshizawa *et al.*, 1998). Parallèlement, la disponibilité des AA inhibe la dégradation des protéines splanchniques (Nygren & Nair, 2003), et plus particulièrement des protéines hépatiques (Mortimore *et al.*, 1987 ; Scornik *et al.*, 1997). Chez le rongeur, il semble que l'activation de la synthèse protéique requière une hyperaminoacidémie équilibrée : en effet, si une hyperleucinémie seule stimule différents facteurs d'initiation de la traduction, elle ne suffit pas à augmenter le taux de synthèse hépatique (Shah *et al.*, 1999). Par ailleurs, il a été montré chez le rat qu'un repas déficient en tryptophane, en leucine ou en AACR induirait une diminution de la synthèse protéique hépatique (Anthony *et al.*, 2001). Au contraire, l'inhibition de la dégradation protéique peut être obtenue avec une hyperleucinémie seule, comme avec l'augmentation des concentrations de certains AA spécifiques (glutamine, tyrosine, leucine, proline, méthionine, histidine ou tryptophane) (Mortimore *et al.*, 1987).

En ce qui concerne le rôle de l'insuline sur les synthèses protéiques splanchniques, il a été clairement établi chez l'homme que l'insuline stimule la synthèse de certaines protéines hépatiques exportées vers le plasma, comme l'albumine (De Feo *et al.*, 1991 ; De Feo *et al.*, 1993 ; Volpi *et al.*, 1996), mais pas celle du fibrinogène (Barazzoni *et al.*, 2003 ; De Feo *et al.*, 1991 ; De Feo *et al.*, 1993 ; Volpi *et al.*, 1996). Le mécanisme d'action de l'insuline se situerait au niveau transcriptionnel, puisqu'il a été montré sur des cultures d'hépatocytes de rats que l'insuline contrôle la transcription du gène de l'albumine (Kimball *et al.*, 1995 ; Lloyd *et al.*, 1987). De plus, si l'hyperinsulinémie et l'hyperaminoacidémie semblent toutes deux impliquées dans l'activation postprandiale de la synthèse hépatique de l'albumine (De Feo *et al.*, 1992 ; Volpi *et al.*, 1996), l'hyperinsulinémie pourrait en être le déterminant majeur car une hyperaminoacidémie seule ne stimule pas la synthèse d'albumine (Volpi *et al.*, 1996). A l'inverse, les données concernant la modulation par l'insuline des protéosynthèses hépatiques

totales ou splanchniques totales sont contradictoires, car si certaines études *in vitro* ou *in vivo* indiquent une stimulation de ces synthèses en présence d'insuline (De Feo *et al.*, 1992 ; Hsu *et al.*, 1992 ; Jefferson *et al.*, 1983 ; Shah *et al.*, 1999), d'autres rapportent une absence d'effet (Davis *et al.*, 1998 ; Mosoni *et al.*, 1993 ; Nygren & Nair, 2003 ; Scornik *et al.*, 1997 ; Yoshizawa *et al.*, 1998), voire une inhibition des synthèses (Meek *et al.*, 1998 ; Nair *et al.*, 1995). Ces résultats pourraient s'expliquer par une régulation différentielle des différentes protéines splanchniques par l'insuline (Volpi *et al.*, 1996). Ou bien, l'incapacité de certaines études à observer un effet de stimulation des protéosynthèses splanchniques par l'insuline pourrait provenir des conditions expérimentales particulières de ces études où l'hyperinsulinémie est isolée et s'accompagne probablement d'une hypoaminoacidémie, qui a pu être la cause de l'absence d'effet d'activation ou de l'effet d'inhibition observé (Meek *et al.*, 1998 ; Scornik *et al.*, 1997 ; Yoshizawa *et al.*, 1998). Enfin, les rares données concernant le rôle de l'hyperinsulinémie sur les dégradations protéiques splanchniques sont elles aussi contradictoires, puisque certaines études ont rapporté une inhibition des dégradations hépatiques ou splanchniques totales (Mortimore *et al.*, 1987 ; Nair *et al.*, 1995), et d'autres une absence d'effet (Meek *et al.*, 1998 ; Nygren & Nair, 2003), voire un effet de stimulation (Scornik *et al.*, 1997). Toutefois, l'hyperinsulinémie augmenterait l'efficacité avec laquelle l'hyperaminoacidémie inhibe la dégradation protéique (Mortimore *et al.*, 1987 ; Nair *et al.*, 1995).

1.3. Métabolisme périphérique à l'état nourri

1.3.1. Extraction et métabolisme périphérique des AA alimentaires

Le **Tableau 7** rassemble les données concernant le métabolisme périphérique des AA alimentaires à l'état nourri. Après l'ingestion d'un repas purement protéique, d'un repas mixte ou d'un mélange d'AA chez l'homme, la zone splanchnique ne relâche qu'environ un tiers de la charge protéique ingérée qui est alors disponible pour les tissus périphériques (Capaldo *et al.*, 1999 ; Elia *et al.*, 1989 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003 ; Tipton *et al.*, 1999). Ainsi, les études de Fouillet *et al.* ont montré que, 6 heures après l'ingestion d'un repas purement protéique (Fouillet *et al.*, 2000) ou d'un repas protéique mixte (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003), l'extraction périphérique de l'azote alimentaire varie entre 30 et 45% des quantités ingérées (Tableau 7). Des résultats similaires ont été obtenus chez l'animal, puisque 20 à 50% de

l'azote alimentaire est capté par les tissus périphériques après l'ingestion d'un repas mixte chez le rat, ce prélèvement variant selon le contenu protéique du repas et le niveau habituel d'apport protéique des animaux (Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001). Par ailleurs, les AACR sont davantage transférés vers la zone périphérique que les AAG. Certaines études déjà anciennes ont en effet montré que les AACR représentent plus de la moitié des AA relâchés par la zone splanchnique (Aoki *et al.*, 1976 ; Barrett *et al.*, 1986 ; Wahren *et al.*, 1976), et une étude plus récente rapporte que 38% des AACR alimentaires sont libérés vers la zone périphérique après l'ingestion d'une pizza chez l'homme, contre 29% pour les autres AA ingérés (Capaldo *et al.*, 1999). En ce qui concerne l'anabolisme périphérique, de rares études menées chez l'animal en phase postprandiale non stationnaire ont évalué l'incorporation de l'azote alimentaire dans différentes protéines périphériques après un repas protéique mixte (Tableau 7) : elle atteint environ 35 à 40% de l'ingéré 8 heures après l'ingestion du repas chez le porcelet (Bos *et al.*, 2002b) et environ 20 à 40% de l'ingéré 5 heures après le repas chez le rat (Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001). En outre, les résultats de modélisation compartimentale chez l'homme ont montré que, 6 heures après l'ingestion d'un repas purement protéique (Fouillet *et al.*, 2001) ou de repas protéiques mixtes (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003), l'incorporation de l'azote alimentaire dans les protéines périphériques s'échelonne entre 15 et 25% de l'azote ingéré (Tableau 7).

1.3.2. Modulation des vitesses de renouvellement des différentes protéines périphériques à l'état nourri

i. Vitesses de renouvellement des différentes protéines périphériques

La zone périphérique formée essentiellement des tissus musculaires (mais aussi du rein et de la peau) représente une masse très importante de protéines par rapport à la zone splanchnique. Cependant, les protéines musculaires possèdent des vitesses de renouvellement beaucoup plus faibles que celles des protéines splanchniques (Scornik *et al.*, 1997), puisque seulement 1 à 2% des protéines musculaires sont renouvelées quotidiennement chez l'homme (contre plus de 30% pour les protéines intestinales et environ 25% pour les protéines hépatiques) (Tableau 6) (Mansoor *et al.*, 1997 ; McNurlan *et al.*, 1993 ; Tessari *et al.*, 1996b). Par ailleurs, les vitesses de renouvellement des protéines musculaires sont plus faibles chez l'homme (1-2%) que chez l'animal (2-12% (Bregendahl *et al.*, 2004 ; Cortamira *et al.*, 1991 ; Lobley *et al.*, 2000 ; Mosoni *et al.*, 1993)). En outre, la contribution du muscle au renouvellement protéique corporel total ne dépasse pas 25% (Deutz *et al.*, 1999 ; Garlick & McNurlan, 1998 ; Tessari *et*

al., 1996b). Par ailleurs, il existe des variations de vitesse de renouvellement entre les différentes protéines musculaires, les protéines mitochondriales et les enzymes cytosoliques étant renouvelées plus rapidement que les protéines des myofibrilles (Deutz *et al.*, 1999). Par contre, le rein a un renouvellement protéique très rapide (plus de 40% par jour à l'état postabsorptif chez l'homme (Tessari *et al.*, 1996c)), si bien qu'il participerait à hauteur de 10% à la synthèse protéique corporelle totale malgré sa faible masse protéique. Enfin, la peau présente une vitesse de synthèse protéique supérieure à celle du muscle, de 4 à 13% par jour chez l'animal (Biolo *et al.*, 1994 ; Volpi *et al.*, 2000b ; Zhang *et al.*, 1998).

ii. Modulation des vitesses de renouvellement des protéines périphériques à l'état nourri

Les résultats concernant la modulation des vitesses de renouvellement des protéines périphériques à l'état nourri sont contradictoires (Tableau 6). Ainsi, l'ingestion d'un repas protéique mixte chez l'homme stimule la vitesse de synthèse des protéines musculaires dans certaines études (Halliday *et al.*, 1988 ; Rennie *et al.*, 1982 ; Tessari *et al.*, 1996a), mais pas dans d'autres (McNurlan *et al.*, 1993). La peau, elle, semble peu sensible aux modifications nutritionnelles et hormonales à court ou à long terme (Biolo *et al.*, 1994 ; Zhang *et al.*, 1998). Son métabolisme serait donc peu affecté par les passages entre état nourri et jeûne. Dans la peau, il y a en effet une très forte corrélation entre dégradation et synthèse protéiques à l'état postabsorptif comme à l'état postprandial (**Figure 9**) : ce serait les AA issus de la protéolyse et non les AA alimentaires qui seraient majoritairement utilisés pour les protéosynthèses locales afin d'assurer le renouvellement protéique (Zhang *et al.*, 1998 ; Zhang *et al.*, 2003). Enfin, la modulation du renouvellement protéique du rein à l'état nourri n'a pas encore été étudiée.

1.3.3. Anabolisme musculaire postprandial : rôles spécifiques de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie dans la régulation des cinétiques protéiques musculaires

L'ingestion d'un repas protéique mixte engendre une hyperaminoacidémie et une hyperinsulinémie qui sont ensuite impliquées dans le contrôle des vitesses de synthèse et de dégradation des protéines musculaires (Liu & Barrett, 2002 ; Wolfe, 2002). Cependant, les rôles spécifiques de l'hyperaminoacidémie et de l'hyperinsulinémie postprandiales comme activateurs de la synthèse et/ou inhibiteurs de la dégradation restent débattus (Prod'homme *et al.*, 2005).

i. Rôle de l'hyperaminoacidémie sur les cinétiques protéiques musculaires

Il a été clairement établi que la perfusion ou l'ingestion d'AA stimule la synthèse protéique musculaire chez le rat (Crozier *et al.*, 2005 ; Mosoni *et al.*, 1993) et chez le lapin (Zhang *et al.*, 2004). Chez l'homme, l'ingestion d'un repas protéique mixte (Rennie *et al.*, 1982 ; Tessari *et al.*, 1996b), l'ingestion d'un mélange d'AA donnés avec (Volpi *et al.*, 2000a) ou sans glucose (Katsanos *et al.*, 2005 ; Paddon-Jones *et al.*, 2004 ; Volpi *et al.*, 1999), ou la perfusion d'une solution d'AA (Bennet *et al.*, 1990 ; Svanberg *et al.*, 1996) s'accompagnerait d'une augmentation de 25 à 100% de la synthèse protéique musculaire, bien que ce résultat ait été controversé (McNurlan *et al.*, 1993). Par ailleurs, il est intéressant de noter que la synthèse protéique musculaire est largement augmentée en réponse à l'afflux d'AA chez le rat et chez l'homme dans les études où l'état nourri est créé *in vivo* par la perfusion intraveineuse d'AA (Bennet *et al.*, 1989 ; Bennet *et al.*, 1990 ; Biolo & Tessari, 1997 ; Bohe *et al.*, 2001 ; Volpi *et al.*, 1998) ou *in vitro* par l'incubation de muscles squelettiques en présence d'AACR (Dardevet *et al.*, 2000). Ces études permettent d'étudier plus directement l'effet de l'hyperaminoacidémie sur la synthèse protéique musculaire que celles où le repas est administré par voie orale, car dans ce dernier cas les AA alimentaires sont d'abord métabolisés par les tissus de la zone splanchnique, ce qui retarde et diminue leur disponibilité périphérique. Ainsi, la synthèse des protéines musculaires semble être activée par l'hyperaminoacidémie, qu'elle soit isolée (Anthony *et al.*, 2000a ; Bennet *et al.*, 1990 ; Bohe *et al.*, 2003 ; Tipton *et al.*, 1999) ou accompagnée d'une hyperinsulinémie (Anthony *et al.*, 2000a ; Fryburg *et al.*, 1995).

Au sein des AA, ce sont plus spécifiquement les AACR (Yoshizawa, 2004), et notamment la leucine (Dardevet *et al.*, 2000 ; Garlick, 2005), qui semblent être responsables de cette activation de la synthèse protéique musculaire. En particulier, il a été montré chez le rat que l'ingestion de leucine seule est aussi efficace que celle d'un repas complet pour activer la synthèse protéique musculaire (Anthony *et al.*, 2000a ; Anthony *et al.*, 2000b). En ce qui concerne ses mécanismes d'action, l'hyperaminoacidémie augmente la disponibilité des AA pour les synthèses en stimulant leur transport intracellulaire (Biolo *et al.*, 1997 ; Sheffield-Moore *et al.*, 2000 ; Volpi *et al.*, 1998 ; Volpi *et al.*, 1999) qui est faible à jeun (Tessari *et al.*, 1995), et cette disponibilité accrue en AA (en particulier en leucine) fournit des précurseurs pour la synthèse protéique (Wolfe, 2000) et permet en outre l'activation de différents facteurs de traduction des ARN messagers (en particulier mTOR) qui contrôlent la synthèse protéique (Anthony *et al.*, 2000a ; Crozier *et al.*, 2005 ; Greiwe *et al.*, 2001 ; Prod'homme *et al.*, 2005 ;

Vary *et al.*, 1999 ; Yoshizawa *et al.*, 1997 ; Yoshizawa *et al.*, 1998). Cependant, il a été montré que la stimulation de la synthèse protéique musculaire en réponse à une perfusion intraveineuse d'AA n'est que transitoire (Bohe *et al.*, 2001) : dans cette étude, la synthèse des protéines musculaires est largement stimulée pendant la période de 30 minutes à 2 heures après le début de la perfusion, puis revient ensuite à sa valeur basale malgré le maintien de l'hyperaminoacidémie (**Figure 10** et Tableau 6). Pour expliquer ce résultat, les auteurs émettent l'hypothèse d'un mécanisme de rétroaction permettant de stopper la stimulation des facteurs d'initiation de la traduction protéique induite par l'hyperaminoacidémie lorsque celle-ci se prolonge.

En ce qui concerne l'effet de l'hyperaminoacidémie sur la dégradation protéique musculaire, les résultats sont moins clairs. En effet, l'influx d'AA ne semble pas inhiber la dégradation protéique musculaire dans la majorité des études (Katsanos *et al.*, 2005 ; Paddon-Jones *et al.*, 2004 ; Tipton *et al.*, 1999 ; Volpi *et al.*, 1998 ; Volpi *et al.*, 1999), bien que le résultat contraire ait parfois été rapporté chez l'homme (Svanberg *et al.*, 1996) et chez l'animal (Frexes-Steed *et al.*, 1992), la leucine semblant alors largement responsable de cet effet.

ii. Rôle spécifique de l'hyperinsulinémie sur les cinétiques protéiques musculaires

La capacité de l'insuline à limiter la perte protéique, essentiellement musculaire, chez le diabétique insulino-dépendant a démontré très tôt l'importance de l'insuline dans la régulation du métabolisme protéique musculaire (Tessari, 1994). Chez l'homme sain, l'insuline semble inhiber la dégradation protéique dans la plupart des études (Fryburg *et al.*, 1995 ; Gelfand & Barrett, 1987 ; Nygren & Nair, 2003), et ce de manière dose dépendante (Meek *et al.*, 1998). Des études récentes soulignent également le rôle de l'insuline dans la stimulation de la synthèse (Nygren & Nair, 2003 ; Prod'homme *et al.*, 2005), remettant en cause l'idée classique selon laquelle l'insuline aurait essentiellement un effet sur la protéolyse (Anthony *et al.*, 2000a ; Fryburg *et al.*, 1995 ; Gelfand & Barrett, 1987 ; Meek *et al.*, 1998). Par ailleurs, l'hyperinsulinémie aurait des effets opposés sur la synthèse des différentes protéines musculaires : elle stimulerait la synthèse des protéines mitochondriales mais pas celle des protéines sarcoplasmiques ou contractiles (Boirie *et al.*, 2001). En outre, l'incapacité de certaines études à observer un effet de stimulation de la synthèse protéique musculaire par l'insuline (Arfvidsson *et al.*, 1991 ; Meek *et al.*, 1998) pourrait provenir de leurs conditions expérimentales particulières où l'hyperinsulinémie est isolée alors que la stimulation de la synthèse protéique musculaire serait fortement tributaire de la disponibilité simultanée d'AA (**Figure 11**) (Balage *et al.*, 2001 ; Bell *et al.*, 2005 ; Frexes-Steed *et al.*, 1992). En effet, une

hyperinsulinémie isolée engendre une hypoaminoacidémie périphérique susceptible de limiter la disponibilité des AA pour les synthèses (Biolo *et al.*, 1995a ; Frexes-Steed *et al.*, 1992 ; Tessari *et al.*, 1996c). Comme l'hyperaminoacidémie et l'hyperinsulinémie sont concomitantes dans les conditions physiologiques normales de la phase postprandiale, l'hyperinsulinémie pourrait être impliquée dans l'activation de la synthèse protéique musculaire de l'état nourri en jouant sur son efficacité (Biolo *et al.*, 1995a), même si l'hyperaminoacidémie en reste le déterminant majeur.

1.4. Métabolisme inter-organes, protéines labiles, homéostasie

Ces différentes données concernant les modifications métaboliques régionales induites par l'état nourri nous permettent de dresser le tableau suivant du fonctionnement global du système. Après une nuit de jeûne, le muscle est à l'état catabolique (la dégradation protéique excède la synthèse protéique) et relâche des AA vers la zone splanchnique qui les prélève et est à l'état anabolique (la protéosynthèse excède la protéolyse) (**Figure 12**) (Brosnan, 2003 ; Meek *et al.*, 1998). Lors du passage à l'état nourri, les échanges inter-organes d'AA sont modifiés : les tissus périphériques captent des AA alimentaires, et en particulier des AACR, provenant de la zone splanchnique, tandis qu'ils continuent à relâcher des AAG comme la glutamine et l'alanine vers l'intestin et le foie (**Figures 13 et 14**) (Capaldo *et al.*, 1999 ; Elia *et al.*, 1989 ; Wahren *et al.*, 1976). Les AACR sont peu extraits par les organes de la zone splanchnique, ce qui leur permet d'être fortement prélevés par les tissus périphériques et favorise l'action anabolique du repas sur le muscle, étant donné le rôle spécifique des AACR sur les cinétiques protéiques musculaires (Anthony *et al.*, 2000a ; Rennie *et al.*, 2006). Cependant, lors du passage à l'état nourri, les vitesses de synthèse protéique varient peu dans les tissus périphériques alors qu'elles sont largement augmentées dans les tissus splanchniques (Scornik *et al.*, 1997 ; Yu *et al.*, 1990). Ainsi, la part périphérique de l'utilisation corporelle totale de la leucine pour les protéosynthèses passe d'environ 80% à l'état postabsorptif à moins de 30% après l'administration d'un repas protéique chez le chien (Yu *et al.*, 1990). Par ailleurs, certaines études ont rapporté que les quantités d'AA captées par le muscle pendant les premières heures postprandiales sont inférieures aux quantités d'AAG qu'il continue de libérer vers la zone splanchnique (Aoki *et al.*, 1976 ; Barrett *et al.*, 1986 ; Yu *et al.*, 1990). Ainsi, l'existence d'un flux net d'azote depuis la zone périphérique vers la zone splanchnique persisterait pendant les premières heures de la phase postprandiale (Barrett *et al.*, 1986 ; Yu *et*

al., 1990). La réplétion protéique serait ainsi retardée dans les tissus périphériques, les pertes azotées obligatoires de la phase postabsorptive n'étant pas immédiatement compensées au début de la phase postprandiale (Barrett *et al.*, 1986 ; Elia *et al.*, 1989 ; Scornik *et al.*, 1997). La zone splanchnique joue un rôle central dans la cascade des phénomènes métaboliques impliqués dans l'homéostasie des protéines de l'organisme. En effet, l'accrétion protéique y est facilitée pendant les premières heures de la phase postprandiale, ce qui permet de gérer l'influx d'AA alimentaires. La notion de pool protéique labile a été introduite pour caractériser les protéines des tissus splanchniques qui présentent les plus grands pourcentages de gain et de perte pendant les périodes de réplétion et de privation protéiques (Scornik *et al.*, 1997). Ce pool protéique labile permettrait la rétention temporaire d'une partie des AA alimentaires dans les protéines splanchniques au début de la phase postprandiale, ce qui les préserverait de la désamination hépatique, amortirait l'élévation systémique des concentrations d'AA libres, et permettrait d'étaler dans le temps la libération de l'azote alimentaire vers la zone périphérique (De Feo *et al.*, 1992 ; Deutz *et al.*, 1998 ; Volpi *et al.*, 1996 ; Waterlow, 1995). De plus, la capacité de renouvellement rapide de ce pool protéique labile faciliterait la régulation homéostatique du métabolisme protéique. À ce titre, l'albumine qui est synthétisée dans le foie, exportée vers le plasma, puis hydrolysée dans différents tissus périphériques, permettrait le transfert inter-organes d'une partie des AA alimentaires en les préservant de l'oxydation et fournirait des AA essentiels pour les protéosynthèses locales (De Feo *et al.*, 1992 ; Elwyn *et al.*, 1968). Les AA ainsi véhiculés augmentent leur durée de demi-vie fonctionnelle, de quelques minutes lorsqu'ils sont libres (Schwenk *et al.*, 1985b) à une vingtaine de jours lorsqu'ils sont incorporés au sein d'une protéine telle que l'albumine (Elwyn *et al.*, 1968).

2. Modulations alimentaires du métabolisme régional de l'azote et des AA

Chez le sujet adulte en bonne santé, la déposition protéique postprandiale est essentiellement modulée par la quantité et la nature des protéines et des nutriments énergétiques non protéiques (glucides et/ou lipides) ingérés (Beaufrere *et al.*, 2000 ; Mariotti, 2001). La majorité des études concernant l'influence de l'alimentation sur les cinétiques protéiques postprandiales chez l'homme se sont placées au niveau du corps entier pour des raisons le plus souvent techniques ou éthiques, et ce malgré d'importantes différences régionales en terme de protéosynthèse et de protéolyse. Par conséquent, les résultats de ces études sont difficiles à

interpréter, d'autant plus qu'ils peuvent masquer des effets régionaux très disparates voire contraires (Deutz *et al.*, 1999 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Tessari, 1994). Dans la mesure du possible, nous nous intéresserons aux études ayant permis de déterminer l'influence de l'alimentation sur le métabolisme régional de l'azote et des AA en phase postprandiale.

2.1. Influence de la nature et de la quantité des protéines alimentaires

Le métabolisme de l'azote et des AA est modulé de manière complexe par les variations à la fois quantitatives (niveau d'apport protéique dans le repas ou dans le régime), qualitatives (nature de la source protéique alimentaire) et temporelles (cinétiques de digestion et de mise à disposition des AA pour l'organisme) de l'apport protéique alimentaire (Fouillet *et al.*, 2002a ; Tome & Bos, 2000).

2.1.1. Influence du niveau d'apport protéique

i. Effet de l'hyperaminoacidémie postprandiale : modulation de l'orientation métabolique des AA par la taille des pools précurseurs

Pendant la phase postprandiale, les AA alimentaires mis à disposition de l'organisme viennent alimenter les pools corporels d'AA libres qui contiennent également des AA endogènes provenant de la dégradation protéique et de la circulation artérielle (**Figure 15**). La taille de ces pools d'AA libres est augmentée par l'afflux d'AA alimentaires, ce qui inhibe la dégradation protéique et stimule l'utilisation des AA totaux (i.e., exogènes et endogènes) à la fois pour les synthèses protéiques (Millward *et al.*, 1996) et pour l'oxydation (Beliveau Carey *et al.*, 1993). De plus, cette stimulation de la protéosynthèse et de l'oxydation par l'hyperaminoacidémie postprandiale serait dose-dépendante (au delà d'une augmentation seuil des concentrations d'AA plasmatiques) (Giordano *et al.*, 1996). Par ailleurs, les AA ayant une plus grande affinité pour leurs ARNt-transférases que pour leurs enzymes de dégradation (Seve & Leterme, 1997 ; Waterlow, 1999), ils seraient préférentiellement utilisés pour les synthèses protéiques locales qui atteindraient rapidement leur activation maximale. Les AA en excès entreraient alors dans les voies d'oxydation, processus homéostatique permettant de contrôler les concentrations cellulaires en AA.

ii. Réponses métaboliques à une modification aiguë de l'apport protéique

L'essentiel des données de la littérature concerne les modifications métaboliques induites par des variations quantitatives chroniques de l'apport protéique, et très peu d'études ont permis d'évaluer les conséquences métaboliques d'une modification aiguë de l'apport protéique. Au niveau du corps entier, une augmentation de la quantité d'AA ingérés induit une hyperaminoacidémie accrue, ce qui entraîne une augmentation à la fois de l'oxydation des AA disponibles et de leur utilisation pour les protéosynthèses (Castellino *et al.*, 1987 ; Gibson *et al.*, 1996). Au niveau régional, l'intestin et le foie sont les organes les plus affectés par une augmentation aiguë de l'apport protéique car ils sont également les plus exposés à l'hyperaminoacidémie postprandiale. Ainsi, une élévation de l'apport d'AA stimule l'extraction intestinale (Rerat, 1993) et l'extraction splanchnique globale de certains AA (Hoerr *et al.*, 1993). Une étude menée chez le rat a également montré la forte implication du métabolisme splanchnique dans la gestion d'une augmentation aiguë de l'apport azoté : chez des rats adaptés à un régime normoprotéique (14% de protéines) et ingérant pour la première fois un repas hyperprotéique (50% de protéines), la rétention splanchnique de l'azote alimentaire est plus que doublée, tandis que sa rétention périphérique n'est augmentée que de 40%, l'augmentation de la production hépatique d'urée permettant de traiter l'essentiel des AA excédentaires (Morens *et al.*, 2001). La zone splanchnique joue donc un rôle majeur dans la modulation du niveau d'apport protéique alimentaire, en exerçant un effet « tampon » qui permet de limiter l'ampleur des variations systémiques des concentrations d'AA.

iii. Réponses métaboliques à des variations chroniques de l'apport protéique

La plupart des études concernant l'effet de variations chroniques de l'apport protéique ont été menées chez l'homme à l'état stationnaire (Badaloo *et al.*, 1999 ; El-Khoury *et al.*, 1994 ; Faber *et al.*, 2003 ; Forslund *et al.*, 1998 ; Forslund *et al.*, 1999 ; Langran *et al.*, 1992 ; McClelland & Jackson, 1996 ; McClelland *et al.*, 1997 ; Young *et al.*, 2000a), et montrent qu'une augmentation (diminution) chronique du niveau d'apport protéique se traduit essentiellement par une augmentation (diminution) de la production d'urée (**Tableau 8**). Par ailleurs, il a été avancé que la production d'urée sur 24 heures serait proportionnelle au niveau habituel d'apport chez le volontaire sain (**Figure 16**) (Young *et al.*, 2000a), bien que ce résultat ait été controversé (Jackson, 1998). L'analyse des valeurs de production d'urée obtenues dans différentes études (Badaloo *et al.*, 1999 ; El-Khoury *et al.*, 1994 ; Faber *et al.*, 2003 ; Forrester *et al.*, 1994 ; Forslund *et al.*, 1998 ; Hibbert & Jackson, 1991 ; McClelland &

Jackson, 1996 ; McClelland *et al.*, 1997 ; Young *et al.*, 2000a) pour des niveaux d'apport variés s'échelonnant entre 0 et 3 g.kg⁻¹.j⁻¹ et sous différentes conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques (Tableau 8) semble corroborer cette hypothèse (**Figure 17**). Les plus rares études menées à l'état nourri ont également montré que le niveau habituel d'apport stimule la production d'urée en phase postprandiale chez l'homme (**Figure 18**) (Forslund *et al.*, 1998 ; Forslund *et al.*, 1999).

Chez le sujet sain couvrant ses besoins protéiques, la contribution de l'azote uréique au bilan azoté total resterait faible (El-Khoury *et al.*, 1996). Toutefois, il a été avancé que l'hydrolyse de l'urée pourrait augmenter dans certaines conditions où le bilan azoté est menacé, comme par exemple pendant la renutrition (Badaloo *et al.*, 1999), ou encore lors d'apports protéiques limités à certaines étapes de la grossesse (McClelland *et al.*, 1997). Dans ces situations, l'hydrolyse de l'urée pourrait passer d'environ 20% à 30% en condition normale (Badaloo *et al.*, 1999 ; El-Khoury *et al.*, 1994 ; Forrester *et al.*, 1994 ; Hibbert & Jackson, 1991 ; Wrong & Vince, 1984 ; Young *et al.*, 2000a) à plus de 50% de l'urée produite (McClelland *et al.*, 1997). De plus, la proportion d'ammoniaque absorbée reconduisant à la formation d'urée serait alors de 10 à 20% (Badaloo *et al.*, 1999 ; Jackson, 1998), alors qu'elle est estimée à 40 ou 70% chez le sujet normal (Jackson *et al.*, 1984 ; Long *et al.*, 1978). L'augmentation des quantités d'azote uréique épargnées permettrait alors à l'organisme de répondre à un besoin en AA non essentiels (**Figure 19**). Cependant, malgré de nombreux travaux sur le sujet, le contrôle de l'hydrolyse de l'urée en fonction du niveau d'apport protéique reste très controversé. Ainsi, selon les études, la proportion d'urée produite qui n'est pas excrétée mais hydrolysée (Tableau 8, dernière colonne : UH/UP) serait soit indépendante des apports protéiques (Badaloo *et al.*, 1999 ; Faber *et al.*, 2003 ; McClelland & Jackson, 1996 ; McClelland *et al.*, 1997), ou bien augmenterait avec eux (Young *et al.*, 2000a), ou bien encore diminuerait quand les apports augmentent (Forslund *et al.*, 1998 ; Jackson *et al.*, 1990).

En outre, lorsque des individus ayant un apport marginalement adéquat en protéines (0,6 g.kg⁻¹.j⁻¹) sont adaptés à un apport protéique plus important (1,5 g.kg⁻¹.j⁻¹), le surplus alimentaire d'AA est alors pour les deux tiers dirigé vers l'oxydation et pour un tiers vers la synthèse au niveau du corps entier (Motil *et al.*, 1981), ce qui entraîne un plus grand anabolisme postprandial (plus de synthèse et moins de dégradation protéique) malgré une diminution de l'efficacité d'utilisation des AA ingérés pour le renouvellement des protéines corporelles (Pacy *et al.*, 1994). Une étude récente chez l'homme a également montré que l'efficacité de la rétention postprandiale de l'azote alimentaire au niveau du corps entier est diminuée lorsque les sujets passent d'un régime normoprotéique (1 g.kg⁻¹.j⁻¹) à un régime hyperprotéique (2

$\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), et ce après l'ingestion d'un même repas test (répartition énergétique : 15% de protéines, 55% de glucides et 30% de lipides) (Morens *et al.*, 2003). Enfin, une modification chronique de l'apport protéique peut avoir des effets variables sur les vitesses de renouvellement des protéines selon les tissus. Par exemple, chez le volontaire sain, le taux de synthèse de certaines protéines splanchniques exportées vers le plasma serait diminué lors du passage d'un apport protéique normal ($1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) à un apport marginalement adéquat ($0,6 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), tandis que celui du fibrinogène serait augmenté (**Figure 20**) (Jackson *et al.*, 2001).

2.1.2. Influence de la nature de la source protéique et de sa composition en AA

i. Effets de la nature des protéines alimentaires sur le métabolisme régional

Après l'ingestion d'un repas protéique, les AA alimentaires pénètrent tout d'abord dans la zone splanchnique, ce qui fait que le profil en AA dans le pool précurseur splanchnique est largement influencé par la composition en AA de la protéine ingérée, même si d'autres facteurs peuvent intervenir tels que la digestibilité individuelle des AA alimentaires et la réabsorption des sécrétions endogènes par l'intestin (Reeds, 1990). La nature de la protéine ingérée, et en particulier sa composition en AA, affecte ainsi la composition du pool précurseur splanchnique, qui détermine l'orientation relative des AA vers l'oxydation ou les protéosynthèses locales. Le métabolisme splanchnique pourrait donc être particulièrement influencé par la composition en AA du repas, d'autant plus que les AA d'origine entérale constituent la source principale de production d'énergie par l'intestin (Stoll *et al.*, 1999b) et d'utilisation anabolique par les organes splanchniques (Stoll *et al.*, 1999a). Ceci suggère que la zone splanchnique soit le lieu privilégié de la modulation du catabolisme des AA et de l'anabolisme protéique en réponse à des variations de composition des protéines ingérées. Ainsi, une protéine de qualité nutritionnelle moyenne ou faible stimulerait l'uréogénèse hépatique, la qualité protéique étant fortement (et négativement) corrélée à la concentration plasmatique d'urée (Eggum, 1970). Il a par exemple été montré, chez le porc en croissance recevant un repas protéique mixte par perfusion intra-gastrique, que le remplacement des caséines du repas par des protéines de soja conduit à une augmentation de la production hépatique d'urée et à une réduction de l'anabolisme et des protéosynthèses dans l'intestin et dans le foie (Deutz *et al.*, 1998). En ce qui concerne les protéosynthèses hépatiques, la synthèse d'albumine est également diminuée chez l'homme après dix jours d'adaptation à un régime contenant majoritairement des protéines végétales vs. animales, même si cet effet disparaît lorsque le régime à base de protéines végétales est supplémenté avec du soja afin

d'équilibrer les quantités de protéines disponibles dans les deux régimes (Caso *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'effet de la nature de la protéine alimentaire sur la synthèse protéique pourrait être différent selon le tissu considéré, probablement en raison de la variabilité des besoins spécifiques en AA des différents tissus splanchniques et périphériques. L'effet différentiel des AA alimentaires sur les synthèses protéiques régionales a été observé dans différentes études chez l'homme ou chez l'animal, mais les résultats obtenus sont assez disparates. Ainsi, chez des rats ayant ingéré un régime déficient en thréonine, par rapport à des animaux supplémentés, l'oxydation et la synthèse des protéines hépatiques constitutives et exportées sont augmentées, tandis que la synthèse des protéines périphériques (muscle, peau) est diminuée (Sidransky & Verney, 1965). Au contraire, chez des porcs recevant une perfusion intra-gastrique d'un repas mixte contenant des protéines de soja par rapport à ceux recevant des caséines, la synthèse protéique est diminuée dans les organes splanchniques et augmentée dans le muscle (Deutz *et al.*, 1998). Chez le poulet en croissance nourri *ad libitum* avec un régime déficient en lysine vs. équilibré en AA, la protéosynthèse est diminuée à la fois dans le foie et dans le muscle (Tesseraud *et al.*, 1996). Chez l'homme en situation d'hyperinsulinémie, la déficience en isoleucine dans une perfusion intraveineuse d'AA diminue la protéosynthèse totale au profit de l'oxydation, et ceci sans affecter la synthèse hépatique d'albumine ou de fibrinogène (Lecavalier *et al.*, 1991). De plus, cet effet n'apparaît pas lorsque la perfusion d'AA est déficiente en thréonine. Il est donc difficile de dégager une loi générale concernant l'effet de la composition en AA du repas sur le métabolisme régional, car cet effet pourrait être la résultante complexe des effets synergiques ou opposés des teneurs relatives en certains AA dans la protéine alimentaire et du statut nutritionnel des individus.

ii. Notion de qualité protéique

Bien qu'il paraisse difficile d'estimer la qualité d'une protéine alimentaire à partir du simple examen de sa teneur en AA (Bos *et al.*, 2002a ; Deutz *et al.*, 1998 ; Mariotti *et al.*, 2001 ; Millward, 1997 ; Tome & Bos, 2000), la méthode classique d'évaluation de la qualité protéique repose sur la comparaison de la composition en AA de la protéine considérée à celle d'une protéine de référence virtuelle, censée couvrir les besoins en AA de populations qui la consommeraient à hauteur des recommandations d'apport protéique (Food and Nutrition Board, 2005). Cependant, la composition de cette protéine de référence reste un sujet de débats du fait des importantes incertitudes à la fois théoriques et méthodologiques liées à la définition et à la mesure des besoins en AA chez l'homme (Bos *et al.*, 2002a). En particulier, ces besoins pourraient dépendre du niveau habituel d'apports protéique et/ou énergétique, en

raison des fortes capacités adaptatives de l'organisme adulte (Millward, 1997). Chez l'homme, il a été montré par exemple que l'utilisation postprandiale aiguë des protéines de blé était plus importante que celle attendue au vu de leur simple composition en AA et notamment de leur faible teneur en lysine (Millward *et al.*, 2000). Par ailleurs, l'élévation du niveau habituel d'apport protéique pourrait accentuer les différences d'utilisation postprandiale entre les différentes sources protéiques chez l'homme, la moindre rétention postprandiale des protéines de soja par rapport aux protéines de lait étant davantage accentuée après adaptation préalable à un régime hyperprotéique ($2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) qu'à un régime normoprotéique ($1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) (**Figure 21**) (Morens *et al.*, 2003). Ainsi, il semble que l'évaluation des effets d'une protéine alimentaire sur le métabolisme protéique nécessite le suivi *in vivo* des modifications métaboliques aiguës induites par son ingestion, et ce si possible dans des conditions nutritionnelles et physiologiques maîtrisées (Bos *et al.*, 2002a ; Tome & Bos, 2000). La notion de qualité protéique devrait prendre en compte des informations encore difficilement accessibles, en particulier chez l'homme, comme la capacité de la source protéique ingérée à promouvoir l'accrétion protéique à court ou à long terme dans différents organes et à limiter la production et l'excrétion d'urée (Bos *et al.*, 2002a ; Deutz *et al.*, 1998).

2.1.3. Influence des cinétiques de mise à disposition des protéines alimentaires

Les vitesses d'évacuation gastrique et de transit intestinal semblent n'avoir que peu d'effet sur la digestibilité oro-iléale réelle des protéines alimentaires, c'est-à-dire sur la quantité d'AA alimentaires absorbée dans l'intestin grêle (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 2000b ; Weber & Ehrlein, 1998a). Par contre, ces phénomènes sont des facteurs capables de moduler le métabolisme protéique postprandial, puisqu'ils déterminent le profil d'apparition des AA dans les pools d'AA libres de l'organisme (**Figure 22**). Tout d'abord, la nature de la protéine ingérée peut affecter la vitesse d'évacuation gastrique des AA alimentaires. Par exemple, chez l'homme ayant ingéré un bolus liquide contenant des caséines ou des β -lactoglobulines, l'évacuation gastrique de la caséine est plus lente que celle des protéines du lactosérum, car la caséine précipite à pH acide et serait partiellement et temporairement retenue sous forme solide dans l'estomac (Mahe *et al.*, 1996). De même, des études récentes de modélisation compartimentale du métabolisme de l'azote alimentaire à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme ont montré que l'évacuation gastrique de l'azote alimentaire est plus lente après l'ingestion de repas mixtes (bolus) contenant des protéines de soja *vs.* des protéines de lait, et ce quel que soit le niveau habituel d'apport protéique (normoprotéique *vs.*

hyperprotéique) (Fouillet & Tome, 2006) (**Tableau 9**). Chez le porc, une étude récente a montré que le passage brutal d'un régime à base de protéines de lait à un régime à base de protéines de blé ou d'orge induit une accélération temporaire de la vitesse d'évacuation gastrique du repas (Boudry *et al.*, 2004). Cependant, chez des rats ayant ingéré un repas protéique mixte, la vitesse d'évacuation gastrique des protéines de lait ne diffère pas de celle des protéines de soja (Hara *et al.*, 1992). Bien que la vitesse d'évacuation gastrique soit un déterminant majeur du transit gastro-intestinal, la vitesse de transit du chyme dans l'intestin grêle est aussi modulée de manière indépendante par la nature de la source protéique (Hara *et al.*, 1992 ; Zhao *et al.*, 1996). Finalement, on distingue les protéines « lentes » des protéines « rapides », selon la vitesse à laquelle les AA alimentaires sont mis à disposition de l'organisme (Boirie *et al.*, 1997a ; Dangin *et al.*, 2001).

Différents modèles ont été proposés pour représenter de telles protéines lentes et rapides et pour comparer les effets respectifs de leur ingestion sur le métabolisme protéique postprandial : la caséine (protéine lente) vs. les protéines du lactosérum (protéines rapides) (Boirie *et al.*, 1997a), ou bien la caséine (lente) vs. un mélange d'AA (rapide) mimant sa composition, ou bien encore l'administration en plusieurs petits bolus répétés (lente) vs. en un bolus unique (rapide) de protéines du lactosérum (Dangin *et al.*, 2001). Dans ces trois cas, l'hyperaminoacidémie postprandiale est assez différente entre les deux modèles de protéines testés, puisqu'elle est élevée mais temporaire avec une protéine rapide, tandis qu'elle est prolongée mais d'amplitude faible avec une protéine lente. L'hyperaminoacidémie plus brusque et importante après l'ingestion d'une protéine rapide stimule davantage l'oxydation et la synthèse protéique corporelle totale par rapport à ce qui est observé après l'ingestion d'une protéine lente. Au contraire, une protéine lente inhibe davantage la protéolyse corporelle totale, probablement en raison de l'hyperaminoacidémie plus prolongée et soutenue qu'elle engendre (Boirie *et al.*, 1997a ; Dangin *et al.*, 2001). Finalement, le bilan protéique postprandial de leucine est meilleur après l'ingestion d'une protéine lente. Contrairement aux études classiques du métabolisme protéique qui étudient les phénomènes postprandiaux en créant un état nourri non physiologique car stationnaire (ingestions répétées de petits bolus, perfusion continue de nutriments...), ces dernières études ont permis de mettre en évidence l'importance des facteurs cinétiques de digestion et de mise à disposition des AA alimentaires pour l'organisme, facteurs qui sont indépendants de la simple composition en AA de la protéine ingérée (Dangin *et al.*, 2001).

2.2. Influence de la quantité et de la nature des nutriments énergétiques non protéiques du repas

La quantité et la nature des constituants énergétiques non protéiques du repas modulent également le métabolisme azoté et le gain protéique postprandial (Millward, 2004 ; Reeds & Fuller, 1983). Tout d'abord, le métabolisme des protéines et des AA est intimement lié au métabolisme énergétique, car il implique différentes réactions énergie-dépendantes (Seve & Ponter, 1997). Ainsi, le renouvellement des protéines corporelles représente environ 5 à 20% de la dépense énergétique de repos (De Feo, 1996 ; Liu & Barrett, 2002). De plus, les AA peuvent être utilisés pour produire de l'énergie (**Figure 23**) (Jungas *et al.*, 1992), ce qui suggère que le statut énergétique de l'organisme pourraient moduler l'orientation métabolique des AA. Ainsi, l'ingestion de nutriments énergétiques non protéiques induit un effet d'épargne sur le métabolisme de l'azote (Munro, 1964). A l'état nourri, l'effet des glucides semble être le plus important du fait de leur participation à la dépense énergétique mais aussi en raison de l'hyperinsulinémie qu'ils engendrent (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Tessari *et al.*, 1996c). En effet, l'hyperinsulinémie joue un rôle anabolique sur différentes protéines et inhibe la néoglucogenèse (Newsholme & Dimitriadis, 2001).

2.2.1. Rôle sur l'oxydation des AA

Le contenu énergétique du repas joue sur l'utilisation des AA alimentaires en modulant leur contribution à la production d'énergie (Krempf *et al.*, 1993), et ce de manière différente selon la nature des nutriments énergétiques ingérés. Chez l'homme, l'ajout de saccharose à la perfusion intra-duodénale d'un mélange d'AA réduit l'oxydation postprandiale de la leucine (Krempf *et al.*, 1993). De plus, l'addition de saccharose à un repas composé de protéines de lait réduit l'utilisation de l'azote alimentaire pour la production d'urée chez l'homme, et cet effet n'est pas retrouvé lorsque les glucides du repas sont remplacés par des lipides (Fouillet *et al.*, 2001 ; Gaudichon *et al.*, 1999). Chez le porc, la production totale d'urée est également diminuée en réponse à un supplément de glucides mais pas de lipides (Reeds *et al.*, 1987). Enfin, chez des sujets sains adaptés à un régime normoprotéique, l'augmentation du ratio glucides / lipides au sein du régime réduit l'excrétion urinaire d'azote (**Figure 24**) sans modifier le métabolisme protéique postabsorptif, ce qui semble indiquer qu'un apport habituel minimal de glucides est nécessaire à une utilisation optimale des AA alimentaires (Bisschop *et al.*, 2003). La spécificité des glucides dans cet effet d'épargne des AA s'explique

probablement par la compétition qui a lieu entre les AA et le glucose dans les voies énergétiques en phase postprandiale (Moore *et al.*, 1998). Ainsi, un apport exogène de glucose serait nécessaire pour limiter la néoglucogenèse hépatique (Capaldo *et al.*, 1999).

2.2.2. Rôle sur l'extraction splanchnique des AA alimentaires et les cinétiques protéiques régionales

L'extraction splanchnique des AA alimentaires semble varier selon la composition énergétique du repas, mais les données obtenues chez l'homme et chez l'animal sont contradictoires. Ainsi, en présence d'une charge glucidique dans le repas, l'extraction splanchnique des AA augmenterait chez le chien (Bloomgarden *et al.*, 1981) tandis que chez l'homme, elle diminuerait pour la leucine et ne varierait pas pour la phénylalanine (Krempf *et al.*, 1993). Cependant, ces études diffèrent par le mode d'administration du repas qui est ingéré chez le chien (Bloomgarden *et al.*, 1981) mais administré par perfusion intra-duodénale chez l'homme (Krempf *et al.*, 1993). Lorsqu'ils sont ingérés, les glucides retardent l'évacuation gastrique des AA alimentaires, ce qui module la mise à disposition des AA alimentaires pour l'organisme et leur utilisation splanchnique ultérieure (Bloomgarden *et al.*, 1981) alors que cet effet cinétique n'a pas lieu lorsque les glucides sont directement perfusés au niveau duodénal (Krempf *et al.*, 1993). Chez le poussin préalablement dénutri, la nature du contenu énergétique du repas module les taux de protéosynthèse hépatique et musculaire, qui sont davantage stimulés après l'ingestion de protéines et de glucides qu'après l'ingestion de protéines et de lipides ou de protéines seules (Yaman *et al.*, 2000). Cet effet de stimulation des protéosynthèses par les glucides alimentaires pourrait impliquer différents mécanismes : les glucides alimentaires pourraient agir via l'hyperinsulinémie qu'ils engendrent et/ou leur effet d'épargne sur les AA (qui sont alors davantage disponibles pour les synthèses) et/ou leur rôle sur la vitesse d'évacuation gastrique et les cinétiques de mise à disposition des AA alimentaires pour l'organisme.

En conclusion, l'assimilation des protéines alimentaires est un processus complexe qui met un jeu une cascade de phénomènes métaboliques contrôlant la distribution, le métabolisme et l'utilisation anabolique des AA alimentaires dans les différents tissus (intestinaux, hépatiques et musculaires) de l'organisme. En particulier, les organes splanchniques (intestin et foie) jouent un rôle prépondérant dans la gestion postprandiale de l'influx des AA d'un repas. En effet, en modulant leurs activités de protéosynthèse et/ou d'uréogénèse, ils permettent de

réguler les quantités d'AA mises à disposition des tissus périphériques pour compenser les pertes postabsorptives d'azote. En outre, de nombreux facteurs alimentaires, tels que la composition du repas et celle du régime, influencent le niveau et la localisation du gain protéique postprandial. Cependant, peu de données sont actuellement disponibles chez l'homme concernant le métabolisme régional de l'azote alimentaire et sa modulation à l'état nourri, et ce malgré l'importance de ces phénomènes pour l'évaluation de la qualité protéique et les recommandations d'apport.

B. ETAT DES LIEUX SUR LA MODELISATION COMPARTIMENTALE DU MÉTABOLISME DES PROTÉINES, DES AA ET DE L'AZOTE

Parmi les différents types de modèles mathématiques utilisés en physiologie (Carson & Cobelli, 2001), les modèles compartimentaux semblent particulièrement bien adaptés à la modélisation du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote (Cobelli *et al.*, 1991 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet, 2002 ; Toffolo *et al.*, 2003). En effet, l'utilisation de modèles compartimentaux se justifie par la caractéristique structurelle forte de l'organisme (notion de compartiment métabolique), et par le fait que les transferts de protéines, d'AA et d'azote d'un compartiment à un autre de l'organisme sont représentés de manière satisfaisante par des lois simples de proportionnalité à la taille des compartiments source (Cobelli *et al.*, 1991 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Rathmacher *et al.*, 1995). Dans cette deuxième partie de l'introduction, nous allons donc expliciter la nature et le fonctionnement des modèles compartimentaux, puis nous dresserons un état des lieux des applications de ces modèles à l'étude du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote chez l'homme et chez l'animal.

1. Les modèles compartimentaux

Les modèles compartimentaux permettent d'étudier l'évolution au cours du temps de quantités de substance au travers de blocs homogènes nommés compartiments, et ils représentent le comportement du système à l'étude au moyen d'équations relatives aux propriétés de ces compartiments. Ainsi, les modèles compartimentaux sont décrits mathématiquement par des équations différentielles ordinaires (EDO), dont les variables d'état peuvent par exemple représenter les tailles des compartiments et les paramètres, les taux de transfert de substance entre ces compartiments (Jacquez, 1996 ; Pont *et al.*, 1998).

1.1. Définitions

Les définitions suivantes peuvent être retrouvées dans différents ouvrages (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996) et publications (Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984).

Un modèle à compartiments ou modèle compartimental (**Figure 25**) est constitué d'un nombre fini de sous-unités appelées compartiments, qui échangent de la matière entre eux (DiStefano & Landaw, 1984).

Un compartiment représente une quantité homogène de substance ayant une cinétique uniforme et discernable de transport et/ou de transformation (Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Dans un système métabolique ou nutritionnel, si une substance (e.g., l'azote) est présente dans différents emplacements et/ou sous différentes formes, un compartiment peut alors représenter la quantité de substance présente dans un emplacement particulier (e.g., l'azote présent dans la lumière intestinale), ou celle présente sous une forme particulière (e.g., l'azote de l'urée corporelle), ou encore celle présente dans un emplacement particulier et sous une forme particulière (e.g., l'azote des AA libres musculaires) (Carson *et al.*, 1981). De plus, parmi les compartiments d'un modèle, on distingue ceux qui ne sont pas accessibles à la mesure des compartiments qui sont accessibles expérimentalement et pour lesquels on dispose de données (Jacquez, 1996).

Un transfert de substance représente généralement un transport et/ou une transformation de substance entre deux compartiments (DiStefano & Landaw, 1984). Ainsi, un transfert de substance peut représenter un déplacement physique de matière (e.g., le transit de l'azote alimentaire à travers les différents compartiments du tractus gastro-intestinal), une transformation biochimique (e.g., la production d'urée à partir de l'azote des AA catabolisés dans le foie), ou une combinaison des deux (e.g., la synthèse de protéines dans la zone splanchnique et leur exportation dans la circulation sanguine) (Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Par ailleurs, des entrées de matière peuvent s'effectuer depuis l'extérieur du système vers un ou plusieurs compartiments du modèle (e.g., l'administration orale, entérale et/ou parentérale de nutriments). De même, des sorties de matière peuvent s'opérer vers l'extérieur du système depuis un ou plusieurs compartiments du modèle (e.g., l'élimination de l'azote dans les fèces, les urines, la sueur...).

1.2. Principes et formalisme

1.2.1. Principe de conservation de la masse et formulation générale du problème

Un modèle compartimental est généralement caractérisé par un jeu d'EDO du premier ordre qui décrivent l'évolution au cours du temps des variables d'état du modèle, i.e., des tailles

(quantités, masses, concentrations...) de ses compartiments (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). L'écriture de ces équations repose sur le principe de conservation de la masse (Jacquez, 1996). Appliqué au compartiment i à l'instant t , ce principe traduit le fait que pendant un court intervalle de temps dt , la variation élémentaire $dq_i(t)$ de la quantité de matière $q_i(t)$ présente dans le compartiment i est égale à la différence entre les sommes des flux entrants ($\sum F_E(t)$) et sortants ($\sum F_S(t)$) :

$$\frac{dq_i(t)}{dt} = \sum F_E(t) - \sum F_S(t)$$

Dans un système métabolique, les flux d'entrée de matière dans un compartiment concernent généralement des nutriments issus de la digestion ou de la mobilisation de certaines réserves (e.g., dégradation protéique), tandis que les flux de sortie représentent le plus souvent les quantités de substance qui sont dirigées vers les synthèses et/ou les processus d'oxydation (**Figure 26**). Les flux d'entrée et de sortie assurent le renouvellement (ou turnover) de la substance présente dans le compartiment considéré.

Plus précisément, si l'on considère le $i^{\text{ème}}$ compartiment d'un modèle à n compartiments (**Figure 27**), l'EDO régissant son évolution au cours du temps s'écrit de la manière suivante :

$$\frac{dq_i(t)}{dt} = \sum_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n F_{i,j}(t) - \sum_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n F_{j,i}(t), \quad (1)$$

où $F_{i,j}(t)$ représente le flux de matière entrant à l'instant t dans le compartiment i depuis le compartiment j ($j \neq 0$) ou depuis l'extérieur du système ($j=0$), et $F_{j,i}(t)$ représente le flux de matière sortant à l'instant t du compartiment i vers le compartiment j ($j \neq 0$) ou vers l'extérieur du système ($j=0$).

1.2.2. Modèles linéaires et non linéaires

Dans la plupart des modèles des systèmes nutritionnels, les flux de matière sortant d'un compartiment sont supposés être proportionnels à la quantité de matière présente dans le compartiment source (Jacquez, 1996). Ainsi, le flux de matière sortant du $i^{\text{ème}}$ compartiment d'un modèle à n compartiments vers un autre compartiment j du modèle ou vers l'extérieur du système s'écrit :

$$F_{j,i}(t) = f_{j,i}(\mathbf{q}, t) \times q_i(t), \quad \forall j = 0, \dots, n, j \neq i$$

Dans cette équation, la loi de proportionnalité $f_{j,i}(\mathbf{q}, t)$ représente la fraction de substance transférée par unité de temps du compartiment i au compartiment j ($j \neq 0$) ou à l'extérieur du système ($j=0$). Si pour tous les compartiments du modèle, cette loi est constante ou ne dépend que du temps, le modèle est linéaire (Jacquez, 1996). Par contre, s'il existe (au moins) un compartiment i pour lequel cette loi dépend de certaines variables d'état du modèle, le modèle est non linéaire (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). Des exemples de lois linéaires et non linéaires sont donnés dans la **Fiche Technique 1**.

L'équation (1) devient alors :

$$\frac{dq_i(t)}{dt} = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^n f_{i,j}(\mathbf{q}, t) \times q_j(t) - q_i(t) \times \sum_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n f_{j,i}(\mathbf{q}, t) + F_{i,0}(t) = \sum_{j=1}^n f_{i,j}(\mathbf{q}, t) \times q_j(t) + F_{i,0}(t), \quad (2)$$

$$\text{avec } f_{i,i}(\mathbf{q}, t) = - \sum_{\substack{j=0 \\ j \neq i}}^n f_{j,i}(\mathbf{q}, t).$$

Dans le cas d'un modèle linéaire à coefficients constants (dont la formulation mathématique est décrite dans la **Fiche Technique 2**), les flux de matière sortant des compartiments du modèle sont régis par la loi d'action de masse, c'est-à-dire que la quantité de substance présente dans un compartiment détermine la valeur des flux de sortie du compartiment à un coefficient multiplicatif près (Figure 27). Ces coefficients, i.e., les lois de proportionnalité $f_{j,i}(\mathbf{q}, t)$, sont alors classiquement notées $k_{j,i}$ et appelées paramètres (ou taux de transfert) du modèle.

1.2.3. Outils logiciels

En écrivant l'équation (1) pour chacun des compartiments d'un modèle à n compartiments, on obtient un jeu de n EDO du premier ordre qui décrit l'évolution temporelle du système. La résolution de ce jeu d'EDO, ou résolution du problème direct ou encore simulation, est une activité essentielle du modélisateur qui consiste à utiliser le modèle pour simuler l'évolution des compartiments du système sur la période de temps considérée (Carson & Cobelli, 2001). Le plus souvent, ce jeu d'EDO est trop complexe pour être résolu de manière analytique mais de nombreux logiciels proposent des méthodes diverses de résolution numérique du problème direct (**Fiche Technique 3**) : SAAM/CONSAAM, WINSAM, SAAM II, SIMUSOLV, ACSL OPTIMIZE, NONMEM, STELLA, DYNAMO, MODELMAKER, MATLAB, SCILAB...

1.3. Structures, valeurs et états particuliers

1.3.1. Structures particulières

Les modèles compartimentaux peuvent avoir des structures particulières, comme la structure caténaire (dans laquelle les compartiments forment une chaîne, chacun d'eux n'échangeant de la matière qu'avec ses deux voisins immédiats) ou la structure mamillaire (dans laquelle il y a un compartiment central, tous les autres compartiments n'échangeant de la matière qu'avec lui) (**Figure 28**) (DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996 ; Wolfe, 1992). Le plus souvent, les modèles compartimentaux des systèmes nutritionnels sont la concaténation de structures caténares et mamillaires (e.g., les modèles du métabolisme de la leucine (Cobelli *et al.*, 1991), de l'azote (Fouillet *et al.*, 2000) ou du zinc (Miller *et al.*, 2000) au niveau du corps entier chez l'homme). En particulier, une structure caténaire est généralement utilisée pour décrire le transit d'une substance à travers le tractus gastro-intestinal (e.g., le transit de différents nutriments dans l'estomac, l'intestin et le côlon chez le porc (Bastianelli *et al.*, 1996) ou le transit de l'azote alimentaire dans l'estomac et l'intestin proximal et distal chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2003)). En outre, une structure mamillaire dans laquelle les seules entrées et sorties de matière s'effectuent via le compartiment central est souvent utilisée pour décrire la distribution d'une substance qui a été administrée dans le sang et se répartit ensuite dans les différents pools de l'organisme (e.g., le modèle corps entier des cinétiques du bicarbonate chez l'homme (Saccomani *et al.*, 1995)). Enfin, certains modèles comportent des délais, qui peuvent être matérialisés sous la forme d'un compartiment additionnel (e.g., un compartiment représentant le temps de séquestration du zinc dans le côlon avant son excrétion dans les fèces (Miller *et al.*, 2000)) ou d'un paramètre supplémentaire (e.g., un paramètre représentant le temps d'apparition dans le plasma des protéines synthétisées dans l'intestin et le foie, puis exportées vers la circulation sanguine (Fouillet *et al.*, 2003)).

1.3.2. Durée de vie et temps de résidence moyen dans un compartiment

Il est possible de caractériser le devenir d'une substance dans un compartiment par un certain nombre de valeurs particulières, telles que sa durée de demi-vie ou sa durée de vie moyenne (**Figure 29**) (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). La durée de demi-vie correspond au temps nécessaire à la disparition de la moitié de la substance initialement présente dans le compartiment, tandis que la durée de vie moyenne représente le temps qu'une particule va

passer dans un compartiment avant de le quitter de manière définitive. En particulier, lorsqu'un modèle décrit le transit d'une substance à travers le tractus gastro-intestinal en intégrant un seul compartiment stomacal et un ou plusieurs compartiments intestinaux, il est possible de calculer le temps de demi-évacuation gastrique de cette substance à partir de la seule valeur du paramètre reliant le compartiment stomacal au compartiment intestinal, qui représente le taux de vidange gastrique (Figure 29) (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003).

1.3.3. Etat stationnaire

L'état stationnaire (ou état d'équilibre dynamique) est une condition particulière du système, qui est atteinte lorsque les tailles $q_i(t)$ des compartiments du modèle et les flux $F_{i,j}(t)$ deviennent constants. A l'état stationnaire, les dérivées $\frac{dq_i(t)}{dt}$ s'annulent. Cette notion est très importante en physiologie, puisque l'organisation métabolique, en particulier la régulation homéostatique, tend à ramener l'organisme à un même état d'équilibre dynamique, où les tailles des pools et les flux qui les relient sont constants. Ainsi l'organisme doit se maintenir à un état stationnaire tout en échangeant de la matière avec l'extérieur : un repas se traduit par une vague d'entrée de nutriments qui doit être amortie et orientée vers les voies métaboliques adéquates vis-à-vis de la finalité de l'organisme (Sauvant, 1992). La plupart des études du métabolisme des protéines et des AA, couplées à l'analyse compartimentale de données expérimentales chez l'homme ou chez l'animal, ont été réalisées à l'état stationnaire.

1.3.4. Notion de renouvellement de la substance présente dans un compartiment

Les flux d'entrée et de sortie d'un compartiment assurent le renouvellement (ou turnover) de la substance présente dans le compartiment considéré (**Figure 30**). Ce renouvellement peut être exprimé de deux manières différentes (et donc en deux unités différentes) selon que l'on cherche à estimer la vitesse (le plus souvent exprimée en unité de masse par unité de temps) ou le temps (exprimé en unité de temps) de renouvellement du compartiment (Jacquez, 1996). Ces grandeurs sont classiquement calculées à l'état stationnaire : la vitesse de renouvellement d'un compartiment est alors égale au flux d'entrée ou de sortie de la substance dans ou hors du compartiment, tandis que le temps de renouvellement est obtenu en divisant la taille du compartiment par la vitesse de renouvellement (Figure 30). De nombreuses études ont ainsi

permis de calculer les vitesses de renouvellement de différents pools protéiques à l'état stationnaire chez l'animal (Carraro *et al.*, 1991 ; Johnson *et al.*, 1999b) et chez l'homme (Biolo *et al.*, 1992a ; Tessari *et al.*, 1995). À l'état non stationnaire, le renouvellement d'une substance dans un compartiment ne s'exprime plus de manière simple.

2. Application de la modélisation compartimentale à l'étude du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote

Les applications de la modélisation compartimentale en biologie sont très larges, et couvrent des domaines aussi divers que les études métaboliques, la pharmacocinétique, les cinétiques enzymatiques, les cinétiques de transports membranaires, l'épidémiologie, la carcinogenèse, l'écologie, la modélisation des écosystèmes, les mutations génétiques, la modélisation de l'évolution des espèces (Jacquez, 1996)... En ce qui concerne le métabolisme protéique, les modèles compartimentaux ont été employés pour résoudre un large spectre de problèmes relatifs à la distribution et à l'utilisation métabolique de différentes protéines, de différents AA ou de l'azote, que ce soit au niveau régional ou au niveau du corps entier (Carson *et al.*, 1981).

2.1. Variété des objectifs d'application des modèles compartimentaux

La modélisation compartimentale des systèmes métaboliques recouvre des champs et des objectifs d'application très divers (Carson *et al.*, 1981 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998). Tout d'abord, la modélisation compartimentale a permis de décrire certaines voies du métabolisme des protéines et des AA, et de tester la pertinence de différentes hypothèses les concernant, en comparant différentes structures de modèles et en sélectionnant la structure la mieux adaptée à la description de la voie métabolique étudiée. Ainsi, l'analyse compartimentale de données de traceurs (leucine et acide céto-isocaproïque ou KIC, son produit de désamination, marqués à l'aide d'isotopes stables et/ou radioactifs du carbone et de l'hydrogène) chez le volontaire sain a conduit à la comparaison de différentes structures de modèle susceptibles de décrire les cinétiques de la leucine chez l'homme, ces structures ayant été postulées sur des bases physiologiques solides puis discriminées en fonction de leur capacité respective à rendre compte des données

expérimentales (Cobelli *et al.*, 1991). Dans cette étude, le modèle finalement sélectionné intègre 3 compartiments de leucine intracellulaire (2 compartiments de leucine libre et 1 compartiment de leucine sous forme protéique), contre 1 seul pour le premier modèle testé, ce qui corroborerait l'hypothèse selon laquelle plusieurs compartiments de leucine intracellulaire interviennent dans l'utilisation de la leucine pour les protéosynthèses (Clark & Zak, 1981 ; Kelley *et al.*, 1984). Certains modèles ont également été développés dans le but de simuler le comportement dynamique des parties d'un système auxquelles on ne peut avoir accès expérimentalement (pour des raisons techniques ou éthiques), ou dans le but d'estimer des valeurs inaccessibles expérimentalement, comme la valeur de certains paramètres ou de certaines variables internes du modèle ayant un intérêt physiologique. C'est le cas notamment des modèles globaux du métabolisme azoté récemment proposés par Fouillet *et al.* (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003), qui ont été développés sur la base de données expérimentales obtenues dans des pools métaboliques accessibles (intestin, sang, urine) et permettent de simuler la distribution postprandiale de l'azote alimentaire dans l'organisme, en particulier dans des pools non accessibles expérimentalement, comme les protéines et les AA libres de la zone splanchnique. Ces modèles ont notamment permis (i) d'affiner la notion de qualité protéique, en distinguant les parts splanchnique et périphérique de la rétention postprandiale de l'azote alimentaire (Fouillet *et al.*, 2000), (ii) de comparer la valorisation métabolique des différentes protéines alimentaires, en simulant leur utilisation régionale postprandiale (Fouillet *et al.*, 2002b), et (iii) de déterminer la fraction des protéines splanchniques nouvellement synthétisées qui sont exportées vers la circulation sanguine (Fouillet *et al.*, 2003). Une autre utilisation des modèles compartimentaux a été l'optimisation de schémas expérimentaux, l'objectif étant alors d'essayer de tirer le maximum d'information du minimum de mesures. Récemment, un protocole expérimental simple de mesure de la production d'urée a ainsi été validé chez le porcelet dans le but d'être ensuite utilisé lors de tests cliniques chez le nourrisson et l'enfant jeune (Oosterveld *et al.*, 2005). En outre, les modèles compartimentaux ont aussi été utilisés comme aide au développement de stratégies alimentaires chez l'animal à des fins de croissance ou de production (Gerrits *et al.*, 1997a ; Pettigrew *et al.*, 1992b). Enfin, d'autres applications des modèles compartimentaux sont également envisageables, comme de prédire la réponse d'un système métabolique à des événements qui ne peuvent pas être testés expérimentalement pour des raisons éthiques (e.g., simuler la réponse à un niveau très faible ou très élevé d'apport en protéines ou en AA chez l'homme), synthétiser toutes les informations disponibles concernant le comportement du système, dégager de nouveaux axes de recherche et proposer des moyens de les expérimenter,

ou bien encore développer des modèles comme une aide à l'enseignement de certains aspects ou de certains concepts de physiologie, de médecine clinique ou de pharmacocinétique (Cobelli & Caumo, 1998).

2.2. Application des modèles compartimentaux à des données cinétiques de traceur

En physiologie de la nutrition, la modélisation compartimentale a surtout été utilisée pour analyser des données expérimentales de distribution et de métabolisme de composés marqués par un traceur (Jacquez, 1996). En effet, le traceur est un outil de choix pour obtenir des données dynamiques concernant l'évolution des variables d'état d'un système métabolique ou nutritionnel (Cobelli & Caumo, 1998).

Un traceur est généralement une molécule (une protéine ou un AA dans l'étude du métabolisme protéique), semblable à son homologue qu'on appelle le tracé mais incluant un isotope, qui peut être radioactif ou stable (i.e., n'émettant aucun rayonnement) (Jacquez, 1996). Historiquement, les traceurs furent d'abord des radio-isotopes, lesquels sont encore largement utilisés en chimie et en biochimie, ou dans certaines études chez l'animal. Chez l'homme, ils ont progressivement été remplacés par des isotopes stables pour des raisons éthiques, et grâce à l'amélioration des techniques de spectrométrie de masse. Bien qu'un isotope diffère en masse du composé qu'il trace (même nombre de protons, mais nombre différent de neutrons), l'hypothèse est généralement (et implicitement) posée qu'il présente les mêmes propriétés physico-chimiques et donc suit la même distribution et le même métabolisme que la substance tracée (Carson & Cobelli, 2001). Dans le cas contraire, on parle de fractionnement isotopique, qui est d'autant plus important que la différence de masse entre le composé traceur et le composé tracé est importante (Jacquez, 1996).

L'utilisation des traceurs a débuté dans les années 1920, et le premier article introduisant explicitement la notion de compartiment et portant sur l'analyse compartimentale de données cinétiques de traceurs date de 1948 ((Sheppard, 1948) cité par (Jacquez, 1996)). Dans la mesure où de nombreux pools et processus métaboliques sont peu ou pas accessibles à la mesure expérimentale chez l'homme, l'analyse compartimentale de données de traceurs est un moyen unique de les approcher de manière indirecte (Bier, 1997 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998 ; Wolfe, 1992). En effet, l'apparition ou la disparition du traceur dans certains pools accessibles à la mesure (sang, urine...) traduit le

comportement du traceur dans la partie non observable du système. La modélisation compartimentale permet alors d'utiliser les données cinétiques de traceurs de différents nutriments ou micronutriments afin d'étudier la structure et le comportement de la partie non observable du système (Figure 25) (Bier, 1997 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998). En outre, le modèle qui simule la dynamique du traceur présente l'avantage d'être plus simple que celui qui simule la dynamique du tracé. En effet, les flux entrants de traceur dans le système sont connus et maîtrisés expérimentalement tandis que le modèle du tracé doit tenir compte des productions endogènes (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998). De plus, le modèle du traceur est linéaire lorsque le composé tracé est à l'état stationnaire, que le modèle du tracé soit linéaire ou non linéaire (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998 ; Jacquez, 1996). Pour toutes ces raisons, la majorité des études des systèmes nutritionnels et métaboliques commencent par développer le modèle du traceur, puis l'utilisent pour construire le modèle du tracé à l'état stationnaire (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998). De nombreuses études ont ainsi permis le développement en parallèle de modèles compartimentaux simulant le métabolisme du traceur et celui du tracé dans différents domaines d'application (Green *et al.*, 1985 ; King *et al.*, 2001 ; Lowe *et al.*, 1997 ; Saccomani *et al.*, 1995 ; Wastney *et al.*, 1984 ; Wastney *et al.*, 1996), et plus particulièrement dans le domaine du métabolisme des protéines et des AA (Cobelli *et al.*, 1991 ; Johnson *et al.*, 1999b). Enfin, des radio-isotopes émetteurs de positons, détectés grâce à la technique de tomographie par émission de positons, fournissent des données chez l'homme qui peuvent être ensuite exploitées par modélisation compartimentale et permettent de déterminer des consommations de glucose ou, pour ce qui nous concerne plus particulièrement, des taux de synthèse protéique (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998).

2.3. Application des modèles compartimentaux à l'étude de la digestion et du métabolisme des protéines, des AA et de l'azote

2.3.1. Développement et optimisation de stratégies alimentaires chez l'animal

Différents modèles qui simulent l'utilisation à long terme et la déposition des nutriments et de l'azote alimentaire dans l'organisme ont été développés pour des objectifs de production, c'est-à-dire afin de développer et d'optimiser des stratégies alimentaires chez le porc en croissance

(Halas *et al.*, 2004a ; van Milgen *et al.*, 2001), le veau préruminant en croissance (**Figure 31**) (Gerrits *et al.*, 1997a) ou la truie en lactation (Pettigrew *et al.*, 1992b). Ce sont des modèles globaux qui, contrairement aux modèles régionaux, s'intéressent au métabolisme au niveau du corps entier. Ils ne prennent pas en compte les aspects cinétiques des apports alimentaires et des phénomènes postprandiaux, car ils sont soit statiques (van Milgen *et al.*, 2001), soit leur pas de temps d'intégration est de 24 heures (Gerrits *et al.*, 1997a), soit leur pas de temps d'intégration est plus petit mais l'apport alimentaire est alors considéré comme constant au cours de la journée (Halas *et al.*, 2004a ; Pettigrew *et al.*, 1992b). De ce fait, l'étape digestive y est généralement résumée par un simple coefficient de digestibilité des nutriments et/ou de l'azote alimentaire. En parallèle, certains modèles partiels ont été développés chez le porc afin de simuler la digestion et l'absorption des nutriments (Bastianelli *et al.*, 1996 ; Rivest *et al.*, 2000), et leur métabolisme ultérieur (Birkett & de Lange, 2001). Certains de ces modèles permettent de prendre en compte le caractère cinétique des phénomènes étudiés puisqu'ils utilisent des pas de temps beaucoup plus courts (pas de temps de 1 minute dans l'étude de Bastianelli *et al.* (Bastianelli *et al.*, 1996) et inférieur à 0,1 minute dans celle de Rivest *et al.* (Rivest *et al.*, 2000)).

La caractéristique commune de l'ensemble de ces modèles développés chez l'animal est qu'ils sont semi-empiriques, c'est-à-dire que certaines des lois de transferts sont fondées sur des relations empiriques (Bastianelli *et al.*, 1996 ; Gerrits *et al.*, 1997a ; Halas *et al.*, 2004a ; Pettigrew *et al.*, 1992b ; Rivest *et al.*, 2000). Ces modèles sont utilisés pour simuler les réponses physiologiques et métaboliques à des repas de différentes compositions, leur comportement est étudié par l'intermédiaire d'une analyse de sensibilité et leurs résultats sont validés par rapport aux connaissances disponibles sur le système (Bastianelli *et al.*, 1996 ; Gerrits *et al.*, 1997a ; Gerrits *et al.*, 1997b ; Halas *et al.*, 2004b ; Pettigrew *et al.*, 1992a ; Pettigrew *et al.*, 1992b ; Rivest *et al.*, 2000). Par exemple, le modèle de Gerrits *et al.* (Gerrits *et al.*, 1997a) développé chez le veau préruminant peut être utilisé pour prédire la quantité de chaque AA essentiel qu'il faut apporter dans la ration alimentaire pour permettre une déposition protéique maximale, et ceci pour différents niveaux d'apports alimentaires. De la même façon, le modèle de Halas *et al.* (Halas *et al.*, 2004a) a été développé pour prédire les taux de dépositions protéique et lipidique, ainsi que la composition corporelle de porcs en croissance, en fonction du niveau et de la composition de l'apport alimentaire. En particulier, ce modèle a permis de montrer que le taux de déposition protéique dépendait fortement du niveau d'apport en lysine chez le porc en croissance (Halas *et al.*, 2004a).

2.3.2. Estimation des vitesses de renouvellement des différents pools protéiques à l'état stationnaire chez l'animal

Des modèles dynamiques du renouvellement protéique à l'état stationnaire estimé à partir des flux de leucine ont été développés chez le chien (**Figure 32**) (Carraro *et al.*, 1991) et le rongeur (**Figure 33**) (Johnson *et al.*, 1999b). Ce sont des modèles globaux qui simulent le métabolisme de la leucine au niveau du corps entier mais ne s'intéressent pas aux phénomènes digestifs et absorptifs postprandiaux. Ils ont été développés à partir de données expérimentales obtenues après perfusion intraveineuse d'un traceur de la leucine à l'état stationnaire. Le modèle de Johnson *et al.* (Johnson *et al.*, 1999b) distingue trois compartiments de leucine libre (extracellulaire, intracellulaire et leucine-ARNt) et trois compartiments de leucine sous forme protéique afin de tenir compte de l'hétérogénéité des protéines dans l'organisme (pools à renouvellement rapide, moyen ou lent). Ce modèle permet d'estimer les vitesses de renouvellement des différents pools protéiques à l'état stationnaire et de comparer les différentes méthodes de mesure de ces vitesses de renouvellement (méthodes de perfusion continue, pulsée et de surcharge). Le modèle de Carraro *et al.* (Carraro *et al.*, 1991) comprend 16 compartiments, l'un d'eux représentant le pool de leucine libre extracellulaire où le traceur est perfusé. Ce compartiment échange de la leucine avec 7 compartiments représentant les pools de leucine libre intracellulaire dans différents tissus, à partir desquels ont lieu les synthèses vers les 8 compartiments protéiques tissulaires (protéines du sang, du foie, de l'intestin, du muscle, des reins, des poumons, de la peau et des autres organes). Les valeurs des paramètres de ces deux modèles ont été estimées par des procédures itératives d'ajustement des prédictions du modèle à des données expérimentales de suivi d'un traceur de la leucine (isotope radioactif (Johnson *et al.*, 1999b) ou stable (Carraro *et al.*, 1991)). Ils ont été utilisés en particulier pour estimer le recyclage du traceur (i.e., le flux de leucine marquée qui provient de la dégradation protéique) et évaluer l'influence de ce facteur sur la mesure de la vitesse de renouvellement protéique. Enfin, certains modèles régionaux ont été développés chez l'animal afin d'estimer les taux de synthèse de protéines particulières, comme le modèle de Dudley *et al.* (Dudley *et al.*, 1998a) qui permet de calculer le taux de synthèse à l'état stationnaire d'une glycoprotéine de la bordure en brosse de l'entérocyte à partir de données de perfusions multiples de traceurs de la leucine et de la phénylalanine chez le porc.

2.3.3. Modélisation du métabolisme des protéines et des AA à l'état stationnaire chez l'homme

i. Modèles globaux

Les tentatives de modélisation globale (i.e., au niveau du corps entier) du métabolisme des AA et des protéines ont été assez rares chez l'homme, en raison de la complexité inhérente du système et de sa difficulté d'accès expérimental par les méthodes de traceur. En particulier, les travaux portant sur la modélisation du métabolisme protéique sont beaucoup plus rares que ceux concernant le métabolisme glucidique ou lipidique (Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998). Un modèle linéaire du métabolisme global de la leucine et du KIC a cependant été développé chez l'homme à partir de données obtenues après la perfusion d'isotopes radioactifs de la leucine et du KIC (**Figure 34**) (Cobelli *et al.*, 1991). Comme les modèles animaux précédemment cités (Carraro *et al.*, 1991 ; Johnson *et al.*, 1999b), il s'agit d'un modèle global qui simule le métabolisme de la leucine au niveau du corps entier mais ne s'intéresse pas aux phénomènes postprandiaux dans la mesure où il a été développé pour reproduire des données expérimentales obtenues après la perfusion intraveineuse de traceurs à l'état stationnaire postabsorptif. Ce modèle comprend 10 compartiments (4 pour la leucine dont 1 compartiment protéique et 3 compartiments d'AA libres, 3 pour le KIC et 3 pour les bicarbonates produits par l'oxydation du KIC) et permet d'estimer les flux de leucine dans l'organisme à l'état stationnaire (apparition intracellulaire issue de la dégradation protéique, oxydation et incorporation dans les protéines). Ce modèle a permis de démontrer que les équations classiquement employées pour analyser les données cinétiques d'isotopes de la leucine, c'est-à-dire les équations dérivant du modèle du pool primaire (à 2 compartiments implicites : leucine extra- et intra-cellulaire (Umpleby *et al.*, 1986)) et du modèle du pool réciproque (à 4 compartiments implicites : leucine extra- et intra-cellulaire et KIC extra- et intra-cellulaire (Schwenk *et al.*, 1985b)), engendraient des erreurs d'estimation de la valeur des flux de leucine en raison de la trop grande simplicité des modèles correspondants (Cobelli *et al.*, 1991). Cependant, le modèle finalement développé par Cobelli *et al.* (Cobelli *et al.*, 1991) ne comprend qu'un seul compartiment protéique pour tout l'organisme, ce qui ne permet pas de rendre compte de différences de vitesses de renouvellement entre les différentes protéines corporelles. On peut aussi signaler l'existence d'un modèle à 3 compartiments permettant d'estimer la protéolyse musculaire par l'analyse de données plasmatiques obtenues après une dose bolus d'un isotope stable de la 3-méthylhistidine (Rathmacher *et al.*, 1995). Enfin, un modèle simple (**Figure 35**) a été utilisé chez l'homme pour estimer l'extraction

splanchnique et les flux splanchniques et périphériques de leucine à l'état stationnaire après l'ingestion fractionnée d'un repas (une portion ingérée toutes les 20 minutes) contenant ou non des protéines (Cayol *et al.*, 1997). Ce modèle a notamment permis de montrer que l'hyperaminoacidémie engendrée par l'ingestion de petits bolus réguliers stimule la synthèse des protéines splanchniques, mais n'a pas d'effet sur la dégradation protéique au niveau du corps entier.

ii. Modèles régionaux

Différents modèles régionaux du métabolisme musculaire des protéines et des AA ont été développés chez l'homme et identifiés sur la base de données de traceurs isotopiques à l'état stationnaire. Un modèle du métabolisme protéique musculaire de la leucine et du KIC comprenant 6 compartiments a ainsi été développé par Tessari *et al.* (**Figure 36**) (Tessari *et al.*, 1995). Ce modèle a été identifié chez l'homme à partir de données obtenues par cathétérisme artériovoineux de l'avant bras après la perfusion d'isotopes stables de leucine (Tessari *et al.*, 1995), puis utilisé dans différents travaux (Tessari *et al.*, 1996c ; Zanetti *et al.*, 1999). Il a en outre été appliqué à l'étude du renouvellement protéique à l'état stable dans les jambes, les reins et la zone splanchnique (Tessari *et al.*, 1996b). Un autre modèle régional du métabolisme protéique musculaire a été développé par Biolo *et al.* (Biolo *et al.*, 1992a). Il intègre 3 compartiments représentant les AA libres dans l'artère fémorale, les AA libres dans la veine fémorale et les AA libres musculaires, ce dernier compartiment étant choisi à la fois comme pool précurseur de la synthèse protéique dans le muscle et comme pool d'apparition des AA issus de la dégradation des protéines musculaires (**Figure 37**). Ce modèle permet de déterminer les cinétiques de transport des AA libres dans le muscle et de les relier aux cinétiques de synthèse et de dégradation protéiques à l'état stationnaire (Biolo *et al.*, 1992a ; Biolo *et al.*, 1995b). Le modèle a d'abord été identifié chez le chien pour différents AA (leucine, valine, phénylalanine, lysine, alanine) grâce à l'obtention de données expérimentales par cathétérisme artériovoineux et biopsie musculaire dans une patte après perfusion constante d'isotopes stables de ces différents AA (Biolo *et al.*, 1992a). Il a ensuite été utilisé chez l'homme dans diverses situations (Biolo *et al.*, 1995b ; Biolo *et al.*, 1995c ; Biolo *et al.*, 1997 ; Mittendorfer *et al.*, 2001 ; Raj *et al.*, 2004 ; Sheffield-Moore *et al.*, 2000 ; Tipton *et al.*, 1999 ; Volpi *et al.*, 1998 ; Volpi *et al.*, 1999). Ces deux modèles (Biolo *et al.*, 1992a ; Tessari *et al.*, 1995) ont permis d'étudier chez l'homme les mécanismes de l'accrétion protéique musculaire à l'état nourri, qui a été obtenu par l'ingestion fractionnée ou la perfusion constante du repas (afin d'atteindre et de maintenir l'état stationnaire). En particulier, ces modèles ont

permis de montrer l'importance des cinétiques de transport intracellulaire des AA pour l'anabolisme musculaire postprandial : en effet, l'activation postprandiale du transport intracellulaire des AA augmente leur disponibilité pour les synthèses protéiques qui sont ainsi stimulées (Tessari *et al.*, 1996c ; Tipton *et al.*, 1999 ; Volpi *et al.*, 1998 ; Volpi *et al.*, 1999 ; Zanetti *et al.*, 1999). Cependant, le choix des pools précurseurs de la synthèse et de la dégradation protéiques reste problématique lors de l'utilisation de ces modèles régionaux du métabolisme musculaire (Ljungqvist *et al.*, 1997 ; Toffolo *et al.*, 2003). En effet, les vrais précurseurs de la synthèse protéique musculaire sont en réalité les AA qui sont acylés aux ARNt (ou aminoacyl-ARNt) (Ljungqvist *et al.*, 1997 ; Toffolo *et al.*, 2003). Or, du fait de la difficulté d'isoler des quantités suffisantes d'ARNt dans les biopsies musculaires pour mesurer l'enrichissement des aminoacyl-ARNt et en déduire le taux de synthèse protéique, différents substituts ont été utilisés dans la plupart des études menées chez l'homme et chez l'animal, comme la leucine ou le KIC plasmatiques (Balagopal *et al.*, 1994 ; Hasten *et al.*, 1998 ; Schwenk *et al.*, 1985a ; Watt *et al.*, 1991). En particulier, dans les études menées par Biolo *et al.* (Biolo *et al.*, 1992a ; Biolo *et al.*, 1995b), la synthèse protéique a été calculée à partir de l'enrichissement de l'AA marqué (alanine, glutamine, leucine, lysine, phenylalanine ou valine) dans le milieu intracellulaire, qui représente mieux l'enrichissement des aminoacyl-ARNt que celui d'autres substituts comme les AA ou le KIC plasmatiques, ainsi qu'une étude l'a montré plus tardivement (Ljungqvist *et al.*, 1997). Ce n'est que récemment que le renouvellement des protéines musculaires a été évalué à partir de l'enrichissement du vrai pool précurseur de la synthèse (i.e., les aminoacyl-ARNt), chez l'homme (Toffolo *et al.*, 2003). Dans cette dernière étude, l'enrichissement du pool des aminoacyl-ARNt a également été choisi pour représenter celui du pool receveur de la dégradation protéique (i.e., le milieu intracellulaire d'apparition des AA issus de la dégradation), qui n'est pas directement accessible à la mesure pour des raisons techniques (Toffolo *et al.*, 2003).

2.3.4. Modélisation du métabolisme de l'azote à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme

Le premier travail de modélisation du métabolisme de l'azote et des protéines lors de la phase postprandiale non stationnaire date de plus de 20 ans (Wutzke *et al.*, 1983). Il s'est limité au développement d'un modèle très simple à trois compartiments (azote libre, azote protéique, et pertes urinaires d'azote) qui néglige totalement les phénomènes postprandiaux d'absorption et de mise à disposition de l'azote alimentaire (**Figure 38**). Ce n'est que très récemment que des

modèles compartimentaux plus complexes (**Figure 39**) (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003) ont été développés dans le but de décrire et d'explorer la distribution, l'élimination et l'utilisation métabolique de l'azote alimentaire en phase postprandiale sous différentes conditions nutritionnelles chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Fouillet *et al.*, 2003).

Tout d'abord, un premier modèle (Figure 39A) (Fouillet *et al.*, 2000), constitué de 11 compartiments et de 15 voies d'échange, a été identifié à partir de données expérimentales concernant les cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans certains compartiments métaboliques plus ou moins facilement accessibles (effluents iléaux, AA plasmatiques, urée corporelle, urée urinaire et ammoniacque urinaire) chez des volontaires sains ayant ingéré sous forme de bolus un repas purement protéique constitué des protéines de lait marquées au ^{15}N (Gaudichon *et al.*, 1999). Ce modèle a permis de simuler l'apparition postprandiale de l'azote alimentaire dans les compartiments qui n'étaient pas suivis expérimentalement, comme l'estomac et la lumière intestinale, mais aussi les AA et les protéines des zones splanchnique et périphérique (Fouillet *et al.*, 2000). Ce modèle a aussi permis d'étudier la cascade de phénomènes dynamiques et transitoires qui président à l'utilisation métabolique postprandiale de l'azote alimentaire. En outre, il a permis de distinguer et d'évaluer les parts splanchnique et périphérique de la rétention de l'azote alimentaire et de l'anabolisme en phase postprandiale, alors que les données expérimentales brutes permettaient d'estimer uniquement sa rétention corporelle totale (Gaudichon *et al.*, 1999). Par la suite, ce modèle a été confronté à d'autres données expérimentales que celles qui ont été utilisées lors de son développement, obtenues selon un protocole similaire mais après l'ingestion de protéines de lait avec des lipides ou des glucides supplémentaires (Fouillet *et al.*, 2001) ou bien après l'ingestion de protéines de soja avec des glucides (Fouillet *et al.*, 2002b). Le modèle a permis de rendre compte de ces nouvelles données après ajustement de ses paramètres, et ses prédictions ont montré que la meilleure rétention de l'azote ingéré observée expérimentalement en présence de glucides dans le repas était associée à une plus grande séquestration et à une plus grande utilisation métabolique de l'azote alimentaire dans la zone splanchnique. En effet, la proportion d'azote alimentaire incorporée dans les protéines splanchniques 8 heures après l'ingestion du repas passait de 18 à 24 et à 35% pour les repas contenant des protéines de lait seules, des protéines de lait avec des lipides et avec des glucides, respectivement (Fouillet *et al.*, 2001). De plus, le modèle a permis de localiser et de comparer les phénomènes métaboliques impliqués dans la valorisation postprandiale spécifique des protéines animale (lait) et végétale (soja) de référence : les protéines de soja sont absorbées plus rapidement que les protéines de lait et conduisent à

une plus forte désamination des AA alimentaires, une séquestration similaire de l'azote du repas dans les tissus splanchniques, et enfin une plus faible extraction périphérique de l'azote alimentaire (Fouillet *et al.*, 2002b).

Un modèle plus complexe (Figure 39B) (Fouillet *et al.*, 2003), constitué de 13 compartiments et de 19 voies d'échange, a ensuite été développé sur la base de données expérimentales consolidées (amélioration de la mesure des cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans les AA plasmatiques grâce au suivi de leurs concentrations postprandiales) et nouvelles (mesure des cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans les protéines plasmatiques), obtenues après l'ingestion d'un repas mixte (protéines de soja avec des glucides et des lipides) chez l'homme (Mariotti *et al.*, 2000b). Ce modèle intègre deux compartiments supplémentaires par rapport au modèle précédemment développé, ce qui permet de distinguer les protéines constitutives des protéines exportées au sein des protéines splanchniques (division du compartiment des protéines splanchniques totales en deux compartiments des protéines splanchniques constitutives et des protéines splanchniques exportées), et d'adapter le sous-système gastro-intestinal au cas de l'ingestion d'un repas protéique mixte (ajout d'un compartiment intestinal). Ainsi, le nouveau modèle a permis de déterminer la contribution relative des protéines splanchniques constitutives et exportées à l'anabolisme splanchnique total à l'issue de la phase postprandiale, et d'estimer que, 6 heures après l'ingestion du repas, près de 40% de l'azote alimentaire est incorporé dans les protéines splanchniques, dont environ 20% sont exportées vers la circulation sanguine (Fouillet *et al.*, 2003).

2.3.5. Modélisation des cinétiques de l'urée chez l'homme et chez l'animal

Le dernier type de modèles abondants dans la littérature et concernant les phénomènes azotés postprandiaux sont les modèles des cinétiques de l'urée. En effet, différents modèles décrivant les cinétiques de production et/ou d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée ont été développés chez l'homme et chez l'animal sur la base de données de traceurs isotopiques à l'état stationnaire (El-Khoury *et al.*, 1996 ; Jackson *et al.*, 1984 ; Long *et al.*, 1978 ; Oosterveld *et al.*, 2005 ; Russell *et al.*, 2000). Un modèle simple à un compartiment d'urée unique (**Figure 40**) a ainsi été développé chez l'homme par Jackson *et al.* (Jackson *et al.*, 1984), puis a été utilisé par Meakins *et al.* (Meakins *et al.*, 1998), afin d'évaluer les taux de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée à l'état stationnaire, et ce à partir de données obtenues dans les urines après l'ingestion régulière (toutes les 3h pendant 12h) d'urée [$^{15}\text{N}_2$] (Jackson *et al.*, 1984). Un autre modèle (**Figure 41**) à deux compartiments d'urée (un compartiment à turn-over lent et

un autre à turn-over rapide) a également été développé chez l'homme afin de mesurer le taux de production d'urée à l'état stationnaire sous différentes conditions nutritionnelles (Long *et al.*, 1978) et/ou physiopathologiques (Long *et al.*, 1977 ; Long *et al.*, 1978). Ce modèle a ensuite été utilisé pour estimer la production d'urée chez l'homme à partir d'une dose intraveineuse unique de [¹⁸O]-urée (Matthews & Downey, 1984). Le même type de modèle a plus récemment été utilisé chez le porcelet pour estimer la production d'urée à l'état stationnaire à partir d'une dose orale de [¹³C]-urée (Oosterveld *et al.*, 2005). Un modèle intégrant un compartiment d'urée corporelle et un compartiment d'azote dans l'intestin (**Figure 42**) a aussi été développé chez le chat pour estimer les taux de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée à l'état stationnaire (Russell *et al.*, 2000). Ce modèle repose sur un certain nombre d'hypothèses, à savoir que (1) l'urée produite par le foie est partiellement excrétée dans les urines, le reste diffusant librement dans l'intestin ; (2) l'urée non excrétée est hydrolysée par les bactéries intestinales, ce qui conduit à la formation d'ammoniaque ; et (3) l'ammoniaque ainsi formé est soit réincorporé dans le compartiment uréique, soit excrété dans les fèces, soit retenu par l'organisme et potentiellement disponible pour l'anabolisme. Enfin, un modèle plus complexe du métabolisme azoté (**Figure 43**), constitué de 6 compartiments et de 19 voies d'échange, a été identifié chez l'homme à partir de données de traceurs isotopiques obtenues sur 24 heures dans le sang, les urines et l'air expiré, à l'état stationnaire nourri (administration régulière de petits bolus pendant 12 heures) et postabsorptif (El-Khoury *et al.*, 1996). Cependant, il a été montré que cette méthode de traceurs par perfusion intraveineuse continue d'urée marquée ne permet pas de rendre compte de manière fiable ou précise des variations à court terme de la production d'urée, et qu'elle sous-estime considérablement la quantité totale d'urée produite sur 8 heures à l'état non stationnaire chez l'homme (Hamadeh & Hoffer, 1998).

En conclusion, la modélisation compartimentale a permis d'acquérir des connaissances à la fois quantitatives et qualitatives sur le métabolisme des protéines, des AA et de l'azote chez l'homme et chez l'animal. Si de nombreux modèles ont été développés chez l'animal afin d'étudier la digestion et l'utilisation métabolique des protéines et de divers nutriments (Bastianelli *et al.*, 1996 ; Gerrits *et al.*, 1997a ; Pettigrew *et al.*, 1992b ; Rivest *et al.*, 2000), les différents modèles développés chez l'homme se sont surtout intéressés au renouvellement des protéines corporelles et aux cinétiques de synthèse et de dégradation protéiques (Biolo *et al.*, 1995b ; Cobelli *et al.*, 1991 ; Rathmacher *et al.*, 1995 ; Tessari *et al.*, 1995), tout comme certains modèles développés chez l'animal (Carraro *et al.*, 1991 ; Johnson *et al.*, 1999b). En

outre, la plupart des modèles globaux (Carraro *et al.*, 1991 ; Cayol *et al.*, 1997 ; Cobelli *et al.*, 1991 ; Johnson *et al.*, 1999b ; Rathmacher *et al.*, 1995) ou partiels (Biolo *et al.*, 1995b ; Tessari *et al.*, 1995) du métabolisme des protéines et des AA chez l'homme, ont été identifiés à l'état stationnaire (postabsorptif ou postprandial). Ainsi, les phénomènes métaboliques caractérisant l'état nourri ont été le plus souvent étudiés dans des conditions non physiologiques d'apport, après l'ingestion fractionnée et régulière ou la perfusion constante de nutriments (Biolo *et al.*, 1995b ; Cayol *et al.*, 1997 ; Tessari *et al.*, 1995). Un travail pionnier s'était toutefois attelé dès le début des années 1980 à l'étude par modélisation compartimentale du métabolisme de l'azote et des protéines à l'état postprandial non stationnaire, après l'ingestion sous forme de bolus d'un repas protéique chez l'enfant (Figure 38) (Wutzke *et al.*, 1983). Ce modèle très simple (3 compartiments) ne permettait cependant pas de rendre compte des phénomènes postprandiaux d'absorption et de mise à disposition de l'azote alimentaire. Ce n'est que très récemment que des modèles plus complexes (Figure 39) ont été développés au laboratoire afin de déterminer le devenir métabolique de l'azote alimentaire dans différents pools de l'organisme à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003). Ces deux modèles de complexité croissante permettent de simuler les phénomènes cinétiques de digestion, d'absorption et d'utilisation anabolique de l'azote alimentaire après l'ingestion d'un repas protéique mixte liquide chez l'homme (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003). En particulier, ces modèles ont permis de comparer la valorisation spécifique de différentes sources protéiques (lait et soja) en association avec différents nutriments énergétiques non protéiques (glucides ou lipides) (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b), ce qui présente d'importantes applications pour l'exploration et la redéfinition du concept de qualité protéique en phase de gain postprandial chez l'homme. Toutefois, ces modèles ont été développés à partir de données de traceur obtenues après l'ingestion de repas liquides (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 2000b), ce qui ne leur permet pas de rendre compte des cinétiques de vidange gastrique d'un repas solide (Bernier *et al.*, 1988), qui constitue pourtant une condition plus physiologique d'apport. En outre, ces modèles ne prennent pas en compte certains phénomènes métaboliques, comme l'hydrolyse intestinale de l'urée et l'effet d'épargne azotée qui peut lui être associé, alors que ces phénomènes seraient impliqués dans la régulation homéostatique du métabolisme protéique sous certaines conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques particulières (Badaloo *et al.*, 1999 ; McClelland *et al.*, 1997 ; Meakins *et al.*, 1998).

C. DEMARCHE DE LA MODELISATION COMPARTIMENTALE : MÉTHODES ET LIMITES

En physiologie de la nutrition, la structure du modèle compartimental (i.e., le nombre de compartiments et de voies de transfert entre ces compartiments) qui représente le mieux le système à l'étude est rarement ou imparfaitement connue, et les valeurs de certains paramètres qui interviennent dans les équations décrivant l'évolution du système sont souvent inconnues ou peu sûres. La modélisation d'un système métabolique ou nutritionnel nécessite donc le plus souvent la résolution d'un problème « inverse », c'est-à-dire à la fois la détermination de la structure et l'estimation des paramètres du modèle compartimental adéquat (Jacquez, 1996). Ainsi, le processus de développement, ou d'identification, d'un modèle compartimental regroupe principalement ces deux étapes de détermination de la structure et d'estimation des valeurs des paramètres (**Figure 44**) (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). En outre, l'identifiabilité du modèle est une composante essentielle de ce processus d'identification car elle permet la validation de chacune de ces deux étapes. On distingue ainsi l'identifiabilité théorique, qui intervient au moment du choix de la structure du modèle et permet de déterminer si les données expérimentales dont on dispose sur le système sont suffisamment informatives pour estimer tous les paramètres du modèle, et l'identifiabilité numérique, qui intervient après l'estimation des paramètres et permet d'évaluer la précision avec laquelle les paramètres ont été estimés et la qualité des prédictions du modèle par rapport aux observations du système (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). Enfin, une dernière étape de validation permet de vérifier la cohérence des prédictions et du comportement du modèle avec les connaissances disponibles sur le système étudié (Cobelli *et al.*, 1984). Ces différentes étapes du développement d'un modèle compartimental sont représentées sur la **Figure 45**.

Dans les études qui ont permis le développement des modèles compartimentaux présentés dans la partie précédente, les problèmes de la détermination de la structure et de l'estimation des paramètres ont été abordés de façon très disparate, en raison de la variété des objectifs de modélisation et des particularités culturelles des thématiques concernées. Dans cette dernière partie de l'introduction, nous allons détailler les différentes étapes du développement d'un modèle compartimental, et commenter la manière avec laquelle cette démarche a été mise en oeuvre pour les différents modèles publiés. Nous insisterons en particulier sur les contraintes

et limitations de l'analyse compartimentale des systèmes métaboliques, afin de dégager les pratiques de son utilisation raisonnée.

1. Détermination de la structure et identifiabilité théorique

La détermination de la structure d'un modèle compartimental et l'obtention de données expérimentales sur le système à l'étude sont deux processus interdépendants, puisque soit les données dont on dispose (ou qu'il est possible d'obtenir) imposent certaines contraintes sur le modèle que l'on peut développer, soit inversement les objectifs de modélisation que l'on s'est fixés déterminent le schéma expérimental à mettre en place pour obtenir les données requises (Figure 44). Une fois les données expérimentales obtenues, le processus d'identification du modèle débute par la détermination de sa structure. Le modèle doit constituer une représentation satisfaisante du système réel étudié (Figure 44) tout en respectant les principes de minimalité et d'unicité qui doivent guider le choix de sa structure. Le principe de minimalité consiste, en accord avec la théorie du rasoir d'Ockham (ou principe de parcimonie), à retenir le modèle le plus simple (i.e., avec le minimum de compartiments et de paramètres) qui permette de rendre compte de manière adéquate des données expérimentales (Cobelli & Caumo, 1998 ; Garfinkel & Fegley, 1984). L'idée sous-jacente consiste à ne complexifier la structure du modèle que si l'on est (pratiquement) certain que c'est indispensable. Enfin, le principe d'unicité consiste à s'assurer qu'il n'existe pas plusieurs modèles de même ordre (i.e., ayant le même nombre de compartiments et de paramètres) capables de rendre compte des données expérimentales de manière équivalente, ces différents modèles pouvant conduire à des prédictions différentes et erronées pour la partie non observable du système.

1.1. Détermination de la structure

1.1.1. Gestion de la complexité des systèmes métaboliques étudiés

En raison de la complexité des systèmes nutritionnels, l'étape de construction du modèle correspond souvent à un compromis entre l'objectif de modélisation que l'on s'est fixé et ce que l'on peut effectivement réaliser en fonction des connaissances et des données disponibles. En particulier, le métabolisme des protéines et des AA se caractérise par une extrême complexité qui provient à la fois de la multiplicité de ses sous-systèmes d'organisation

imbriqués les uns dans les autres (molécules, cellules, tissus, organes...), et de la multiplicité des voies d'échanges qui les relient entre eux. De plus, les processus métaboliques qui assurent la distribution des AA et de l'azote dans l'organisme ont un caractère dynamique marqué recouvrant des échelles de temps parfois très différentes, qui varient de surcroît avec l'état nutritionnel (état nourri ou postabsorptif, jeûne) ou physiopathologique (statut nutritionnel, état pathologique) de l'individu. A cette complexité inhérente à la structure et au fonctionnement du système s'ajoute la difficulté d'accès, par la voie expérimentale, à certains pools azotés, en particulier chez l'homme (Carson *et al.*, 1981). De plus, les données qu'on peut obtenir sur ce système nutritionnel ne sont pas « parfaites », c'est-à-dire qu'elles sont à la fois discrètes (i.e., non continues) et bruitées (i.e., entachées d'erreur de mesure) (Cobelli & Caumo, 1998). Il existe alors une inadéquation entre l'insuffisance du contenu informatif des données expérimentales et la complexité du modèle que l'on pourrait souhaiter développer (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Cette inadéquation rend vaine la mise en place à court terme de modèles capables de traduire et d'expliquer de manière exhaustive la cascade des phénomènes métaboliques impliqués dans le métabolisme des protéines et des AA, en particulier chez l'homme. En conséquence, il est nécessaire de chercher à simplifier la structure et le fonctionnement du système afin de rendre possible la mise en place d'un modèle global permettant son étude.

Cette simplification est tout d'abord rendue possible par la structure particulière des modèles à compartiments, qui permettent de réduire un système nutritionnel complexe en un nombre fini de compartiments et de voies d'échange entre ces compartiments (Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Cette simplification revêt différents aspects, et nécessite en particulier l'agrégation, au sein d'un même compartiment, des constituants présentant un rôle ou un devenir métabolique proches (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & Caumo, 1998), ou bien des tissus ou des organes dans lesquels la substance considérée présente un comportement cinétique similaire (DiStefano & Landaw, 1984). De même, cette simplification peut nécessiter d'agréger plusieurs processus métaboliques dans une même voie d'échange entre deux compartiments, voire parfois de négliger, au moins à titre transitoire, certains flux, pools ou phénomènes métaboliques jugés mineurs. Tout modèle décrivant le métabolisme des protéines, des AA ou de l'azote chez l'homme ou chez l'animal a en fait recours à ce type d'agrégation ou d'omission, à des degrés divers selon la complexité globale du modèle et la qualité et/ou la quantité de données disponibles (Cayol *et al.*, 1997 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003 ; Gerrits *et al.*, 1997a ; Johnson *et al.*, 1999b).

L'ensemble de ces simplifications vise à restreindre le nombre de compartiments, de voies métaboliques et de métabolites intermédiaires à intégrer au modèle, et ce d'autant plus que les données expérimentales dont on dispose pour identifier le modèle sont rares ou parcellaires (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Par exemple, les différents tissus splanchniques sont agrégés dans un même compartiment dans le modèle du métabolisme protéique développé chez l'homme par Cayol *et al.* (Figure 35) (Cayol *et al.*, 1997), tandis que celui développé chez le rongeur par Johnson *et al.* (Figure 33) (Johnson *et al.*, 1999b) comporte 3 compartiments protéiques qui regroupent chacun des pools protéiques ayant des vitesses de renouvellement similaires (rapides, moyennes et lentes). De même, dans le modèle du métabolisme azoté chez l'homme développé par Fouillet *et al.* (Figure 39B) (Fouillet *et al.*, 2003), la synthèse de protéines par les tissus splanchniques (intestin et foie) et leur exportation vers la circulation sanguine sont représentées par une même voie de transfert (agrégation de plusieurs processus métaboliques dans une même voie d'échange), tandis que la dégradation des protéines splanchniques ainsi synthétisées n'a pas été prise en compte (omission de certains phénomènes métaboliques jugés négligeables lors de la période postprandiale considérée). En outre, il peut parfois s'avérer nécessaire de simplifier certains processus, par exemple en linéarisant certaines lois de transfert dont on connaît par ailleurs la nature non linéaire (comme pour les processus saturables d'absorption ou de transfert) (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Hanes *et al.*, 1999). Ainsi, la majorité des modèles des systèmes nutritionnels développés chez l'homme sont linéaires, c'est-à-dire que les transferts de nutriments y sont décrits par des équations différentielles linéaires du premier ordre (Carson *et al.*, 1981 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996). Enfin, dans de nombreux cas, il n'est ni possible ni approprié de développer des modèles couvrant une très grande échelle de temps, car la diminution de la période de temps couverte par la simulation permet de réduire le modèle en ne conservant que les processus jugés pertinents sur la période de temps considérée et/ou en permettant de linéariser certains processus (Carson *et al.*, 1981).

1.1.2. Différentes approches utilisées pour déterminer la structure d'un modèle

L'enjeu de la détermination de la structure est de choisir un modèle qui ne soit ni trop simple ni trop complexe par rapport aux connaissances théoriques et aux données expérimentales dont on dispose sur le système. En effet, un modèle trop simple (ou sous paramétré) ne rendrait pas compte de manière satisfaisante des phénomènes métaboliques étudiés, tandis

qu'un modèle trop complexe (ou sur paramétré) pourrait conduire à des prédictions erronées tout en reproduisant correctement les données. Deux approches distinctes sont classiquement employées pour déterminer la structure d'un modèle (Carson *et al.*, 1981). La première est guidée par le souci de développer une structure ayant une signification physiologique forte ; on parle alors de modèle de systèmes. Cette approche consiste à postuler une structure sur la base des connaissances théoriques disponibles sur le système, puis à la valider grâce à des données expérimentales (Carson *et al.*, 1981). Le plus souvent, ces données sont insuffisantes pour identifier tous les paramètres, ce qui nécessite de procéder à une réduction du modèle postulé en négligeant et/ou simplifiant certains processus métaboliques (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984). Cette réduction génère nécessairement de l'erreur liée à l'incertitude sur l'ampleur des effets négligés. Au contraire de cette première approche qui utilise les connaissances théoriques disponibles sur le système, la seconde utilise uniquement les données expérimentales ; on parle alors de modèle de données (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & Caumo, 1998). Cette approche consiste à choisir arbitrairement une structure qui assure un ajustement correct des prédictions du modèle aux observations du système, puis à tester des structures d'ordres inférieur et supérieur afin de retenir *in fine* le modèle le plus simple *vs.* des modèles plus complexes qui n'améliorent pas significativement la qualité des ajustements (principe de parcimonie) (Cobelli & Caumo, 1998). Cette approche est guidée par un souci de rationalisation théorique, l'objectif étant de fixer des règles objectives pour choisir la structure du modèle. Cependant, elle peut conduire à la sélection d'un modèle dont la structure et les paramètres n'ont pas de correspondance *a priori* avec les grandeurs physiologiques connues du système (DiStefano & Landaw, 1984). En fonction des objectifs de modélisation que l'on s'est fixés, il s'agit de trouver un compromis réaliste entre ces deux types d'approches, par exemple en les combinant de manière à déterminer la structure minimale qui permette de rendre compte de manière satisfaisante des données tout en restant cohérente avec les connaissances disponibles sur le système étudié. Cette dernière approche a par exemple été mise en œuvre lors du développement de modèles compartimentaux du métabolisme de certains micronutriments (Lowe *et al.*, 1997 ; Miller *et al.*, 2000) et de l'azote alimentaire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003) chez l'homme.

1.1.3. Discrimination de différentes structures candidates

L'approche qui consiste à retenir le modèle adéquat le plus simple (principe de parcimonie) nécessite de comparer la capacité de différentes structures candidates à rendre compte des

données expérimentales dont on dispose. Pour ce faire, il faut tester l'ajustement aux données expérimentales de différents modèles d'ordre croissant (i.e., ayant un nombre croissant de compartiments et/ou de voies de transfert) (Cobelli & Caumo, 1998). Ainsi, dans certaines études, le nombre minimum de compartiments requis (i.e., l'ordre du modèle) est estimé à partir du nombre minimal d'exponentielles nécessaire pour ajuster les données expérimentales (Jang *et al.*, 2000 ; Miller *et al.*, 1998 ; Saccomani *et al.*, 1995). Cette méthode est valable pour des modèles simples où l'on ajuste les données à une somme de 1 à 5 exponentielles au plus par des méthodes classiques de régression non linéaire (moindres carrés pondérés ou non). Pour des modèles plus complexes, il faut choisir parmi plusieurs structures candidates d'ordre croissant la structure la plus simple qui permet de rendre compte correctement des données, les structures d'ordre supérieur n'améliorant pas significativement la qualité de l'ajustement (Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Foster, 1998 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Lowe *et al.*, 1997). Ces structures candidates sont discriminées à partir de différents critères et/ou tests statistiques (**Fiche Technique 4**) (Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Foster, 1998 ; Fouillet *et al.*, 2000). Ces critères sont évalués sur la base de la valeur de la fonction objectif obtenue pour chaque modèle candidat à l'issue du processus d'estimation des paramètres, cette fonction objectif constituant une mesure de la qualité de l'ajustement entre les données prédites et les données observées (cette notion sera explicitée en détail dans la partie 2) (Cobelli & Foster, 1998). Comme la qualité des ajustements augmente en général avec la complexité du modèle et le nombre de données disponibles, la seule valeur de la fonction objectif ne peut suffire à déterminer la structure de modèle adéquate : en effet, au seul jugé du critère objectif, le modèle le plus complexe serait systématiquement sélectionné. Ainsi, la plupart des critères utilisés pour déterminer la structure d'un modèle tiennent également compte du nombre de paramètres et/ou de données disponibles, de manière à pénaliser les modèles d'ordre élevé (Fiche Technique 4) (Cobelli & Foster, 1998). Dans la littérature, l'utilisation de ces critères pour sélectionner la structure du modèle est abordée de manière plus ou moins détaillée (Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Foster, 1998 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Lowe *et al.*, 1997). Cependant, le problème du choix de la structure est le plus souvent totalement négligé ou passé sous silence, le modèle étant alors livré sans explication ou justification supplémentaire (Gerrits *et al.*, 1997a ; Johnson *et al.*, 1999b ; Rivest *et al.*, 2000).

1.2. Identifiabilité théorique (*a priori*)

1.2.1. Position du problème et définition

Dans la plupart des cas, il est impossible d'observer expérimentalement l'évolution de toutes les variables d'état d'un système, car celui-ci n'est en général que partiellement accessible à la mesure (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez & Perry, 1990 ; Jacquez, 1996). L'étude de l'identifiabilité théorique *a priori* d'un modèle (**Fiche Technique 5**) permet de vérifier que les données expérimentales dont on dispose (ou que l'on projette d'obtenir) contiennent l'information nécessaire pour estimer tous les paramètres inconnus du modèle (Carson *et al.*, 1981 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & DiStefano, 1980 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996). Trois configurations sont alors possibles : le modèle peut être i) uniquement identifiable (ou globalement identifiable) si tous ses paramètres ont une solution unique ; ou ii) non uniquement identifiable (ou localement identifiable) si au moins un de ses paramètres a un nombre fini (≥ 2) de solutions possibles ; ou enfin iii) non identifiable si au moins un de ses paramètres a une infinité de solutions possibles (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). Il est indispensable de vérifier l'identifiabilité *a priori* d'un modèle pour s'assurer que l'estimation numérique de ses paramètres constituera ensuite un problème bien posé admettant (au moins théoriquement) une solution unique (Audoly *et al.*, 1998 ; Jacquez, 1996). Si le modèle n'est pas uniquement (ou globalement) identifiable, il est dit sous déterminé ou sur paramétré, c'est-à-dire qu'il contient trop de paramètres pour qu'ils puissent être tous estimés à partir des données expérimentales (Landaw & DiStefano, 1984).

L'étude de l'identifiabilité théorique *a priori* d'un modèle s'effectue en se plaçant dans le contexte idéal d'un modèle sans erreur de structure et de données expérimentales continues et non bruitées (Cobelli & Caumo, 1998). Elle nécessite de connaître à la fois la structure du modèle et les compartiments qui sont (ou seront) suivis expérimentalement, sans toutefois nécessiter l'obtention préalable de données réelles. L'étude de l'identifiabilité théorique peut en effet être traitée avant d'engager les expérimentations, ce qui permet le cas échéant d'adapter le schéma expérimental et/ou de déterminer les compartiments qui doivent nécessairement être observés expérimentalement pour assurer l'identifiabilité unique des paramètres du modèle (Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Mori, 1977). L'identifiabilité théorique d'un modèle s'avère donc un critère essentiel dans le choix du schéma expérimental (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & DiStefano, 1980 ; DiStefano & Mori, 1977 ; Saccomani

& Cobelli, 1993), lequel détermine ainsi la complexité du modèle qui pourra être développé (Cobelli & Caumo, 1998). Inversement, si les expérimentations ont été déjà menées ou s'il existe des contraintes techniques et/ou éthiques limitant le choix du schéma expérimental, l'analyse de l'identifiabilité théorique du modèle permet de choisir une structure qui soit adaptée aux données accessibles, c'est-à-dire pas trop complexe par rapport à l'information que ces données fournissent (Cobelli & Caumo, 1998).

1.2.2. Méthodes et outils

L'analyse de l'identifiabilité théorique des modèles compartimentaux a fait l'objet de nombreux travaux, récapitulés dans différents ouvrages et articles de synthèse (Cobelli & DiStefano, 1980 ; Jacquez, 1996). De nombreuses méthodes ont été développées, qui permettent de tester l'identifiabilité théorique *a priori* des modèles compartimentaux linéaires (matrice des paramètres de Markov, fonction de transfert, transformation de similarité...) (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & DiStefano, 1980 ; Jacquez, 1996) et non linéaires (linéarisation, développement en séries de Taylor ou en séries génératrices, algèbre différentielle...) (Audoly *et al.*, 2001 ; Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & DiStefano, 1980 ; Jacquez, 1996). L'étude de l'identifiabilité théorique est généralement un problème complexe qui nécessite, quelle que soit la méthode utilisée, de résoudre un système d'équations algébriques non linéaires, ou équations d'identifiabilité (Cobelli & DiStefano, 1980 ; Jacquez, 1996). De plus, le nombre d'inconnues et de termes, ainsi que le degré de non-linéarité de ces équations augmentent considérablement avec le nombre de compartiments et de voies de transfert du modèle, ce qui fait que, pour les modèles complexes, leur résolution est rapidement limitée par les capacités de calcul des logiciels de calcul formel (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984).

L'outil logiciel qui a été le plus utilisé pour étudier l'identifiabilité théorique des modèles compartimentaux est le logiciel IDENT (IDENTifiability) (Jacquez & Perry, 1990), qui teste, pour des modèles linéaires ou non linéaires, l'identifiabilité locale (unique ou non unique) vs. la non-identifiabilité des paramètres, sans toutefois préciser le nombre de solutions possibles pour chacun d'eux. Plus récemment, l'équipe de Claudio Cobelli a développé le premier logiciel permettant de tester l'identifiabilité globale de modèles compartimentaux linéaires, GLOBI2 (GLOBal Identifiability), qui est un outil de calcul algébrique combinant la méthode de la fonction de transfert et des méthodes d'algèbre computationnelle, en particulier l'algorithme de Buchberger (Audoly *et al.*, 1998). GLOBI2 permet de calculer le nombre

théorique de solutions pour chaque paramètre inconnu d'un modèle linéaire relativement complexe (jusqu'à 12 compartiments), c'est-à-dire qu'il distingue chacune des trois configurations possibles de l'identifiabilité théorique (identifiabilité unique ou non unique, ou non identifiabilité). La même équipe a également développé plus récemment un nouvel algorithme basé sur des techniques d'algèbre différentielle, qui permet de tester l'identifiabilité globale de modèles compartimentaux non linéaires (Audoly *et al.*, 2001 ; Saccomani *et al.*, 2003). Un outil logiciel mettant cet algorithme en œuvre devrait être accessible très prochainement (Maria Pia Saccomani, communication personnelle). En raison de la complexité de son étude, l'identifiabilité théorique *a priori* des modèles compartimentaux n'est encore que très rarement testée dans la littérature (Cobelli *et al.*, 1991 ; Saccomani *et al.*, 1995). Le développement du logiciel GLOBI2 a toutefois permis de tester l'identifiabilité théorique de différents modèles qui n'avaient pas effectué cette analyse dans leur publication originale (comme ceux du métabolisme du zinc (Foster *et al.*, 1979) et de l'apolipoprotéine B (Demant *et al.*, 1996) chez l'homme) (Audoly *et al.*, 1998), et a en outre été utilisé lors du développement de modèles compartimentaux du métabolisme du zinc (Lowe *et al.*, 1997 ; Miller *et al.*, 2000) et de l'azote alimentaire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003). Cependant, les capacités de calcul de GLOBI2 sont rapidement dépassées lors de l'analyse de l'identifiabilité théorique de certains modèles complexes, comme ceux du métabolisme du zinc (14 compartiments et 22 voies d'échange) (Miller *et al.*, 1998) et de l'azote alimentaire (13 compartiments et 19 voies d'échange) (Fouillet *et al.*, 2003). Dans ce contexte, beaucoup d'espoirs sont fondés sur les techniques d'algèbre différentielle, plus puissantes (Audoly *et al.*, 2001 ; Margaria *et al.*, 2004 ; Saccomani *et al.*, 2003).

1.2.3. Gestion pratique des problèmes d'identifiabilité théorique

Si le modèle n'est pas globalement mais localement identifiable, c'est-à-dire qu'au moins un de ses paramètres a plusieurs solutions possibles, il faut alors déterminer la valeur la plus plausible de ce paramètre d'un point de vue physiologique pour pouvoir identifier le modèle (Carson & Cobelli, 2001). Si le modèle est non identifiable, c'est-à-dire qu'au moins un de ses paramètres a une infinité de solutions possibles, c'est qu'il est trop complexe par rapport au contenu informatif des données expérimentales pour que les valeurs de tous ses paramètres puissent être estimés numériquement (Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998). Différentes méthodes existent qui permettent de résoudre le problème de la non-identifiabilité théorique des modèles (Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998

; Pont *et al.*, 1998). Tout d'abord, la simplification de la structure du modèle (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson *et al.*, 1981 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli *et al.*, 1984) ou l'obtention de données expérimentales supplémentaires (Carson & Cobelli, 2001) peuvent permettre d'obtenir un modèle théoriquement identifiable. La restriction du domaine de variation des paramètres à un intervalle où ils sont localement identifiables a également été proposée (Carson & Cobelli, 2001 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Vicini *et al.*, 2000). Enfin, lorsque le problème de l'identifiabilité d'un modèle complexe ne peut pas être résolu par l'un de ces procédés, le modèle doit être rejeté en l'absence de raisons valables justifiant le choix d'une telle structure (comme celles de la complexité inhérente du système étudié ou de l'ambition des objectifs visés) ou bien l'étude de l'identifiabilité théorique doit être traitée de façon à contourner ce problème (Cobelli *et al.*, 1984). Une piste consiste à décomposer le modèle en différents sous-systèmes qui seront analysés séparément (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984). Cette méthode a notamment été menée avec succès lors de l'étude de l'identifiabilité théorique d'un modèle complexe du métabolisme du zinc (Miller *et al.*, 2000).

2. Estimation des paramètres et identifiabilité numérique

Le processus d'identification du modèle se poursuit par l'estimation numérique de ses paramètres. Contrairement à l'étude de l'identifiabilité théorique qui fait l'hypothèse de données continues et non bruitées pour déterminer l'existence et l'unicité (ou la non unicité) des paramètres du modèle, l'étape de l'estimation des paramètres vise à estimer leurs valeurs numériques à partir des données expérimentales discrètes et bruitées effectivement obtenues sur le système (Carson & Cobelli, 2001). Ceci explique que l'identifiabilité théorique soit une condition préalable nécessaire, mais pas suffisante, à une estimation réussie des paramètres, car elle ne prend en compte ni l'erreur de mesure expérimentale ni l'erreur commise sur la structure du modèle (**Figure 46**) (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998). Elle n'assure donc pas la réussite ultérieure de l'estimation numérique des paramètres, qui dépend principalement de la qualité de l'estimateur choisi et de l'efficacité des algorithmes de recherche utilisés. Cela souligne la nécessité de valider l'étape d'estimation des paramètres par le biais d'une analyse d'identifiabilité numérique afin de s'assurer de la fiabilité des estimations obtenues (Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996 ; Landaw & DiStefano, 1984). Cette étape d'identifiabilité

numérique est cruciale avant de procéder à l'interprétation des prédictions du modèle (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996).

2.1. Estimation des paramètres

L'estimation des paramètres d'un modèle compartimental requiert en général l'optimisation (i.e., la maximisation ou la minimisation) d'une fonction objectif, qui peut être n'importe quelle variable du modèle mais représente le plus souvent une mesure de l'adéquation entre les prédictions du modèle et les données expérimentales (Jacquez, 1996). L'estimation des paramètres consiste à déterminer les valeurs des paramètres qui minimisent l'écart entre les réponses du modèle et les observations du système (**Figure 47**) (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996). Cette procédure d'optimisation vise à ajuster les propriétés du modèle à celles du système étudié, une fois la structure du modèle déterminée (Cobelli & Caumo, 1998).

2.1.1. Différentes approches et estimateurs

Il existe différentes méthodes pour estimer les paramètres d'un modèle. La plus connue et la plus utilisée est celle des moindres carrés. Les principales alternatives à cette méthode sont les approches bayésienne (1763) et fishérienne (1912) d'estimation des paramètres.

i. Méthode des moindres carrés

La méthode des moindres carrés consiste à minimiser la somme quadratique des erreurs entre les prédictions du modèle et les données expérimentales (**Fiche Technique 6**) (Jacquez, 1996). Si de plus on dispose d'une estimation de l'écart-type de chaque mesure (i.e., de l'erreur expérimentale qui affecte chaque mesure), on l'utilise pour peser la contribution de la mesure à la somme quadratique des déviations des observations aux prédictions (Fiche Technique 6). Ainsi, une mesure aura d'autant plus de poids que son erreur est faible (Cobelli & Caumo, 1998). La quantité minimisée est alors la somme des carrés pondérés des erreurs de mesure, qui s'apparente à une loi du khi-deux, si les erreurs qui entachent les observations sont normalement distribuées (ce qui est le cas le plus courant).

ii. Approche fishérienne

La méthode fishérienne d'estimation des paramètres consiste à utiliser l'information issue des données expérimentales obtenues sur le système (et elles seules) pour estimer les valeurs des

paramètres $k_{i,j}$ du modèle (Sparacino *et al.*, 2000). Cette information est généralement décrite par la fonction (ou l'estimateur) de vraisemblance qui représente la probabilité que le jeu de paramètres considéré (supposé être le « vrai » jeu de $k_{i,j}$ qui engendre les « vraies » tailles des compartiments du modèle) ait pu engendrer les données expérimentales (entachées d'erreur) dont on dispose (**Fiche Technique 7**) (Bard, 1974). En général, cette fonction ne présente pas d'expression analytique simple, ce qui nécessite de poser certaines hypothèses sur les fonctions de densité de probabilité qui relient les paramètres du modèle aux données expérimentales. En particulier, les hypothèses d'indépendance et de normalité des erreurs de mesure permettent de simplifier considérablement l'expression de la fonction de vraisemblance et sont largement utilisées en pratique, à moins que les données obtenues sur le système ne fournissent des indices clairs de leur inexactitude (Jacquez, 1996). Sous ces deux hypothèses, les variables aléatoires que constituent les données expérimentales sont généralement représentées par des lois de distribution gaussienne centrées sur les prédictions du modèle, et d'écart-type la variabilité (due à l'erreur de mesure) des observations du système par rapport aux prédictions du modèle. Dans certains cas, et en particulier chez l'homme, cette variabilité des erreurs de mesure ne peut pas être déterminée expérimentalement, notamment lorsqu'il est impossible d'obtenir plusieurs réalisations de la variable considérée (e.g., lorsqu'il est impossible de répéter plusieurs fois une mesure sur un échantillon et/ou d'obtenir plusieurs séries de mesures pour un même individu). Un modèle d'erreur est alors posé, qui constitue une représentation mathématique de la variance des erreurs de mesure (Fiche Technique 7) (Bard, 1974 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996 ; Steiner *et al.*, 1990). Enfin, sous les deux hypothèses d'indépendance et de normalité des erreurs de mesure, l'estimateur du maximum de vraisemblance coïncide avec celui des moindres carrés (Fiche Technique 7).

iii. Approche bayésienne

L'approche bayésienne d'estimation des paramètres est une alternative à l'approche fishérienne du maximum de vraisemblance, où seule l'information expérimentale est utilisée pour estimer les paramètres du modèle. En effet, la différence majeure entre ces deux approches repose sur le fait que la méthode bayésienne d'estimation de paramètres considère à la fois les mesures expérimentales et les paramètres du modèle comme des variables aléatoires, tandis que seules les mesures expérimentales sont stochastiques dans l'approche fishérienne (Bard, 1974 ; Jacquez, 1996). Ainsi, la méthode bayésienne utilise des informations extérieures à l'étude concernant le domaine de variation possible des paramètres au sein de la population étudiée et leur distribution (normale, lognormale, autre...) sur ce domaine (Cobelli *et al.*, 1999 ; Jacquez,

1996). Ces informations sur les valeurs des paramètres du modèle sont synthétisées (par le modélisateur) au sein d'une fonction de densité de probabilité dite *a priori*. Une fonction de densité de probabilité dite *a posteriori* est ensuite définie comme le produit de la fonction de vraisemblance (contenant l'information sur les données expérimentales) et de la fonction de densité de probabilité *a priori* (contenant l'information sur les paramètres). Cette fonction de densité de probabilité *a posteriori* est le critère qui sera maximisé au cours de l'estimation bayésienne des paramètres (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996). Lorsque l'on dispose d'informations sûres sur la distribution des paramètres au sein de la population étudiée, l'approche bayésienne est moins exposée aux problèmes de non-identifiabilité numérique que la méthode fishérienne et améliore l'efficacité et la précision du processus d'estimation (Pillonetto *et al.*, 2003). Ainsi, lorsque l'on dispose de l'information *a priori* adaptée, l'approche bayésienne permet d'estimer les paramètres de modèles sur paramétrés et améliore la précision de l'estimation des paramètres par rapport à l'approche fishérienne, ce qui devrait permettre de développer des modèles d'une plus grande complexité (Sparacino *et al.*, 2000). Cependant, la méthode bayésienne favorise (par définition) les jeux de paramètres caractérisés par une forte densité de probabilité *a priori*, si bien qu'elle oriente la recherche vers le domaine de l'espace des paramètres pressenti *a priori* comme le plus probable par le modélisateur et n'a que peu de chance de s'en extraire. Ainsi, le choix de la fonction de densité de probabilité *a priori* des paramètres influence de manière déterminante les résultats du processus d'estimation (Jacquez, 1996), et il est préférable d'avoir recours à la méthode fishérienne lorsque l'on dispose de peu d'information *a priori* sur les valeurs des paramètres. Par ailleurs, le calcul de la fonction de densité de probabilité *a posteriori* de la méthode bayésienne nécessite d'avoir recours à des techniques de simulation de type Monte Carlo par chaîne de Markov (Magni *et al.*, 2000 ; Magni *et al.*, 2006 ; Pillonetto *et al.*, 2002 ; Pillonetto *et al.*, 2003). Cette complexité de mise en œuvre explique en grande partie que l'approche bayésienne ait été jusqu'à présent moins utilisée que l'approche fishérienne, et qu'elle reste pour l'instant consacrée à l'identification numérique de modèles très simples (Cobelli *et al.*, 1999 ; Magni *et al.*, 2000 ; Magni *et al.*, 2006).

iv. Influence de l'estimateur choisi : moindres carrés vs. maximum de vraisemblance

Les deux estimateurs les plus souvent utilisés et cités dans la littérature sont l'estimateur des moindres carrés et celui du maximum de vraisemblance (Bard, 1974 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996 ; Landaw & DiStefano, 1984). Si l'utilisation de l'estimateur du maximum de vraisemblance repose sur des bases statistiques et théoriques plus solides, en pratique, c'est

l'estimateur des moindres carrés (sous différentes formes : ordinaires, pondérés, étendus ou généralisés) qui est le plus souvent implémenté dans les logiciels d'optimisation non linéaire (e.g., SAAM/CONSAM, WinSAAM, SAAM II, MODELMAKER...), tandis que les logiciels qui utilisent le maximum de vraisemblance sont beaucoup plus rares (e.g., SIMUSOLV, ACSL Optimize...). Il n'y a pas de véritable consensus concernant le choix de la fonction objectif, en particulier parce que les mérites respectifs des différents estimateurs dépendent de manière complexe et interdépendante de nombreux facteurs tels que le nombre de paramètres à estimer, le nombre de données expérimentales disponibles, la connaissance *a priori* ou non des variances des erreurs de mesure... Il semble toutefois que les propriétés des estimateurs des moindres carrés et du maximum de vraisemblance soient similaires dans le cas d'une variable réponse unique (i.e., un seul compartiment suivi expérimentalement), mais pas dans celui, plus réaliste, de plusieurs variables réponses (i.e., plusieurs compartiments suivis expérimentalement). En effet, dans le cas de variables réponses multiples, les propriétés des deux estimateurs ne sont pas équivalentes pour de petits échantillons (i.e., pour un petit nombre de données expérimentales), l'estimateur du maximum de vraisemblance se révélant plus efficace que celui des moindres carrés (Jacquez, 1996). Ceci a été démontré sous la double hypothèse de normalité et d'indépendance des erreurs de mesure : l'estimateur du maximum de vraisemblance est alors toujours plus efficace que celui des moindres carrés généralisés (Carroll & Ruppert, 1988 ; Steiner *et al.*, 1990). Il semblerait donc qu'il soit préférable d'utiliser l'estimateur du maximum de vraisemblance dans le cas d'échantillons de petite taille, c'est-à-dire dans la plupart des études menées chez l'homme. De plus, il a été montré que le critère du maximum de vraisemblance doit être préféré à celui des moindres carrés dans le cas usuel où le modèle contient plusieurs variables réponses de tailles et de variances non homogènes (Hunter, 1967 ; Steiner *et al.*, 1990). Dans ce contexte, la méthode du maximum de vraisemblance présente l'avantage, par rapport à la méthode des moindres carrés pondérés, de ne pas nécessiter de connaître à l'avance la variance des erreurs de mesure pour pouvoir procéder à l'optimisation (Bard, 1974 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Hunter, 1967 ; Jacquez, 1996 ; Steiner *et al.*, 1990). En effet, un modèle d'erreur est intégré dans la fonction de vraisemblance, et attribue un coefficient d'hétéroscédasticité à chaque variable réponse (Fiche Technique 7), coefficient qui est estimé au cours du processus d'optimisation au même titre que les paramètres du modèle. Cela permet de procéder à l'ajustement simultané de variables ayant des patterns d'erreur très différents et d'obtenir *a posteriori* (i.e., après l'optimisation) des informations sur l'erreur de mesure de chaque variable réponse sans avoir besoin de la déterminer expérimentalement (Bard, 1974 ; Landaw & DiStefano, 1984 ; Steiner

et al., 1990). Au contraire, l'estimateur des moindres carrés nécessitent de connaître au moins partiellement la matrice de variance-covariance des erreurs de mesure, et de spécifier *a priori* le pattern d'erreur des données pour chaque variable réponse avant de procéder à l'estimation des paramètres. Ceci impose des contraintes expérimentales qui sont difficilement applicables chez l'homme (e.g., nécessité de répéter plusieurs fois l'expérience sur chaque individu), à moins de poser des hypothèses sur les valeurs des variances des erreurs (Cobelli *et al.*, 1989 ; Saccomani *et al.*, 1996). Cependant, l'estimateur des moindres carrés peut être préféré à celui du maximum de vraisemblance dans certains cas où l'on dispose d'informations *a priori* sûres sur la variabilité des erreurs de mesure, ou alors lorsque les données disponibles sur le système ne sont pas suffisamment informatives pour estimer, en plus des paramètres du modèle, les paramètres du modèle d'erreur (autant de paramètres d'hétéroscédasticité supplémentaires que de compartiments observés expérimentalement). L'utilisation des moindres carrés étendus *vs.* pondérés est alors conseillée (Spilker & Vicini, 2001).

2.1.2. Méthodes d'optimisation

Une fois l'estimateur choisi, l'étape suivante consiste à déterminer son optimum global, c'est-à-dire le jeu de paramètres qui permet d'atteindre sa valeur minimale (estimateur des moindres carrés) ou maximale (estimateur du maximum de vraisemblance). Dans de très nombreux cas, la fonction objectif à minimiser (ou maximiser) compte plusieurs minima (ou maxima) locaux dans l'espace à p dimensions des paramètres (**Figure 48**), qu'il faut parvenir à discriminer pour sélectionner l'optimum global (i.e., le plus petit des minima locaux ou le plus grand des maxima locaux). Différents algorithmes de recherche existent, qui permettent de progresser vers l'optimum de manière itérative à partir de valeurs initiales spécifiées par l'utilisateur (Jacquez, 1996 ; Landaw & DiStefano, 1984). Les algorithmes les plus utilisés dans notre thématique (car ils sont implémentés dans la plupart des logiciels d'estimation de paramètres) sont des algorithmes de recherche locale, qui permettent de déterminer le jeu de paramètres qui minimise (ou maximise) la fonction objectif dans le voisinage du point de départ spécifié par l'utilisateur (Figure 48). Ainsi, quand le jeu initial de paramètres ne se situe pas dans le voisinage proche de l'optimum global, il arrive fréquemment que l'algorithme de recherche « tombe » dans un optimum local et ne parvienne pas à s'en extraire (car toute tentative de déplacement dans le voisinage immédiat de cet optimum local n'améliore pas la fonction objectif) (Carson *et al.*, 1981 ; Jacquez, 1996 ; Landaw & DiStefano, 1984). Dans ce contexte, le développement de techniques d'optimisation dite globale propose une alternative

à l'utilisation des méthodes de recherche locale et devrait permettre d'éviter certains pièges de l'estimation des paramètres (Carson & Cobelli, 2001 ; Mendes & Kell, 1998). Nous allons présenter ici les principales méthodes d'optimisation locale et globale, et discuter leur mérites respectifs dans le cas de l'optimisation de fonctions objectif complexes et fortement non linéaires, telles que celles qui sont généralement employées en modélisation compartimentale des systèmes métaboliques et nutritionnels.

i. Méthodes locales

Le principe général d'une méthode d'optimisation locale est le suivant : à partir d'une solution de départ x_0 spécifiée par l'utilisateur, on engendre, par des transformations élémentaires qui diffèrent selon les méthodes, une suite de solutions « de proche en proche » qui converge vers la valeur optimale de la fonction objectif située dans un voisinage proche du point de départ (**Fiche Technique 8**). On distingue essentiellement trois types de méthodes d'optimisation locale : les méthodes d'ordre 0 qui n'utilisent que l'estimation de la valeur de la fonction objectif pour progresser vers l'optimum (e.g., la méthode du simplexe de Nelder-Mead (Nelder & Mead, 1965)), les méthodes d'ordre 1 qui requièrent en plus l'estimation du gradient de la fonction objectif (e.g., la méthode de la plus forte pente (Cauchy, 1847), la méthode du gradient conjugué (Fletcher & Reeves, 1964)...), et les méthodes d'ordre 2 qui utilisent la dérivée seconde ou Hessienne de la fonction objectif (e.g., la méthode de Newton (Newton, 1736), la méthode de quasi-Newton (Fletcher & Powell, 1963)...). La méthode de degré 0 la plus connue et la plus utilisée est celle du simplexe de Nelder-Mead (Nelder & Mead, 1965). Elle repose sur la construction d'un polyèdre initial ou simplexe à $p + 1$ dimensions dans l'espace des p paramètres (e.g., un triangle dans le cas d'une fonction à 2 paramètres ; un tétraèdre dans le cas d'une fonction à 3 paramètres...). Ce simplexe initial subit ensuite des transformations géométriques variées (réflexion, expansion, contraction...) avant de se rétracter au voisinage de l'optimum local (**Fiche Technique 9**). Même si les propriétés de convergence de cette méthode d'optimisation n'ont encore été que peu étudiées (Lagarias *et al.*, 1998), elle est très appréciée par les utilisateurs pour sa simplicité de programmation, sa faible consommation de mémoire et son temps de calcul raisonnable. De ce fait, la méthode du simplexe est utilisée dans des domaines d'application très variés (chimie, ingénierie chimique, médecine...), et elle est implémentée dans différents logiciels d'estimation de paramètres (e.g., SIMUSOLV, ACSL Optimize...). En outre, une étude récente (Humphrey & Wilson, 2000) a proposé différentes modifications de la méthode originelle de Nelder et Mead, qui permettent d'atténuer sa sensibilité aux conditions initiales

et au bruit, et d'éviter que l'algorithme ne se trouve piégé prématurément dans un optimum local. Les méthodes de gradient sont des méthodes d'optimisation du premier d'ordre, qui sont également proposées dans la plupart des logiciels d'identification de modèles (e.g., SAAM II, SIMUSOLV...). A l'origine, elles ont été conçues pour minimiser des fonctions quadratiques (on peut toujours se ramener à un problème de minimisation dans la mesure où maximiser une fonction revient à minimiser son opposé). La stratégie est identique pour tous les algorithmes de descente de gradient : l'utilisateur choisit un point de départ x_0 dans l'espace des p paramètres du modèle, puis une direction de progression r_0 , calculée à partir du gradient de la fonction objectif, et enfin un pas de progression adéquat λ_0 . Ce pas de progression peut être fixe (méthodes de gradient à pas fixe) ou peut varier à chaque itération de l'algorithme (méthodes de gradient à pas variable). Si le nouveau point obtenu en parcourant la distance λ_0 dans la direction r_0 est meilleur que x_0 , c'est-à-dire s'il produit une valeur plus petite de la fonction objectif, alors ce nouveau point est choisi comme nouveau point de départ, et ainsi de suite jusqu'à ce que la fonction objectif cesse de décroître. Différentes modifications ont ensuite été apportées à ce schéma de base afin d'améliorer la performance de l'algorithme de recherche (Fletcher & Powell, 1963 ; Fletcher & Reeves, 1964). Enfin, la méthode de Levenberg-Marquardt (Levenberg, 1944 ; Marquardt, 1963) est particulièrement adaptée à l'optimisation de l'estimateur des moindres carrés. Il s'agit d'une méthode du second ordre qui calcule à chaque itération une approximation de l'inverse de la matrice hessienne. Cette méthode classique d'optimisation des erreurs quadratiques est implémentée dans de nombreux logiciels d'estimation de paramètres (e.g., SAAM II, MODELMAKER...).

ii. Méthodes globales

Les méthodes d'optimisation globale constituent une alternative aux méthodes d'optimisation locale. Il en existe trois grandes catégories : les méthodes dites déterministes, énumératives et stochastiques. Les méthodes déterministes sont caractérisées par le fait, qu'à partir d'un point de départ donné, elles suivent toujours le même cheminement dans l'espace de recherche pour aboutir à la solution finale. Très récemment, une méthode déterministe d'optimisation globale (de type Branch-and-Bound) a permis d'estimer les paramètres d'un modèle GMA (Generalized Mass Action) décrivant les voies métaboliques impliquées dans la fermentation de *Saccharomyces Cerevisiae* (Polisetty *et al.*, 2006). Cependant, si les méthodes déterministes présentent des garanties théoriques de convergence vers l'optimum global (Esposito & Floudas, 1998), elles n'assurent pas que la convergence aura lieu en un temps fini

(Guus *et al.*, 1995), car leur coût de calcul croit très rapidement, et souvent de manière exponentielle, avec la taille du problème considéré. Les méthodes dites énumératives sont de principe assez simple : dans un espace de recherche fini (ou infini mais discrétisé), elles évaluent la fonction objectif en chaque point de l'espace (fini) des solutions. Toutefois, ces méthodes n'étant pas guidées par un raisonnement ou un processus intelligent, elles sont inadaptées aux problèmes de grande dimension (Hatjimihail, 1993). En effet, elles ne permettent pas d'orienter la recherche vers des sous-espaces susceptibles de contenir l'optimum et nécessitent de balayer intégralement l'espace des solutions. Enfin, les méthodes d'optimisation stochastiques sont des techniques guidées en partie ou entièrement par des processus aléatoires (Pardalos & Romeijn, 2002). Ces méthodes présentent l'avantage de produire des résultats indépendants des conditions initiales, et sont capables de s'extraire des optima locaux. Le prix à payer est qu'elles ne présentent aucune garantie théorique de convergence vers l'optimum global. Toutefois, en pratique, il arrive souvent que l'utilisateur se contente d'une solution acceptable (i.e., proche mais pas égale à l'optimum global) qui serait obtenue en un temps de calcul raisonnable. La méthode stochastique d'optimisation la plus naïve est celle du « multistart », qui consiste à évaluer la fonction objectif en un grand nombre de jeux de paramètres initiaux, choisis aléatoirement dans l'espace de recherche. Cependant, cette méthode présente un inconvénient majeur : différents points de départ peuvent conduire à l'obtention de la même solution finale (Guus *et al.*, 1995), ce qui rend la méthode absolument inefficace dans certains cas particuliers (e.g., lorsqu'il existe un bassin d'attraction dans l'espace de recherche vers lequel l'algorithme s'oriente de manière systématique). D'autres méthodes stochastiques d'optimisation globale existent, comme les algorithmes évolutionnaires (algorithme génétique, stratégie évolutive, programmation évolutionnaire...), le recuit simulé, la recherche tabou (Pardalos & Romeijn, 2002)... Il est intéressant de constater que nombre de ces méthodes sont inspirées de la biologie des organismes. En effet, les théories de l'évolution sont à l'origine des algorithmes évolutionnaires, les phénomènes de suivi de piste chez les fourmis ont conduit à l'élaboration des algorithmes de colonies de fourmis, et l'étude de l'organisation de groupes d'animaux a donné naissance aux méthodes d'optimisation par essaims particulières...

Un large panel de ces méthodes d'optimisation globale (multistart, algorithme génétique, stratégies évolutives, recuit simulé...) ont été implémentées dans un outil logiciel nommé Gepasi (Mendes, 1993 ; Mendes & Kell, 1998), afin d'aider à l'identification numérique de modèles linéaires et non linéaires de systèmes enzymatiques ou biochimiques. Cependant, si les méthodes d'optimisation globale ont connu leur heure de gloire, force est de constater que

certains problèmes complexes leur résistent toujours (Moles *et al.*, 2003). De ce fait, les modélisateurs se tournent désormais vers des méthodes hybrides, qui utilisent des algorithmes d'optimisation à la fois locale et globale (Rodriguez-Fernandez *et al.*, 2006 ; Tsai & Wang, 2005). Ces techniques hybrides permettraient ainsi de conjuguer la capacité exploratoire des méthodes d'optimisation globale (notion d'exploration) et la rapidité de convergence des méthodes d'optimisation locale, lorsque celles-ci sont initialisées dans un voisinage proche de l'optimum (notion d'exploitation) (Rodriguez-Fernandez *et al.*, 2006). Par exemple, une méthode hybride simple consiste à associer une stratégie de multistart à un algorithme de recherche locale de type gradient, ce qui revient à déterminer les optima locaux de différentes régions de l'espace, puis à les comparer afin de sélectionner l'optimum global (Fouillet *et al.*, 2000). Enfin, la plupart des méthodes d'optimisation globale ou hybride font intervenir différents opérateurs (e.g., le taux de mutation ou de crossover dans un algorithme génétique, le programme de refroidissement dans un algorithme de recuit simulé...), qui doivent être correctement paramétrés pour assurer la convergence de l'algorithme en un temps de calcul raisonnable (Eiben *et al.*, 1999). Cependant, les valeurs optimales de ces opérateurs dépendent en général fortement du problème considéré (Bäck *et al.*, 2000 ; Eiben *et al.*, 1999) et il n'existe pas de règles simples permettant de les déterminer *a priori*, si bien que l'application effective de ce type d'algorithmes est difficile pour l'utilisateur non initié. Une piste intéressante consiste à faire varier et à estimer les valeurs optimales de ces différents opérateurs en même temps que les paramètres du modèle (méthode dite de « self-adaptation ») (Bäck *et al.*, 2000 ; Eiben *et al.*, 1999 ; Kivijärvi *et al.*, 2003), mais cela augmente considérablement la complexité du problème d'optimisation, puisqu'il faut non seulement estimer les valeurs des paramètres du modèle, mais aussi ceux des opérateurs de l'algorithme de recherche.

2.1.3. L'estimation des paramètres en pratique

Dans la plupart des études ayant mené à l'élaboration des modèles compartimentaux des systèmes métaboliques ou nutritionnels présentés dans la partie précédente, c'est l'estimateur des moindres carrés (pondérés ou étendus) qui est utilisé pour déterminer les valeurs numériques des paramètres, en employant les logiciels SAAM/CONSAM ou WinSAAM (par exemple : (Cobelli *et al.*, 1991 ; Jang *et al.*, 2000 ; Kelley & Green, 1998 ; Lowe *et al.*, 1997)) ou plus récemment SAAMII (par exemple : (Cobelli & Foster, 1998 ; Foster, 1998 ; King *et al.*, 2001)). Dans ces travaux, le choix de la pondération des données expérimentales, lorsqu'il est explicité, n'est que rarement justifié (King *et al.*, 2001 ; Miller *et al.*, 1998), et ses

conséquences sur les résultats de l'estimation des paramètres ne sont pas évaluées. L'utilisation de l'estimateur du maximum de vraisemblance par le biais de logiciels comme SIMUSOLV (par exemple : Fouillet, 2000 #18; Fouillet, 2003 #19; Johnson, 1999 #348; Shyr, 1991 #333) ou plus récemment ACSL Optimize (par exemple : (Johnson *et al.*, 2000)), qui permet de gérer l'incertitude sur le bruit expérimental, est cependant beaucoup plus rare.

Dans l'ensemble de ces études, le problème de l'estimation numérique des paramètres est systématiquement résolu en utilisant des algorithmes de recherche locale, dans la mesure où aucun des outils logiciel classiquement utilisés en nutrition et en physiologie ne propose de méthodes d'optimisation globale. En outre, le problème de l'existence d'optima locaux est généralement passé sous silence, même s'il est le plus souvent pris en compte (Cobelli *et al.*, 1991 ; Jang *et al.*, 2000 ; Miller *et al.*, 2000). Dans ce cas, l'estimation des paramètres est alors menée en deux temps: une première phase manuelle, dite « intuitive », précède la phase automatique d'ajustement des paramètres (Miller *et al.*, 1998 ; Miller *et al.*, 2000 ; Pont *et al.*, 1998 ; Shyr *et al.*, 1991). La première phase intuitive consiste généralement à faire varier manuellement les valeurs des différents paramètres afin de se familiariser avec le comportement du modèle et de trouver des valeurs initiales réalistes et pertinentes pour mener la seconde phase automatisée. Dans de très rares études (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991), cette première phase est menée de manière raisonnée et/ou automatisée, en testant un grand nombre de jeux de paramètres initiaux, et ce afin d'explorer l'espace de recherche le plus intensivement possible. Par ailleurs, cette première phase intuitive est d'autant plus importante que le modèle est complexe, car plus la dimension de l'espace des paramètres est grande et plus l'estimation automatisée est susceptible d'échouer si les valeurs initiales sont éloignées des valeurs optimales des paramètres (Shyr *et al.*, 1991). Dans cette dernière étude, le modèle développé pour décrire la distribution de Cérium inhalé chez le chien est en effet trop complexe (11 compartiments et 26 voies d'échange) pour que la recherche de l'optimum global puisse être menée de manière efficace par un algorithme de type gradient (Shyr *et al.*, 1991). La stratégie adoptée a alors consisté à mener une analyse de sensibilité (cette notion sera explicitée en détail dans la partie 2.3.) préalable, afin de déterminer les paramètres les plus influents sur les prédictions du modèle, et de les estimer en première instance avant de mener la procédure d'optimisation sur l'espace de recherche tout entier (Shyr *et al.*, 1991). En outre, lorsque le modèle est théoriquement non identifiable, il peut exister une région entière de l'espace des paramètres pour laquelle la fonction objective est minimale (ou maximale). Ce cas typique n'est pas forcément détecté lors de la phase automatique d'ajustement des paramètres et l'algorithme de recherche s'arrête lorsqu'il a atteint un point de ce sous-espace

des possibles (car alors la valeur de la fonction objective ne varie plus suffisamment pour que la recherche se poursuive) (Jacquez & Perry, 1990 ; Jacquez, 1996). Dans la grande majorité des études publiées, l'identifiabilité théorique n'est pas vérifiée avant d'entamer l'estimation des paramètres, et de tels problèmes d'estimation numérique ont donc une forte probabilité d'occurrence. Cependant, ces problèmes ne sont que rarement discutés (Johnson *et al.*, 1999b).

2.2. Identifiabilité numérique (*a posteriori*)

2.2.1. Position du problème

La réussite effective de l'estimation des paramètres, et notamment la qualité des ajustements entre données prédites et observées et la précision avec laquelle les paramètres sont estimés, dépend de l'efficacité des outils numériques et des algorithmes de recherche employés. Même si tous les paramètres du modèle sont uniquement identifiables d'un point de vue théorique, le problème d'estimation des paramètres est généralement très difficile à résoudre en pratique, en raison principalement de la forte non linéarité de la fonction objectif (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996) et de l'existence de corrélations entre certains paramètres du modèle (Garfinkel & Fegley, 1984 ; Jacquez, 1996). Ces différents problèmes soulignent la nécessité de tester la fiabilité des résultats de l'identification numérique (obtenus à l'issue du processus d'optimisation). Cette étape de validation des résultats de l'estimation des paramètres est nommée identifiabilité *a posteriori*, ou identifiabilité pratique, ou encore identifiabilité numérique du modèle (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998 ; Landaw & DiStefano, 1984). Elle permet de tester la qualité de l'ajustement et la fiabilité des estimations des paramètres, en étudiant l'ensemble des informations disponibles à l'issue du processus d'identification numérique (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Landaw & DiStefano, 1984). La vérification de la qualité de l'estimation des paramètres est une composante importante du processus de validation (Figure 45) (Cobelli *et al.*, 1984). En effet, les prédictions du modèle, en particulier celles qui concernent l'évolution dynamique des variables non suivies expérimentalement, dépendent directement des valeurs estimées des paramètres du modèle. Il est donc absolument nécessaire de s'assurer de la fiabilité de ces prédictions avant d'en tirer toute conclusion ou interprétation physiologique (Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998).

2.2.2. Méthodes

L'étude de l'identifiabilité numérique exploite plusieurs types d'informations obtenues à l'issue du processus d'ajustement des prédictions du modèle aux données expérimentales. Elle consiste généralement à évaluer la qualité de l'ajustement obtenu et à déterminer la précision avec laquelle les paramètres ont été estimés (DiStefano & Landaw, 1984). La qualité de l'ajustement obtenu peut d'abord être appréciée visuellement, en observant les graphes des valeurs prédites vs. observées pour chacune des variables d'état suivies expérimentalement (DiStefano & Landaw, 1984 ; Garfinkel & Fegley, 1984 ; Shyr *et al.*, 1991). Les logiciels fournissent aussi des indices globaux de la qualité de l'ajustement, sous la forme d'un coefficient de détermination (R^2). L'analyse des résidus permet ensuite de vérifier *a posteriori* les hypothèses de normalité et d'indépendance de l'erreur de mesure qui ont été posées lors du processus d'identification du modèle (DiStefano & Landaw, 1984 ; Shyr *et al.*, 1991). Lorsque les résidus ne sont pas distribués de manière aléatoire, on observe alors des déviations systématiques entre les données expérimentales et les données prédites (Garfinkel & Fegley, 1984). En général, ceci traduit le fait que la structure du modèle est trop simple pour rendre compte des données expérimentales de manière satisfaisante et qu'elle aurait nécessité davantage de compartiments et/ou de voies de transferts (Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Enfin, l'identifiabilité numérique nécessite également de vérifier que les paramètres du modèle ont été estimés avec suffisamment de précision. La courbure de la fonction objectif autour du jeu de paramètres obtenu, qui est déterminée par le calcul des valeurs des dérivées secondes de la fonction objectif par rapport aux paramètres du modèle, est un indicateur de la précision avec laquelle les paramètres ont été estimés (**Figure 49**) (Carson & Cobelli, 2001). En effet, la variance des paramètres est obtenue en calculant la matrice de variance-covariance des paramètres (la variance du $k^{\text{ième}}$ paramètre du modèle est le $k^{\text{ième}}$ élément diagonal de la matrice de variance-covariance), qui est classiquement estimée en inversant la matrice d'information de Fisher (i.e., la matrice hessienne ou matrice des dérivées secondes de la fonction objectif par rapport à chaque paire de paramètres du modèle) (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996 ; Lowe *et al.*, 1997 ; Saccomani *et al.*, 1995). Plus exactement, l'inverse de la matrice d'information de Fisher fournit une borne inférieure (ou borne de Cramer-Rao) aux variances de chacun des paramètres estimés (Carson & Cobelli, 2001). Le plus souvent, la précision des paramètres estimés est ensuite exprimée en terme de coefficient de variation (ou CV, calculé comme le rapport de la racine carrée de la

variance sur la valeur du paramètre considéré) (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1991 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; Cobelli & Foster, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Foster, 1998). Un paramètre dont le coefficient de variation est inférieur à 50% est généralement considéré comme ayant été estimé avec une précision satisfaisante (Foster, 1998 ; Miller *et al.*, 1998 ; Miller *et al.*, 2000). De plus, lorsqu'un paramètre présente un coefficient de variation inférieur à 50%, il y a 95% de chance pour que ce paramètre soit effectivement non nul, ce qui justifie *a posteriori* son existence (Miller *et al.*, 2000). Enfin, la matrice de variance-covariance fournit les coefficients de corrélation entre les différents paramètres du modèle, information qui doit être prise en compte car l'existence de corrélations entre certains paramètres du modèle est une source d'incertitude importante lors de leur estimation numérique (Carson & Cobelli, 2001 ; DiStefano & Landaw, 1984). En effet, la présence de coefficients de corrélations élevés (de valeur absolue supérieure à 0,8 ou 0,9 selon les auteurs) indique la possibilité que différentes combinaisons de valeurs de paramètres puissent conduire à des ajustements de qualité similaire (Miller *et al.*, 2000 ; Pont *et al.*, 1998).

2.2.3. Gestion pratique des problèmes d'identifiabilité numérique

Au contraire de l'étude de l'identifiabilité théorique, celle de l'identifiabilité numérique est très fréquemment (mais pas systématiquement) effectuée dans la littérature, même si elle est le plus souvent incomplète (Cobelli *et al.*, 1991 ; Dudley *et al.*, 1998a ; Griffin *et al.*, 2000 ; Jang *et al.*, 2000 ; Kelley & Green, 1998 ; King *et al.*, 2001 ; Lowe *et al.*, 1997 ; Miller *et al.*, 1998 ; Saccomani *et al.*, 1995). Les problèmes d'identifiabilité numérique peuvent provenir de la nature des données expérimentales (données rares et/ou fortement bruitées) ou d'une inadéquation de la structure du modèle aux données expérimentales (structure trop simple ou trop complexe) (Cobelli *et al.*, 1984 ; Pont *et al.*, 1998). Une précision insuffisante dans l'estimation des paramètres (avec des coefficients de variation supérieurs à 50%) peut provenir de données trop bruitées et/ou d'une structure trop complexe, tandis que les problèmes de structure sont plus vraisemblablement responsables de l'existence de déviations systématiques entre les données observées et les données prédites (structure trop simple) ou de corrélations importantes entre les paramètres du modèle (structure trop complexe) (Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998). La structure du modèle et/ou le schéma expérimental doivent alors être réexaminés et modifiés en conséquence. Ainsi, lorsque la précision des estimations des paramètres est insuffisante, elle peut être améliorée en optimisant le schéma expérimental (DiStefano, 1981), par exemple en choisissant les temps de prélèvements qui

minimisent le déterminant de la matrice de covariance du modèle (critère de D-optimalité) (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996 ; Landaw & DiStefano, 1984). Plus généralement, lorsque la qualité de l'ajustement n'est pas satisfaisante (problèmes de précision des paramètres ou de corrélations, problèmes de déviations systématiques), une nouvelle structure de modèle doit être proposée, testée et modifiée de manière itérative jusqu'à ce qu'elle permette d'obtenir un ajustement satisfaisant aux données expérimentales. Enfin, dans le cas où deux paramètres du modèle se révèlent fortement corrélés, la précision de l'estimation des paramètres peut être améliorée en ne faisant varier que l'un d'eux pendant l'ajustement automatique, le second paramètre étant fixé à une valeur réaliste déterminée pendant la phase manuelle d'estimation des paramètres (Foster *et al.*, 1979).

2.3. Validation du modèle sélectionné

Le modèle choisi repose sur certaines hypothèses concernant la structure et le fonctionnement du système étudié dont il faut tester la validité. Le processus de validation consiste à vérifier que le modèle est une représentation adéquate et pertinente du système étudié étant donné les objectifs pour lesquels il avait été formulé (Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998). On distingue deux types de validation : la validation interne et la validation externe (Cobelli *et al.*, 1984).

2.3.1. Validation interne

La validation interne consiste à vérifier la cohérence intrinsèque du modèle (Cobelli *et al.*, 1984), c'est-à-dire à s'assurer *a posteriori* que le problème d'identification numérique du modèle a été bien posé (identifiabilité théorique) et bien résolu (identifiabilité numérique). Ainsi, l'étude de l'identifiabilité théorique *a priori* du modèle et celle de son identifiabilité numérique *a posteriori* peuvent être considérées comme relevant de la validation interne (Cobelli *et al.*, 1984). Si l'un des critères assurant la fiabilité des résultats de l'identification du modèle n'est pas vérifié, le modèle doit être réexaminé et/ou rejeté.

2.3.2. Validation externe

La validation externe consiste à tester la plausibilité et l'utilité du modèle développé par l'intermédiaire de différents critères extérieurs au modèle, que ce soit des objectifs de

modélisation, des connaissances théoriques ou des données expérimentales autres que celles qui ont été utilisées pour identifier le modèle (Cobelli *et al.*, 1984).

i. Notion de plausibilité

La vérification de la plausibilité d'un modèle doit être conduite en fonction des objectifs de modélisation que l'on s'était fixés, et elle devra donc remplir des exigences différentes selon la nature du modèle, qu'il soit descriptif, prédictif ou explicatif (Cobelli *et al.*, 1984). La validité empirique des modèles descriptifs et prédictifs suffira à assurer leur plausibilité, tandis que les modèles explicatifs devront également être validés de manière théorique. Pour un modèle purement descriptif, il suffira de vérifier que le modèle reproduit bien les données expérimentales utilisées lors de son développement. Un modèle prédictif devra de plus être capable de simuler des données intrapolées (extension des données à une fonction continue) ou extrapolées (extension des données à un champ de valeur plus large que celui des données expérimentales, prédiction de l'évolution à plus long terme du système...). Enfin, un modèle à visée explicative devra être confronté à des données expérimentales indépendantes de celles qui ont été utilisées pour son développement, afin de vérifier qu'il permet bien de retrouver des résultats obtenus dans des contextes expérimentaux divers et d'expliquer d'éventuelles différences de réponses liées à des différences d'entrées dans le système (Cobelli *et al.*, 1984). Dans ce dernier cas, évaluer la plausibilité d'un modèle consiste à tester sa cohérence compte tenu des autres informations empiriques ou théoriques disponibles sur le système étudié. On peut ainsi tester la vraisemblance physiologique des valeurs obtenues pour les paramètres du modèle et pour l'évolution de ses variables d'état. Si certaines des prédictions du modèle sont incohérentes d'un point de vue physiologique, le modèle est jugé invalide et doit alors être réexaminé ou rejeté (Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli *et al.*, 1984).

Il est également possible de tester la cohérence entre le modèle et le système physiologique qu'il représente et d'évaluer la manière dont ses différentes parties interagissent entre elles en effectuant une analyse de sensibilité du modèle (Cobelli *et al.*, 1984 ; Saltelli *et al.*, 2000). L'analyse de sensibilité étudie la réponse des variables d'état du modèle à de petites variations ou incertitudes sur les valeurs de ses paramètres (ou facteurs d'entrée). Elle permet d'identifier les paramètres qui ont le plus et le moins d'influence sur les prédictions du modèle (Johnson *et al.*, 1999a ; Shyr *et al.*, 1991 ; Steiner *et al.*, 1990), ce qui procure une meilleure compréhension du comportement du modèle et permet de tester sa cohérence par rapport aux connaissances dont on dispose sur le système (Cobelli *et al.*, 1984 ; Gerrits *et al.*, 1997b). Outre ce rôle dans le processus de validation, l'analyse de sensibilité peut être utile à chacune

des étapes de développement du modèle. Elle peut d'abord favoriser le choix d'un schéma expérimental améliorant la précision de l'estimation des paramètres. Elle fournit aussi des informations utiles pour la modification de la structure du modèle, soit en suggérant la suppression des paramètres qui n'ont que peu ou pas d'effet sur la réponse observée (Shyr *et al.*, 1991), soit inversement en permettant de tester l'addition de processus supplémentaires (Steiner *et al.*, 1990). Enfin, elle peut faciliter le processus d'estimation des paramètres, qui gagne à se concentrer pendant les premières phases de l'optimisation sur les variations, isolées puis conjointes, des paramètres ayant une influence majeure sur le système, avant de faire varier simultanément l'ensemble des paramètres (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991). Différentes techniques, les unes plus complexes que d'autres, peuvent être utilisées pour accomplir cette analyse de sensibilité (Cobelli *et al.*, 1984 ; Saltelli *et al.*, 2000). L'analyse de sensibilité dite « locale » s'attache à déterminer l'impact local des facteurs d'entrée sur les sorties du modèle. Elle consiste à estimer les coefficients de sensibilité du modèle en calculant les dérivées partielles des variables d'état du système par rapport aux paramètres du modèle en un point donné de l'espace des paramètres (**Fiche Technique 10**) (Saltelli *et al.*, 2000). L'analyse de sensibilité dite « globale » est une méthode quantitative basée sur l'estimation de la contribution de chacun des paramètres du modèle à la variance observée dans les sorties (Saltelli *et al.*, 2000). Différentes approches existent, qui permettent d'estimer l'effet des facteurs d'entrée sur les sorties du modèle, et sont largement décrites dans divers ouvrages et articles de référence (Rabitz *et al.*, 1999 ; Saltelli *et al.*, 2000 ; Sobol', 1993). En particulier, une de ces méthodes consiste à décomposer la variance totale d'une variable de sortie d'un modèle en la somme des contributions individuelles et conjointes de chacun de ses facteurs d'entrée (Fiche Technique 10).

ii. Notion d'utilité

La validité pragmatique d'un modèle concerne sa capacité à fournir des informations utiles en pratique. La validation heuristique relève de la capacité du modèle à tester des hypothèses, fournir des explications scientifiques, procurer des connaissances nouvelles et proposer de nouveaux axes de recherche (Cobelli *et al.*, 1984).

En conclusion, la modélisation compartimentale de systèmes nutritionnels complexes présente trois limitations majeures : la difficulté d'appréhender de manière globale le système et les interactions entre ses différents constituants, le peu de données expérimentales généralement disponibles sur le système pour construire, calibrer et valider les modèles proposés, et enfin le manque de robustesse et de puissance des outils existants de calculs formel et numérique pour résoudre les problèmes d'identifiabilité et d'identification des modèles développés. En effet, la principale difficulté rencontrée lors de la modélisation de systèmes nutritionnels complexes provient de l'inadéquation entre leur complexité inhérente de structure et de fonctionnement et le manque de données expérimentales concernant certaines de leurs composantes essentielles, en particulier chez l'homme. En outre, la nécessité de recourir à des outils mathématiques et à des méthodes numériques sophistiqués pour mener à bien les différentes étapes du processus de développement d'un modèle compartimental constitue un frein important à l'utilisation extensive de la modélisation compartimentale en physiologie de la nutrition.

CONCLUSIONS ET JUSTIFICATION DES TRAVAUX

L'assimilation des protéines alimentaires est un processus complexe qui met en jeu une cascade d'événements métaboliques, dynamiques et transitoires, contrôlant la distribution des AA d'origine alimentaire dans les différentes zones de l'organisme. Ainsi, pendant la phase postprandiale, les protéines ingérées subissent la digestion gastro-intestinale, libérant des AA qui sont alors soumis à l'absorption intestinale, à la désamination ou à l'incorporation dans les différents pools protéiques de l'organisme. La première partie de l'introduction nous a permis de faire le bilan des connaissances actuelles concernant ces processus métaboliques et leur modulation par différents facteurs alimentaires. Il est apparu que l'utilisation métabolique aiguë de l'azote et des AA alimentaires dans les zones splanchnique et périphérique sous différentes conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques est un domaine de recherche encore peu étudié chez l'homme, alors qu'il présente d'importantes applications théoriques et cliniques pour l'exploration du concept de qualité protéique et l'élaboration de stratégies nutritionnelles (Young *et al.*, 2000b). Ceci s'explique essentiellement par les contraintes et limitations des méthodes d'investigation utilisées (De Feo, 1998), et en particulier par le fait que les études isotopiques classiques nécessitent de maintenir l'organisme à un état stationnaire non compatible avec les conditions physiologiques d'apport (repas sous forme de bolus). Cela provient également du fait que les cinétiques protéiques postprandiales ont lieu majoritairement dans des compartiments métaboliques peu ou pas accessibles à la mesure expérimentale chez l'homme (e.g., le transit de l'azote et des AA alimentaires dans l'intestin, leur orientation métabolique dans la zone splanchnique ou leur incorporation dans les tissus périphériques).

Dans ce contexte, la modélisation compartimentale se révèle un outil de choix pour étudier la distribution et le métabolisme régional de l'azote alimentaire à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme. Comme nous l'avons vu dans la deuxième partie de l'introduction, le développement de modèles compartimentaux pour l'étude de ce système physiologique a été récemment initié au laboratoire, ce qui a conduit à l'élaboration de deux modèles (Figure 39), constitués de 11 compartiments et 15 voies d'échange pour le premier (Fouillet *et al.*, 2000), et de 13 compartiments et 19 voies d'échange pour le second (Fouillet *et al.*, 2003). Ces deux modèles ont été développés à partir de données expérimentales obtenues chez des volontaires sains ayant ingéré un repas protéique (mixte ou non) sous forme de bolus, et qui concernent les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans différents

pools azotés de l'organisme, comme les effluents iléaux, les AA libres et les protéines plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 2000b). En particulier, le premier modèle a permis de localiser et de comparer les phénomènes métaboliques impliqués dans la valorisation spécifique des protéines animales (lait) et végétales (soja) de référence, et d'étudier la modulation du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire par différents facteurs, comme les cinétiques d'absorption et de mise à disposition de l'azote alimentaire, l'hyperaminoacidémie ou l'hyperinsulinémie (Fouillet *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b). En outre, le deuxième modèle a permis de distinguer le compartiment des protéines splanchniques constitutives de celui des protéines splanchniques exportées, et de déterminer l'incorporation relative de l'azote alimentaire dans ces deux pools après l'ingestion d'un repas protéique mixte contenant des protéines de soja (Fouillet *et al.*, 2003). Ainsi, les modèles compartimentaux précédemment développés au laboratoire ont montré leur capacité à fournir des connaissances nouvelles sur les phénomènes métaboliques et dynamiques impliqués dans la distribution et le métabolisme régional de l'azote alimentaire en phase postprandiale chez l'homme (Fouillet, 2002). Cependant, ces deux modèles s'étant intéressés au devenir métabolique de l'azote alimentaire après l'ingestion de repas protéiques liquides, ils ne permettent pas de simuler les cinétiques de vidange gastrique de repas solides, lesquels correspondraient pourtant à une réalité plus physiologique d'apport. Par ailleurs, compte tenu de l'état nutritionnel des sujets lors de ces deux précédentes études (protéines alimentaires de très bonne qualité nutritionnelle, régime à teneur normale en protéines), certains phénomènes métaboliques ont pu être raisonnablement négligés, comme l'hydrolyse intestinale de l'urée produite au niveau hépatique et l'effet d'épargne de l'azote qui peut en découler, alors que ces phénomènes pourraient jouer un rôle plus important sous d'autres conditions nutritionnelles (protéines alimentaires de moindre qualité nutritionnelle, régimes à teneurs variables en protéines).

Par ailleurs, ces travaux préalables de modélisation au laboratoire ont montré l'existence de deux étapes limitantes lors du développement d'un modèle compartimental décrivant notre système physiologique complexe, à savoir l'étude de l'identifiabilité théorique du modèle (Fouillet *et al.*, 2003), et l'estimation numérique de ses paramètres (Fouillet *et al.*, 2000). L'étude de l'identifiabilité théorique d'un modèle consiste à s'assurer que tous ses paramètres ont bien une solution unique, dans le contexte (théorique) idéal de données continues, non bruitées et d'un modèle sans erreur de structure (Cobelli & Caumo, 1998). Récemment, des outils mathématiques sophistiqués, basés sur des concepts d'algèbre différentielle, ont été

développés afin d'étudier l'identifiabilité théorique de modèles compartimentaux non linéaires (Audoly *et al.*, 2001 ; Saccomani *et al.*, 2003). Ces nouveaux outils peuvent également être utilisés pour tester l'identifiabilité théorique de modèles compartimentaux linéaires, et ont depuis permis d'analyser le deuxième modèle développé au laboratoire, alors que sa complexité dépassait les capacités de calcul des outils logiciels disponibles lors de son élaboration (GLOBI2) (Fouillet *et al.*, 2003). Ensuite, l'étape d'estimation des paramètres d'un modèle consiste à déterminer les valeurs numériques de ces paramètres qui assurent l'adéquation des prédictions du modèle aux données expérimentales (Cobelli & Caumo, 1998). Comme nous l'avons vu dans la troisième partie de l'introduction, l'estimation des paramètres revient en général à déterminer l'optimum global d'une fonction objectif (le plus souvent les moindres carrés ou la fonction de vraisemblance), qui mesure la qualité des ajustements entre données prédites et données observées. Ce problème d'optimisation devient très difficile à résoudre lorsque le nombre de paramètres inconnus est grand. De ce fait, les méthodes classiques d'optimisation locale (e.g., de type gradient ou simplexe), bien qu'elles présentent des garanties de convergence vers l'optimum global de la fonction objectif lorsqu'elles sont initialisées au voisinage de ce point, se trouvent souvent « piégées » dans des optima locaux lorsqu'elles sont initialisées au voisinage de points trop éloignés de l'optimum global (Carson & Cobelli, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2000 ; Mendes & Kell, 1998). Malgré cet inconvénient, ce sont des algorithmes de recherche locale qui sont implémentés dans la plupart des logiciels utilisés en modélisation compartimentale (SAAM II, SIMUSOLV...). Inversement, si les méthodes d'optimisation globale (e.g., algorithme génétique, recuit simulé...) permettent souvent d'éviter l'écueil des optima locaux, elles ne présentent aucune garantie de convergence vers l'optimum global, en tout cas en un temps de calcul raisonnable (Rodriguez-Fernandez *et al.*, 2006). De plus, ces méthodes nécessitent le paramétrage d'un certain nombre d'opérateurs (e.g., le taux de mutation ou de crossover dans un algorithme génétique, le programme de refroidissement dans un algorithme de recuit simulé...), tâche qui n'est pas aisée pour l'utilisateur non averti. Une autre stratégie d'estimation des paramètres a été proposée dans la littérature (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991), qui constitue une alternative intéressante aux méthodes classiques d'optimisation locale et globale. Cette stratégie consiste à déterminer dans un premier temps les paramètres les plus influents sur le système (grâce à une analyse de sensibilité préalable du modèle), afin de diviser le processus d'estimation des paramètres en deux phases successives : dans la première étape, il s'agit de résoudre des problèmes d'optimisation plus simples où seuls les paramètres les plus influents du modèle sont estimés afin d'en déterminer des valeurs approchées (Shyr *et al.*, 1991) ; dans

la seconde étape, on revient au problème initial d'estimation où tous les paramètres varient, mais dans des domaines de variation qui ont été restreints au cours de l'étape précédente (Fouillet *et al.*, 2000). Bien qu'à ce stade, cette méthode nécessite encore d'être rationalisée, elle nous a semblé très prometteuse dans notre contexte particulier, pour des raisons à la fois pragmatiques et cognitives puisqu'elle fournit également des informations intéressantes sur la structure et le fonctionnement du système à l'étude.

TRAVAUX PERSONNELS

Nos travaux personnels présentent deux volets relativement distincts bien que complémentaires. Le premier volet a été consacré à des développements mathématiques ayant pour objectif l'amélioration des outils de modélisation compartimentale existants au laboratoire (articles 1 à 4). Le second a consisté à utiliser les méthodes développées afin d'étudier les phénomènes métaboliques impliqués dans la distribution postprandiale et le métabolisme régional de l'azote alimentaire sous différentes conditions nutritionnelles chez l'homme (article 5 à 8).

Dans un premier temps (articles 1 et 2), nous présenterons nos travaux de développement d'une méthode permettant d'estimer les paramètres de modèles compartimentaux linéaires. La méthode a d'abord été développée dans le cas particulier d'un modèle compartimental du métabolisme azoté précédemment développé au laboratoire (article 1). Elle repose sur une analyse de sensibilité préalable du modèle, qui permet de déterminer les paramètres les plus influents sur le système, cette information étant ensuite utilisée pour diviser le problème d'optimisation de grande taille en plusieurs sous-problèmes emboîtés de taille plus petite, plus faciles à résoudre par les algorithmes classiques de recherche locale. Par la suite, nous avons essayé de généraliser cette méthode, afin qu'elle puisse être utilisée lors de l'estimation des paramètres d'autres modèles compartimentaux linéaires (article 2). La méthode a été validée, d'abord dans le contexte idéal de données simulées non bruitées, puis de données simulées bruitées à différents niveaux et types de bruit, et enfin elle a été confrontée à des données cliniques « réelles », concernant les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans différents pools métaboliques (intestin, sang, urine) chez l'homme. Puis, nous présenterons un travail (article 3) qui récapitule et détaille de manière exhaustive les différentes étapes et problèmes rencontrés lors de l'élaboration d'un modèle compartimental complexe du métabolisme régional de l'azote alimentaire chez l'homme, depuis l'obtention de données expérimentales sur le système jusqu'à l'identification (structurelle et numérique, en employant la méthode d'estimation précédemment développée) puis la validation (interne et externe) du modèle sélectionné. Pour clore cette première partie méthodologique, nous présenterons un travail de synthèse (article 4), qui reprend brièvement les différentes étapes du développement d'un modèle compartimental complexe, tout en débattant des mérites respectifs des différentes méthodes disponibles dans la littérature pour résoudre ses deux étapes les plus limitantes, i.e., l'identifiabilité théorique *a priori* et l'identification numérique du modèle développé.

Dans un deuxième temps (articles 5 à 7), nous présenterons des travaux qui ont permis d'étudier la qualité de plusieurs protéines alimentaires (lait, soja et blé) sous différentes conditions nutritionnelles chez l'homme. Dans une première étude (article 5), l'utilisation métabolique postprandiale des protéines de blé a été étudiée à partir de la mesure de leur digestibilité iléale « vraie » et de leur rétention postprandiale chez des sujets sains ayant ingéré un repas mixte solide contenant des protéines de blé marquées intrinsèquement et uniformément au ^{15}N , sans régime d'adaptation préalable. Les données ainsi récoltées de distribution postprandiale de l'azote alimentaire dans un certain nombre de pools corporels ont donné lieu à une première analyse compartimentale (travaux non publiés complémentaires de l'article 5), qui a permis de localiser et d'étudier les phénomènes métaboliques impliqués dans la moindre rétention postprandiale des protéines de blé par rapport aux protéines animales et végétales de référence. Ensuite, des travaux expérimentaux complémentaires (article 6) ont été menés chez des sujets sains, qui étaient cette fois successivement adaptés à un régime normoprotéique puis hyperprotéique, afin d'étudier les effets d'une élévation du niveau habituel d'apport protéique sur l'utilisation métabolique postprandiale des protéines de blé. Les données ainsi obtenues ont fait l'objet d'une analyse compartimentale, menée en employant la méthode d'estimation des paramètres développée et précédemment décrite, qui a permis de comparer la distribution postprandiale et la rétention régionale des protéines de blé après l'adaptation à un régime normoprotéique *vs.* hyperprotéique chez l'homme. En parallèle, d'autres travaux de modélisation (article 7) ont été menés à partir de données précédemment obtenues au laboratoire selon un protocole similaire d'adaptation (Morens *et al.*, 2003), mais où les repas contenaient des protéines de lait ou de soja. Ces travaux ont permis d'expliquer les différences de rétention postprandiale de l'azote des protéines de lait *vs.* soja observées chez des sujets préalablement adaptés à un régime à teneur normale (normoprotéique) *vs.* élevée (hyperprotéique) en protéines. Enfin, une dernière étude (article 8) a permis de s'intéresser plus particulièrement aux cinétiques postprandiales de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée chez l'homme, ainsi qu'à leur modulation par la nature de la source protéique ingérée (lait *vs.* soja *vs.* blé) et par le niveau habituel d'apport protéique (normoprotéique *vs.* hyperprotéique).

PARTIE I :

VERS UNE AMÉLIORATION DES OUTILS ET UNE RATIONALISATION DES MÉTHODES DE MODÉLISATION COMPARTIMENTALE

La première partie de mon travail a consisté à améliorer les outils et à rationaliser les méthodes utilisés lors de la modélisation compartimentale du métabolisme azoté chez l'homme. Ces travaux méthodologiques ont bénéficié de différentes collaborations engagées avec Maria Pia Saccomani (Department of Information Engineering, University of Padova, Italy), Nédra Mellouli et Anne Ricordeau (Laboratoire de recherche en Informatique, génie industriel et Communication, IUT de Montreuil, France), Éric Cancès et Gabriel Turinici (Centre d'Enseignement et de Recherche en Mathématiques Informatique et Calcul Scientifique, ENPC/INRIA) et d'autres spécialistes en mathématiques appliquées avec lesquels j'ai pu travailler lors de l'université d'été 2004 du CEMRACS (Centre d'Été de Mathématiques et Recherche Avancées en Calcul Scientifique sur le thème des « Mathématiques et Applications en Biologie et à la Médecine »). Ce travail a abouti au développement d'un nouvel outil d'estimation des paramètres implémenté sous Matlab, qui présente l'intérêt d'une grande souplesse d'utilisation et de communication avec des bibliothèques d'algorithmes préexistants. Ce nouvel outil utilise une méthode révisée du simplexe comme algorithme d'optimisation et tire partie des spécificités de structure et de fonctionnement du modèle pour faciliter l'identification numérique de ses paramètres. En particulier, l'information disponible *a priori* sur le comportement du modèle est obtenue par le biais d'une analyse de sensibilité préalable, qui permet de décomposer le problème global et complexe d'optimisation en plusieurs sous-problèmes plus simples et plus facilement solvables par les méthodes classiques d'optimisation. Ainsi, si l'on considère les indices $1 \leq i' \leq p$ et $1 \leq k < k' \leq n$ où p est le nombre de paramètres du modèle et n le nombre de compartiments observés, le problème global d'optimisation qui consiste à faire varier les p paramètres pour ajuster les n compartiments simultanément, est remplacé dans le nouvel outil par plusieurs sous-problèmes emboîtés d'ordre inférieur, avec le problème d'ordre k qui consiste à ajuster k compartiments en faisant varier les i paramètres les plus influents sur ces k compartiments, puis le problème d'ordre k' qui consiste à ajuster k' compartiments en faisant varier les i' paramètres les plus influents sur ces k' compartiments...

La technique développée a été présentée dans trois publications : la première valide la méthode dans le cas d'un modèle précédemment développé au laboratoire et pour des données simulées (**section I.1** : article 1), la seconde introduit une généralisation de la méthode à tout modèle compartimental linéaire (**section I.2** : article 2), et la troisième présente l'application

de la méthode à l'analyse de données cliniques au sein du processus d'identifications structurelle et numérique d'un modèle compartimental du métabolisme azoté chez l'homme (**section I.3** : article 3). Ce dernier travail permet de rationaliser les différentes étapes de la modélisation compartimentale d'un tel système physiologique (obtention des données, identifications structurelle et numérique du modèle, validation), et de mettre en lumière ses contraintes et ses limites pour en dégager les pratiques de son utilisation raisonnée. Enfin, cette tentative de rationalisation des méthodes de modélisation compartimentale d'un système métabolique complexe a été reprise de manière synthétique dans un dernier article (**section I.4** : article 4), qui constitue l'acte de la présentation orale que j'ai récemment effectuée au congrès POSTA (2nd multidisciplinary international symposium on POSitive Systems: Theory and Applications, 30 août – 1^{er} sept 2006, Grenoble, France).

I/. 1 : Article 1

Development and calibration of a modeling tool for the analysis of clinical data in human nutrition.

Juillet B., Salomon J., Tomé D., & Fouillet H.

ESAIM : Proceedings, 2005, 14: 124-155.

Ce travail présente une nouvelle méthode d'estimation des paramètres d'un modèle compartimental, préalablement développé au laboratoire et décrivant le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme. Ce travail a été amorcé lors de l'université d'été 2004 du CEMRACS (Centre d'Été de Mathématiques et Recherches Avancées en Calcul Scientifique, 26/07/04-03/09/04, Marseille), sur le thème des « Mathématiques et Applications en Biologie et Médecine », en partenariat avec la SMAI (Société de Mathématiques Appliquées et Industrielles), l'INRIA (Institut National de Recherche en Informatique et en Automatique) et l'ENPC (École Nationale des Ponts et Chaussées). Lors des six semaines de ce workshop, notre projet a été attribué à un groupe de travail (projet SIDIH, Simulation of Digestion In Humans, <http://smai.emath.fr/cemracs/cemracs04/>), ce qui nous a permis d'opérer des avancées significatives en profitant des compétences de nombreux spécialistes en mathématiques appliquées comme Éric Cancès et Gabriel Turinici (CERMICS, Centre d'Enseignement et de Recherche en Mathématiques Informatique et Calcul Scientifique, ENPC/INRIA). Le travail ainsi initié a été poursuivi au laboratoire, et a abouti au développement sous Matlab d'un nouvel outil d'estimation des paramètres.

Objectifs :

Ce papier aborde le problème de l'estimation des paramètres d'un modèle à 13 compartiments et 21 voies d'échange, qui décrit l'absorption, la distribution et le métabolisme régional de l'azote alimentaire en phase postprandiale chez l'homme. Les compartiments (ou variables d'état du modèle) représentent des quantités d'azote alimentaire présentes sous différentes formes et/ou dans différents emplacements de l'organisme, et sur les 13 compartiments du modèle, seuls 6 sont suivis expérimentalement. De plus, chacune des 21 voies d'échange du modèle est caractérisée par un paramètre k_i traduisant le taux de transport et/ou transformation de l'azote alimentaire le long de cette voie. Le problème de l'estimation des paramètres consiste à trouver les valeurs combinées de ces 21 paramètres qui

permettent de reproduire de manière satisfaisante les données observées dans les 6 compartiments suivis. Une fois paramétré, le modèle permet de prédire l'évolution de ses 7 autres compartiments qui ne pouvaient pas être suivis expérimentalement pour des raisons techniques et/ou éthiques, en dépit de leur importance physiologique et nutritionnelle.

Un tel problème d'estimation numérique des paramètres, ou problème inverse, nécessite classiquement l'optimisation d'une fonction objectif mesurant la qualité de l'ajustement des prédictions du modèle aux données expérimentales : l'optimum global de la fonction objectif coïncide alors avec le jeu de paramètres qui engendre les prédictions du modèle les plus proches des données observées. Dans le cas de notre modèle, les méthodes classiques d'optimisation locale (de type gradient) se laissent facilement « piégées » dans des optima locaux de la fonction objectif, en raison du grand nombre de paramètres à estimer et du peu de données expérimentales disponibles sur le système. Comme la cohérence physiologique des prédictions du modèle pour les compartiments non suivis expérimentalement dépend fortement du jeu de paramètres sélectionné à l'issue du processus d'optimisation, il est impératif de disposer de méthodes numériques d'estimation des paramètres qui soient fiables, c'est-à-dire qui permettent de trouver l'optimum global de la fonction objectif dans l'espace de recherche à 21 dimensions des 21 paramètres du modèle. Dans cette étude, notre objectif était donc de développer une méthode d'estimation des paramètres qui apporte des garanties accrues de convergence vers l'optimum global.

Méthodes :

La méthode d'estimation des paramètres que nous avons développée repose sur une analyse de sensibilité préalable du modèle. Cette analyse de sensibilité permet d'étudier comment les variables de sortie du modèle (les tailles des compartiments suivis) réagissent à de petites perturbations de ses entrées (les valeurs de ses paramètres). Elle permet ainsi de déterminer les paramètres les plus influents du modèle, c'est-à-dire ceux qui induisent les variations les plus importantes des tailles des compartiments suivis. Cette information est ensuite utilisée pour diviser le problème inverse de grande taille en plusieurs sous-problèmes de taille réduite, plus faciles à résoudre par les algorithmes classiques de recherche locale. En outre, la méthode d'optimisation que nous avons choisie pour estimer les paramètres de ces

différents sous-problèmes est un algorithme de recherche locale de type simplexe, adapté de l'algorithme du simplexe de Nelder-Mead (Nelder & Mead, 1965). L'efficacité de cette méthode d'estimation des paramètres a d'abord été testée dans le cadre idéal de données non bruitées, simulées à l'aide d'un jeu de paramètres jugé physiologiquement plausible. La sensibilité de la méthode au bruit a ensuite été évaluée en utilisant des données simulées bruitées à différents niveaux de bruit gaussien (écart-type de 1 à 5% de la valeur « vraie » de la variable considérée). La méthode a été implémentée sous Matlab, en utilisant et adaptant les fonctions disponibles dans la bibliothèque d'algorithmes de ce logiciel.

Résultats et Discussion :

La méthode d'estimation des paramètres que nous avons développée a d'abord été validée pour des données non bruitées : il s'avère qu'elle permet de retrouver le jeu de paramètres ayant servi à simuler les données, et ce avec une précision excellente (moins de 2% d'erreur commise sur les paramètres estimés). L'ajout d'un bruit gaussien aux données non bruitées augmente légèrement l'erreur commise sur les paramètres, qui restent toutefois satisfaisants (moins de 10% d'erreur commise sur la plupart des paramètres du modèle). Dans tous les cas, les prédictions du modèle concernant les tailles des compartiments non suivis expérimentalement restent très proches de leurs vraies valeurs.

En conclusion, la méthode d'estimation des paramètres que nous avons développée est une méthode fiable pour estimer les paramètres d'un modèle compartimental complexe (grand nombre de paramètres inconnus, peu de données disponibles).

I/. 2 : Article 2

Parameter estimation for linear compartmental models – A sensitivity analysis approach.

Juillet B., Fouillet H., Gaudichon C., Bos C., & Tomé D.

Soumis pour publication à *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*.

Dans ce travail, nous présentons une nouvelle méthode d'estimation des paramètres des modèles compartimentaux linéaires, basée sur une analyse de sensibilité préalable du système. Cette méthode est une généralisation de celle développée spécifiquement pour le modèle à 13 compartiments et 21 voies d'échange lors du précédent article.

Contexte et objectifs :

En modélisation compartimentale, l'estimation des paramètres des modèles d'ordre élevé (grand nombre de compartiments et/ou de voies d'échange) est un problème mathématique difficile à résoudre, en raison essentiellement du peu de données disponibles sur le système étudié (en particulier chez l'homme), et de l'importance du bruit qui leur est généralement associé. En effet, l'estimation des paramètres d'un tel modèle nécessite l'optimisation d'une fonction objectif, c'est-à-dire la recherche du jeu de paramètres qui permettent le meilleur ajustement des données prédites aux données observées (ou optimum global). En général, les méthodes classiques d'optimisation locale échouent dans la résolution d'un tel problème, car elles sont fréquemment « piégées » dans l'un des nombreux optima locaux de la fonction objectif. Les méthodes d'optimisation globale, quant à elles, sont souvent présentées comme des alternatives aux méthodes de recherche locale, mais elles ne présentent aucune garantie de convergence vers l'optimum global et leur coût de calcul croît très rapidement avec la complexité du problème. Une autre stratégie d'optimisation, plus intuitive, consiste à procéder, avant l'estimation des paramètres, à une analyse de sensibilité qui permet de déterminer les paramètres du modèle les plus influents sur le système, c'est-à-dire ceux qui induisent les variations les plus importantes des tailles des compartiments observés. Ceci permet de se restreindre aux variations des paramètres influents lors de l'optimisation, afin de simplifier le problème de l'estimation des paramètres. Cette technique avait déjà été pressentie dans quelques travaux de la littérature (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991) sans pour autant être

formalisée ou même menée de manière explicite. Dans ce travail, notre objectif était de rationaliser cette méthode, et de la généraliser afin qu'elle soit applicable à tout modèle compartimental linéaire.

Méthodes :

Dans ce travail, nous proposons une méthode générale d'estimation des paramètres des modèles compartimentaux linéaires, qui repose sur une analyse de sensibilité préalable du modèle. Cette méthode permet de diviser le problème d'optimisation de grande taille en plusieurs sous-problèmes de taille réduite, plus faciles à résoudre par un algorithme classique de recherche locale. La méthode est d'abord présentée sous la forme d'un algorithme, puis elle est mise en œuvre dans le cas d'un modèle compartimental linéaire de grande taille précédemment développé au laboratoire pour décrire la distribution postprandiale de l'azote alimentaire chez l'homme (modèle à 13 compartiments et 21 voies d'échange). La méthode a d'abord été validée dans le contexte idéal de données simulées non bruitées, obtenues dans 6 des 13 compartiments du modèle correspondant aux pools azotés intestinaux, plasmatiques et urinaires. Sa sensibilité au bruit a ensuite été analysée en utilisant des données bruitées à différents niveaux et types de bruit. Enfin, la méthode a été confrontée à des données réelles, obtenues toutes les heures pendant 8 heures dans l'intestin, le sang et les urines de volontaires sains ayant ingéré un repas mixte contenant des protéines de soja marquées uniformément et intrinsèquement au ^{15}N .

Résultats et Discussion :

La première étape de notre méthode met en œuvre une analyse de sensibilité qui permet de déterminer l'ensemble des paramètres (E_i) ayant le plus d'influence sur chacun des compartiments suivis expérimentalement (C_i). Ces compartiments sont ensuite renumérotés de la manière suivante : le compartiment présentant le plus petit nombre de paramètres influents devient le compartiment n°1 (C_1), le compartiment présentant le deuxième plus petit nombre de paramètres influents devient le compartiment n°2 (C_2), et ainsi de suite jusqu'au dernier compartiment, qui présente le plus grand nombre de paramètres influents. Ce sont les paramètres E_1 associés au compartiment C_1 qui sont estimés en premier, et ce en cherchant l'optimum sur l'ensemble E_1 d'une restriction (ϕ_1) au compartiment C_1 de la fonction objectif (ϕ). Cette première étape du processus d'estimation n'assure pas de trouver le jeu E_1 de

paramètres optimal sur le problème d'optimisation global, mais permet de restreindre de manière conséquente l'intervalle (I_1) de recherche sur ces paramètres. La deuxième étape du processus consiste à choisir le compartiment C_2 qui a le plus petit nombre de paramètres influents E_2 , parmi les compartiments qui présentent le plus grand nombre de paramètres influents en commun avec le compartiment C_1 , puis à estimer les paramètres de l'ensemble $E_1 \cup E_2$, en cherchant l'optimum sur cet ensemble d'une restriction $(\phi_1 + \phi_2)$ aux compartiments C_1 et C_2 de la fonction objectif (ϕ) . De la même manière que précédemment, cette deuxième étape du processus d'estimation des paramètres permet de restreindre de manière conséquente l'intervalle de recherche $I_1 \times I_2$. L'algorithme se poursuit selon ces mêmes règles jusqu'à l'optimisation de la fonction objectif globale (ϕ) sur l'ensemble des paramètres influents du modèle. Le jeu de paramètres ainsi estimé sert ensuite de point de départ (déjà proche des valeurs optimales de paramètres) à l'optimisation de la fonction objectif du problème global sur l'ensemble des paramètres du modèle (influent et non influent).

Dans le cas de notre modèle compartimental, la méthode d'optimisation proposée s'avère très efficace dans le cadre de données simulées non bruitées. En effet, les paramètres estimés sont très proches de ceux qui ont servi à simuler les données (erreur relative inférieure à 1,5%), avec des coefficients de variation (CV) très satisfaisants (inférieurs à 5%). Dans le cas des données simulées bruitées, les résultats sont aussi très satisfaisants (erreurs relatives à l'optimum de l'ordre de 10% et CV inférieurs à 30% quel que soit le type de bruit utilisé). Dans le cas des données cliniques « réelles », l'étude de l'identifiabilité numérique *a posteriori* du modèle et sa validation externe permettent de s'assurer que les paramètres ont été estimés avec une précision suffisante, qu'ils sont à l'origine de prédictions du modèle proches des données observées expérimentalement et que les prédictions du modèle concernant la partie non observée du système sont cohérentes avec les données disponibles dans la littérature sur le système physiologique.

En conclusion, ce travail présente une méthode fiable d'estimation des paramètres, basée sur une analyse de sensibilité préalable du modèle et généralisable à tout modèle compartimental linéaire.

I/. 3 : Article 3

Conceptual, methodological and computational issues concerning the compartmental modeling of a complex biological system: postprandial inter-organ metabolism of dietary nitrogen in humans.

Juillet B., Saccomani M.P., Bos C., Gaudichon C., Tomé D., & Fouillet H.

***Mathematical Biosciences*, 2006 : sous presse (disponible en ligne depuis le 20 mai 2006).**

Ce travail présente comment s'articulent et s'opèrent les différentes étapes du développement d'un modèle compartimental, depuis l'obtention de données sur le système étudié jusqu'à l'identification (structurelle et numérique) puis la validation (interne et externe) du modèle qui permet de rendre compte au mieux des données disponibles. Ces différentes étapes sont présentées au travers d'un cas d'étude qui nous intéresse particulièrement : celui de la distribution postprandiale de l'azote alimentaire après l'ingestion d'un repas protéique mixte chez l'homme.

Contexte et objectifs :

En modélisation compartimentale, la plupart des études n'abordent que partiellement les différentes étapes du développement d'un modèle. Dans certaines études par exemple, le problème du choix de la structure est totalement négligé ou passé sous silence, le modèle étant alors livré avec peu ou pas de justification et sans avoir été mis en concurrence avec des structures alternatives. Dans d'autres études, c'est l'analyse de l'identifiabilité numérique du modèle qui est incomplète, cette étape étant pourtant nécessaire à la validation *a posteriori* des prédictions du modèle. Dans ce travail, nous avons cherché à rationaliser l'articulation et la mise en oeuvre des différentes étapes de la modélisation compartimentale d'un système métabolique complexe, à savoir l'obtention de données expérimentales sur le système étudié, l'identification et l'identifiabilité structurelle du modèle, l'identification et l'identifiabilité numérique de ses paramètres, la validation interne et externe du modèle... Nous avons entrepris de dégager les difficultés majeures susceptibles d'être rencontrées à chacune de ces étapes, en proposant les outils disponibles pour y faire face et en détaillant les perspectives d'amélioration de ces techniques qu'il est possible d'envisager.

Méthodes :

Nous avons mené ce propos didactique général concernant les différentes étapes de la modélisation compartimentale en nous appuyant sur un exemple concret, qui est le développement d'un modèle du métabolisme de l'azote alimentaire en phase postprandiale non stationnaire chez l'homme. Pour ce faire, nous avons utilisé des données concernant les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans différents pools azotés de l'organisme (intestin, sang, urine) (Morens *et al.*, 2003), précédemment obtenues au laboratoire chez des volontaires sains pendant les 8 heures suivant l'ingestion d'un repas mixte contenant des protéines de soja (intrinsèquement et uniformément marquées au ^{15}N), après 7 jours d'adaptation à un régime normoprotéique ($1\text{g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ de protéines). Dans cette étude, ces données cinétiques de traceur ont fait l'objet d'une analyse compartimentale rigoureuse. Différents modèles candidats d'ordre croissant (i.e., constitués d'un nombre croissant de compartiments et/ou de paramètres) ont été postulés, chacun reposant sur des bases physiologiques fortes. L'identifiabilité théorique *a priori* de chacun de ces modèles a été testée, afin de s'assurer que leurs paramètres présentaient bien une solution (théorique) unique dans le contexte idéal de données continues et non bruitées, et d'un modèle sans erreur de structure. Pour certains modèles complexes, l'analyse de l'identifiabilité théorique a nécessité le recours à des outils sophistiqués d'algèbre différentielle. Le modèle retenu a été le modèle le plus simple capable de rendre compte de manière adéquate des données expérimentales dans les compartiments suivis (principe de parcimonie). Pour ce faire, l'étape d'estimation des paramètres a ensuite été menée pour chacun des modèles candidats identifiables, en utilisant la méthode présentée dans l'article 2. Enfin, le modèle sélectionné a été validé, d'abord en testant son identifiabilité numérique (qualité des ajustements, analyse des résidus, précision des paramètres estimés), ensuite en s'assurant de la cohérence physiologique de ses prédictions par rapport aux connaissances et aux données disponibles dans la littérature sur le système étudié.

Résultats et Discussion :

Ce processus a abouti à l'élaboration d'un modèle à 13 compartiments et 21 voies d'échange. L'étude de l'identifiabilité théorique *a priori* du modèle a révélé qu'il était uniquement identifiable sous deux conditions d'égalité entre paramètres (égalité

entre les taux de transit intestinal proximal et distal de l'azote alimentaire, et égalité entre les taux de réabsorption proximale et distale par sécrétion endogène de produits contenant de l'azote alimentaire). L'analyse de l'identifiabilité numérique *a posteriori* du modèle (qualité et fiabilité des prédictions et des paramètres estimés) indique que les paramètres ont été estimés de manière satisfaisante. Enfin, les prédictions du modèle concernant la partie non observée du système ont été jugées cohérentes avec les données de la littérature, et utiles puisqu'elles permettent de simuler des processus sur lesquels on ne dispose pas de données.

En conclusion, ce travail, au travers de l'étude d'un système nutritionnel particulier, propose une démarche rigoureuse et des méthodes fiables permettant de procéder à une analyse compartimentale objective de données expérimentales de traceur sur un système nutritionnel complexe.

I/. 4 : Article 4

Multicompartmental modeling of a complex physiological system: special emphasis on the steps of *a priori* identifiability and parameter estimation.

Juillet B., Saccomani M.P., Gaudichon C., Bos C., Tomé D., & Fouillet H.

***Lecture Notes in Control and Information Sciences*, 2006, 341: 121-128.**

Ce travail présente rapidement les principales difficultés théoriques et numériques rencontrées lors de l'élaboration d'un modèle compartimental d'ordre élevé, décrivant un système physiologique complexe, celui du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme. Il constitue l'acte de la présentation orale effectuée au congrès POSTA (2nd multidisciplinary international symposium on POSitive Systems: Theory and Applications, 30 août – 1^{er} sept 2006, Grenoble, France).

Ce court article met l'accent sur les deux étapes limitantes du processus de développement d'un tel modèle, i.e., l'étude de son identifiabilité théorique *a priori* et l'estimation numérique de ses paramètres. Il présente également un état des lieux rapide des méthodes les plus récentes proposées dans la littérature pour mener à bien ces deux étapes. Il indique notamment que, dans le cas d'un modèle complexe (13 compartiments et 21 paramètres) du métabolisme azoté chez l'homme, le problème d'identifiabilité théorique *a priori* ne peut être résolu par les outils logiciel classiquement utilisés en modélisation compartimentale (GLOBI2), et nécessite le recours à des outils plus sophistiqués d'algèbre différentielle, récemment développés par Maria Pia Saccomani (équipe de Claudio Cobelli, Université de Padoue, Italie). De même, l'estimation numérique des paramètres d'un tel modèle complexe reste un problème mathématique difficile à résoudre. En effet, les méthodes d'optimisation locale (de type gradient ou simplexe) échouent le plus souvent car elles se trouvent « piégées » dans des optima locaux de la fonction objectif. Par ailleurs, l'efficacité des méthodes d'optimisation globale dépend du bon paramétrage d'un certain nombre d'opérateurs (e.g., taux de mutation ou de crossover dans les algorithmes génétiques), ce qui fait que ces méthodes ne sont pas simples d'utilisation pour l'utilisateur non averti. Dans ce contexte, la méthode que nous avons présentée dans les articles 1 et 2, basée sur une analyse de sensibilité préalable du modèle, est une alternative possible aux méthodes classiques d'optimisation locale ou globale. Elle permet en effet d'estimer les paramètres du modèle du métabolisme azoté à 13 compartiments et 21 voies d'échange avec une précision jugée satisfaisante.

PARTIE II :

APPLICATION DES OUTILS DE MODÉLISATION DÉVELOPPÉS À L'ÉTUDE DU MÉTABOLISME POSTPRANDIAL DES PROTÉINES ALIMENTAIRES CHEZ L'HOMME

Les travaux qui viennent d'être présentés dans la partie précédente avaient essentiellement pour but d'améliorer les outils de modélisation compartimentaux existants au laboratoire. Aussi, lors de ces développements mathématiques, nous ne nous intéressons pas aux implications physiologiques de nos résultats de modélisation, et nous nous étions placés volontairement dans le cadre de données simulées ou bien de données expérimentales déjà obtenues au laboratoire (Morens *et al.*, 2003). Dans un deuxième temps, nous avons utilisé ces avancées méthodologiques afin d'approfondir nos connaissances concernant les processus métaboliques contrôlant le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire, ainsi que leurs facteurs de modulation. Pour cela, nous avons tout d'abord procédé à l'obtention de nouvelles données expérimentales. Dans un premier temps, nous avons entrepris un nouveau protocole expérimental afin d'obtenir des données concernant le devenir métabolique des protéines de blé en phase postprandiale chez l'homme (**section II.1** : principes généraux des protocoles de recueil de données expérimentales chez l'homme). Cette étude a fourni les premières valeurs concernant la digestibilité iléale vraie et la rétention postprandiale de l'azote des protéines de blé, qui constituent des indices de leur utilisation métabolique et de leur qualité nutritionnelle (**section II.2** : article 5). Ces données ont fait l'objet d'une première analyse compartimentale (en utilisant les outils disponibles au laboratoire avant nos nouveaux développements), qui a permis de localiser les phénomènes impliqués dans la moindre qualité nutritionnelle des protéines de blé par rapport aux protéines animale et végétale de référence (**section II.3** : travaux non publiés complémentaires de l'article 5). Puis, le protocole expérimental de suivi du métabolisme postprandial des protéines de blé a été répété chez l'homme, mais cette fois après l'adaptation préalable des sujets à des régimes normo- ou hyper-protéiques, afin d'étudier les effets d'une élévation du niveau habituel d'apport protéique, comme celle constatée dans nos pays industrialisés (Food and Nutrition Board, 2005), sur la distribution postprandial et l'utilisation métabolique régionale des protéines de blé. Dans ce travail, les aspects expérimentaux et modélistiques ont été abordés de concert, et les nouveaux outils que nous avons développés ont été utilisés (**section II.4** : article 6). En parallèle, d'autres données concernant le devenir métabolique postprandial de l'azote des protéines de lait et de soja,

précédemment obtenues au laboratoire chez des sujets adaptés à un régime normo- puis hyper-protéique (Morens *et al.*, 2003), ont également été analysées par modélisation compartimentale, en utilisant les outils disponibles au laboratoire avant nos nouveaux développements (**section II.5** : article 7). Ces travaux ont permis d'expliquer les effets croisés du niveau habituel d'apport protéique (normoprotéique *vs.* hyperprotéique) et de la nature des protéines alimentaires (lait *vs.* soja *vs.* blé) sur le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire. Enfin, une dernière étude (**section II.6** : article 8) s'est intéressée plus particulièrement aux cinétiques de l'urée, et notamment à son recyclage entéro-hépatique, sous différentes conditions nutritionnelles à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme. Cette étude a permis de montrer qu'à partir de quelques prélèvements sanguins et urinaires réalisés sur une période de temps donnée après l'ingestion d'un repas contenant des protéines marquées au ^{15}N , il est possible de déterminer les flux instantanés et les quantités totales d'urée d'origines alimentaire et endogène qui a été produite, excrétée et hydrolysée sur la période de temps considérée. Cette étude a été menée en utilisant un modèle à compartiments assez simple (4 compartiments, 4 paramètres) pour procéder à l'analyse de différentes données expérimentales précédemment obtenues au laboratoire (dont celles présentées dans l'article 6). Cette étude a permis de déterminer l'influence de la nature de la source protéique dans le repas et du niveau d'apport protéique dans le régime sur les cinétiques postprandiales et le recyclage entéro-hépatique de l'urée chez l'homme.

II / 1 : PRINCIPE GÉNÉRAUX DES PROTOCOLES DE RECUEIL DE DONNÉES EXPÉRIMENTALES CHEZ L'HOMME

Dans les travaux présentés ci-après (articles 5 à 8), des données expérimentales ont été obtenues chez des sujets sains, selon un protocole qui consistait à suivre la distribution postprandiale de l'azote alimentaire dans certains pools métaboliques de l'organisme pendant les 8 heures suivant l'ingestion sous forme de bolus d'un repas contenant des protéines marquées intrinsèquement et uniformément au ^{15}N . Dans ces 4 études, des prises de sang et des recueils urinaires réguliers ont permis de déterminer les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans les protéines plasmatiques, l'urée corporelle et l'urée urinaire. Dans les trois premières études (articles 5 à 7), l'apparition de l'azote alimentaire dans les AA libres plasmatiques et l'ammoniaque urinaire a également été mesurée. Enfin, dans la première étude (article 5), des échantillons intestinaux ont également été prélevés grâce à la mise en place préalable de sondes intestinales, afin de déterminer les cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans la zone de l'intestin (duodénum ou iléon) où la sonde se trouvait positionnée. L'objet de cette partie est de décrire les différentes étapes du protocole expérimental utilisé dans les trois études ci-après, ainsi que les méthodes et les techniques analytiques mises en œuvre.

Technique de perfusion intestinale

La technique mise en œuvre dans la première étude (article 5) pour effectuer les prélèvements intestinaux repose sur l'utilisation de sondes intestinales et la perfusion d'un marqueur non absorbable (Modigliani *et al.*, 1973). Ces sondes sont constituées de trois tubulures en PVC (**Figure 50**). La première comporte un orifice-point de perfusion radio-opaque, la deuxième présente des orifices-points de recueil situés 20 cm en aval et la troisième est munie d'un ballonnet gonflable servant de lest. La sonde, introduite par le nez, migre d'elle-même le long du tube digestif. Du rouge de phénol (PSP) est perfusé à débit connu par la première tubulure. Les effluents intestinaux sont aspirés en continu par la seconde tubulure et collectés toutes les 30 minutes pendant 6 heures (si la sonde n'a pas atteint l'iléon terminal) ou 8 heures (si la sonde a migré jusqu'à l'iléon terminal).

Recueils des échantillons intestinaux, sanguins et urinaires

Le protocole expérimental de l'exploration fonctionnelle mise en place dans la première étude (article 5) est présenté **Figure 51**. Les volontaires sont intubés avec une sonde intestinale 24 heures avant le début du protocole, afin que l'extrémité de la sonde ait le temps de migrer jusqu'à l'iléon terminal. Après une nuit de jeûne, une radiographie permet de s'assurer de son bon positionnement. Une fois la position de la sonde déterminée, les volontaires reçoivent une perfusion constante d'une solution de PSP. L'aspiration du liquide intestinal commence simultanément. Dès que le PSP apparaît dans le liquide aspiré, un premier recueil d'effluents a lieu pendant 30 minutes afin d'obtenir un échantillon basal. Ensuite, les volontaires ingèrent le repas expérimental. Leur masse d'eau corporelle est mesurée par impédancemétrie. Des échantillons sanguins sont prélevés toutes les 30 minutes pendant 3 heures puis toutes les heures pendant 5 heures. Le sang est aussitôt centrifugé pendant 15 minutes à 2000 g. Le plasma et le sérum sont conservés à -20°C . Les urines sont recueillies toutes les 2 heures pendant 8 heures. Elles sont pesées et conservées à 4°C . Des tubes de 5 mL sont aliquotés et conservés à -20°C . Les effluents intestinaux sont collectés toutes les 30 minutes pendant 8 heures. Leur volume et leur pH sont mesurés après homogénéisation. Les échantillons sont ensuite congelés puis lyophilisés. Les protocoles expérimentaux utilisés dans les trois études suivantes (articles 6 à 8) sont similaires, excepté qu'ils n'ont pas nécessité la mise en place de sondes intestinales.

Techniques analytiques

➤ Préparation des échantillons iléaux, plasmatiques et urinaires

Les concentrations de PSP dans les échantillons duodénaux ou iléaux sont déterminées par spectrophotométrie selon la méthode de Sheld *et al* (Sheld, 1966). L'urée urinaire, l'urée plasmatique et l'ammoniaque urinaire sont extraits des échantillons sur résine échangeuse d'ions selon la méthode décrite par Read *et al.* (Read *et al.*, 1982) et adaptée par Preston et McMillan (Preston & McMillan, 1988). Les concentrations en urée et/ou en ammoniaque des échantillons urinaires et plasmatiques sont déterminées au laboratoire de Biochimie de l'Hôpital Avicenne par dosage enzymatique sur des automates Dimension et Progress. Les AA et les protéines plasmatiques sont séparés par ajout d'acide 5-sulfosalicylique et par centrifugation.

➤ Analyse élémentaire et isotopique

La teneur en azote des échantillons iléaux, urinaires et plasmatiques est déterminée grâce à un analyseur élémentaire. Leur enrichissement isotopique (Atom%Excess, APE) est mesuré grâce à un spectromètre de masse à ratio isotopique couplé à l'analyseur élémentaire :

$$\text{APE} = E_i - E_0,$$

où E_i représente l'enrichissement de l'échantillon i en ^{15}N et E_0 l'enrichissement basal.

➤ Calculs des flux et des quantités d'azote alimentaire

La concentration de PSP dans les échantillons iléaux permet de calculer le débit iléal D_i sur une période de temps i (mL/30 min) :

$$D_i = D_p \times \frac{[\text{PSP}]_p}{[\text{PSP}]_i} - D_p,$$

où D_p représente le débit de perfusion du PSP dans l'iléon (1 mL/min), et $[\text{PSP}]_p$ et $[\text{PSP}]_i$ les concentrations de PSP dans le liquide de perfusion et dans l'échantillon i .

La quantité d'azote alimentaire (mmol/30 min) retrouvée dans l'échantillon iléal i est égale à :

$$N_i = \%N_i \times \frac{\%MS_i}{14} \times D_i \times \frac{E_i - E_0}{E_r - E_0},$$

où $\%N_i$ représente le pourcentage d'azote dans l'échantillon i (g/100 g), $\%MS_i$ le pourcentage de matière sèche (g/L), 14 la masse atomique molaire de l'azote, D_i le débit liquidien iléal (mL/30 min), E_i l'enrichissement en ^{15}N de l'échantillon i , E_0 l'enrichissement basal et E_r l'enrichissement du repas.

La quantité d'azote alimentaire (mmol) éliminée dans l'urée urinaire dans l'échantillon i est calculée de la manière suivante :

$$N_i = 2 \times [\text{urée}]_i \times V_i \times \frac{E_i - E_0}{E_r - E_0},$$

où V_i représente le volume d'urine excrété pendant la période i (L) et $[\text{urée}]_i$ la concentration en urée de l'échantillon i (mmol/L).

La quantité d'azote alimentaire (mmol) perdue dans l'ammoniaque urinaire dans l'échantillon i est calculée de la manière suivante :

$$N_i = [\text{NH}_3]_i \times V_i \times \frac{E_i - E_0}{E_r - E_0},$$

où $[\text{NH}_3]_i$ la concentration en ammoniacque de l'échantillon i (mmol/L).

Les quantités d'azote alimentaire (mmol) retrouvées dans l'urée corporelle sont obtenues en extrapolant les données d'urée plasmatique, étant donné la diffusion de l'urée dans tous les compartiments liquidiens de l'organisme :

$$N_i = [\text{urée plasma}]_i \times \frac{E_i - E_0}{E_r - E_0} \times \frac{\text{ECT}}{0,92}$$

où $[\text{urée plasma}]_i$ représente la concentration en urée plasmatique de l'échantillon i (mmol/L), ECT le volume d'eau corporelle totale (L) du sujet et 0,92 la teneur en eau du plasma.

➤ Calculs de la digestibilité, de l'UPPN et de la VB des protéines du repas

La digestibilité à 8 heures des protéines du repas vaut :

$$\text{Dig} (\%) = 100 \times \frac{N_{\text{repas}} - N_{\text{iléon}}}{N_{\text{repas}}},$$

où N_{repas} (mmol) représente la quantité d'azote ingérée et $N_{\text{iléon}}$ la quantité totale d'azote alimentaire retrouvée dans l'iléon pendant les 8 heures qui suivent l'ingestion du repas.

L'utilisation postprandiale protéique nette (UPPN) des protéines du repas s'écrit :

$$\text{UPPN} (\%) = 100 \times \frac{N_{\text{repas}} - N_{\text{iléon}} - N_{\text{urines}} - N_{\text{urée corporelle}}}{N_{\text{repas}}},$$

où N_{urines} représente la quantité totale d'azote alimentaire éliminée dans les urines au bout des 8 heures et $N_{\text{urée corporelle}}$ la quantité d'azote alimentaire retrouvée dans l'urée corporelle à 8 heures.

La valeur biologique (VB) des protéines du repas vaut :

$$\text{VB} (\%) = \frac{\text{Dig} \times \text{UPPN}}{100}.$$

II / 2 : Article 5

Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans.

Bos C., Juillet B., Fouillet H., Turlan L., Daré S., Luengo C., N'tounda R., Benamouzig R., Gausserès N., Tomé D. & Gaudichon C.

***American Journal of Clinical Nutrition*, 2005, 81: 87-94.**

Dans ce travail, l'objectif était de déterminer chez l'homme la valeur nutritionnelle des protéines de blé, à partir de la mesure de leur digestibilité iléale vraie et de leur rétention postprandiale.

Contexte et objectifs :

Les céréales, et en particulier le blé, sont des sources protéiques importantes dans l'alimentation humaine, essentiellement dans les pays en voie de développement, mais également dans les pays développés (Volatier, 2000). Toutefois, malgré l'importance quantitative des protéines de blé dans le régime, leur qualité nutritionnelle n'a encore été que peu étudiée chez l'homme. Depuis 1991, la méthode de référence recommandée par la FAO/WHO pour évaluer la qualité de l'apport protéique est celle du PD-CAAS (Protein Digestibility – Corrected Amino Acid Score), qui compare la composition en AA indispensables de la protéine étudiée à celle d'une protéine de référence. Avec un PD-CAAS faible de 40% due à leur faible teneur en lysine, les protéines de blé sont considérées comme étant de mauvaise qualité nutritionnelle. Cependant, la capacité du PD-CAAS à juger de la valeur nutritionnelle des protéines alimentaires est aujourd'hui remise en cause. Dans ce contexte, il est essentiel de déterminer *in vivo* la digestibilité iléale « vraie » et la rétention postprandiale des protéines de blé, qui constituent des indices plus fiables que le PD-CAAS de leur qualité nutritionnelle.

Méthodes :

Pour ce faire, nous avons obtenu des données expérimentales chez des volontaires sains intubés avec une sonde intestinale 24 heures avant le début de l'exploration fonctionnelle. Après une nuit de jeûne, les sujets ont reçu un repas mixte constitué de 136g de biscottes contenant 24,6g de protéines de blé marquées uniformément et intrinsèquement au ¹⁵N. Les effluents intestinaux ont été collectés toutes les 30 minutes pendant 6h (sonde positionnée dans le duodénum, n=5) ou 8h (sonde

positionnée dans l'iléon terminal, n=9). Des échantillons sanguins ont été prélevés toutes les 30 minutes pendant 3 heures, puis toutes les heures pendant 3 ou 5 heures. Les urines ont été recueillies toutes les 2 heures pendant 6 ou 8 heures. Ensuite, les échantillons ont été traités afin de mesurer les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans les effluents duodénaux ou iléaux, les AA et protéines plasmatiques, l'urée corporelle, et l'urée et l'ammoniaque urinaires. Enfin, ces mesures nous ont permis de calculer la digestibilité, l'utilisation postprandiale protéique nette (UPPN) et la valeur biologique (VB) des protéines de blé chez l'homme.

Résultats et Discussion :

La digestibilité iléale vraie des protéines de blé s'élève à $90,3 \pm 4,3\%$, ce qui est proche de celle de la plupart des protéines végétales déjà étudiées chez l'homme (Gausseres *et al.*, 1997 ; Mariotti *et al.*, 2000b ; Mariotti *et al.*, 2001 ; Mariotti *et al.*, 2002). La quantité totale d'azote alimentaire transférée dans les pools de désamination (urée corporelle, urée et ammoniaque urinaires) atteint un plateau qui culmine à $24,7 \pm 6,8\%$ de l'azote ingéré à 8h. L'incorporation de l'azote alimentaire dans les protéines sériques atteint $7,0 \pm 1,9\%$ de l'azote ingéré. Enfin, la rétention postprandiale des protéines de blé (calculée comme la proportion d'azote alimentaire retenue dans l'organisme, i.e., qui n'a pas été éliminée dans les pertes iléales ou de désamination) s'élève à $66,1 \pm 5,8\%$ de l'azote ingéré à la fin des 8h postprandiales, ce qui indique que les protéines de blé présentent une rétention postprandiale plus faible que les protéines animale (lait) et végétale (soja) de référence (Morens *et al.*, 2003). Toutefois, ces résultats montrent également que la rétention postprandiale des protéines de blé est plus élevée que prévue par le calcul d'indices de la qualité protéique, basés sur la composition en AA indispensables de la protéine considérée, d'où l'hypothèse que l'organisme serait capable de gérer une déficience alimentaire aiguë en lysine.

En conclusion, ce travail montre que, *in vivo* et dans des conditions physiologiques d'apport, la rétention postprandiale des protéines de blé s'élève à 89% de celle des protéines de lait, alors que le PD-CAAS plaçait la valeur nutritionnelle des protéines de blé à 30-40% de celle des protéines de lait.

II / 3 : Étude de la valeur nutritionnelle des protéines de blé chez l'homme : **Exploitation des données cliniques par modélisation compartimentale**

Les données expérimentales de l'article 5 (Bos *et al.*, 2005) ont été utilisées dans le but de développer un modèle compartimental capable de décrire la distribution postprandiale et l'orientation métabolique régionale des protéines de blé après leur ingestion sous forme d'un bolus solide chez l'homme. Comme décrit dans la partie précédente, ces données ont été obtenues chez des sujets sains ayant ingéré sous forme de bolus solide 24,6 g de protéines de blé intrinsèquement et uniformément marquées au ¹⁵N (Bos *et al.*, 2005), et le protocole expérimental a consisté à suivre la distribution postprandiale de l'azote alimentaire dans différents pools métaboliques pendant les 8 heures suivant le repas, en prélevant des échantillons iléaux à l'aide de sondes intestinales, et en effectuant des prises de sang et des recueils urinaires réguliers (voir section 1). Nous avons ainsi pu déterminer les cinétiques d'apparition de l'azote du repas dans les effluents iléaux, les AA plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires pendant les 8 heures postprandiales.

Mise en forme des données pour leur analyse compartimentale

Si le compartiment des effluents iléaux a été suivi toutes les demi-heures, les compartiments des protéines, des AA et de l'urée plasmatiques ont été suivis toutes les heures, tandis que les compartiments de l'urée et de l'ammoniaque urinaires ont été suivis toutes les deux heures. Dans un souci d'unification, le pas de temps que nous avons choisi pour procéder à l'analyse compartimentale des données a été fixé à une heure. Ce choix a nécessité l'interpolation des données urinaires, qui ont été localement lissées par des polynômes de degré 2 permettant de rendre compte des cinétiques globales des courbes de manière plus satisfaisante que de simples interpolations linéaires. Les données iléales ont été cumulées de manière à considérer la quantité totale d'azote alimentaire accumulée dans les effluents iléaux aux différents temps considéré. Les données urinaires ont été cumulées de la même façon. Enfin, toutes nos données ont été converties en ‰ de l'azote ingéré :

$$N_i = N_i \times 1000 / N_{\text{ing}},$$

où N_i représente la quantité d'azote alimentaire (mmol) retrouvée dans l'échantillon i et N_{ing} (298 mmol) la quantité d'azote ingérée par les sujets (Bos *et al.*, 2005).

Développement du modèle compartimental permettant de rendre compte au mieux des données

Pour procéder à l'analyse de ces données, nous sommes partis d'un modèle compartimental linéaire (Figure 39B) récemment développé au laboratoire à partir de données expérimentales obtenues selon un protocole similaire, mais après l'ingestion d'un repas mixte liquide contenant des protéines de soja (Fouillet *et al.*, 2003) :

$$\forall t \geq 0, \quad \frac{dy(t, \theta)}{dt} = A(\theta) \times y(t, \theta),$$

$$y(0, \theta) = (1000, 0, \dots, 0),$$

où y est le vecteur des variables d'état, en l'occurrence $y = (G, IL1, IL2, E, SA, PL, PA, SCP, SEP, PP, BU, UU, UA)$, θ est le vecteur des paramètres du modèle, $y(0, \theta)$ est la condition initiale du système (tous les compartiments sont vides sauf le compartiment G qui est supposé contenir la totalité de l'azote alimentaire ingéré à l'instant 0), et A est la matrice des coefficients de transfert du modèle. Enfin, le délai τ d'apparition dans le sang des protéines splanchniques synthétisées dans le foie est modélisé de la manière suivante :

$$\forall t \geq \tau, \quad SEPD(t) = SEP(t - \tau),$$

$$\forall t \in [0, \tau], \quad SEPD(t) = 0,$$

où SEP représente la quantité d'azote alimentaire incorporée dans les protéines splanchniques synthétisées dans le foie et SEPD la quantité d'azote alimentaire présente dans ces protéines après leur exportation dans la circulation sanguine.

Notre repas expérimental étant solide, les cinétiques de digestion et d'absorption intestinales étaient différentes de celles précédemment modélisées (Fouillet *et al.*, 2003). En particulier, l'évacuation gastrique de l'azote du repas solide étant considérablement ralentie par rapport à celle du repas liquide (Fouillet *et al.*, 2003), elle ne pouvait être décrite par une loi de transfert traduisant une simple décroissance exponentielle du contenu stomacal en azote alimentaire (Bernier *et al.*, 1988). Nous avons donc cherché à complexifier cette loi de vidange gastrique afin qu'elle rende compte de manière satisfaisante de l'arrivée retardée de l'azote alimentaire dans le duodénum. Le nouveau modèle que nous proposons est un modèle explicatif intégrant quelques concepts physiologiques simples (**Figure 52**). Il repose sur les hypothèses suivantes (Bernier *et al.*, 1988) :

- la quantité de solides broyés $SB(t)$ par l'antre pendant un court intervalle de temps dt entre les temps t et $t + dt$ est proportionnelle à la quantité de solides non broyés $S(t)$ présents dans l'estomac à l'instant t :

$$SB(t) dt = -B(t) \times S(t),$$

où $B(t)$ représente le coefficient de broyage antral des solides au temps t ,

- le débit pylorique des solides ne concerne que les solides broyés,
- les solides broyés sont évacués de l'estomac selon la même loi de vidange gastrique que la phase liquide dans laquelle ils sont dispersés uniformément :

$$DPs(t) = k \times SC(t),$$

où $DPs(t)$ représente le débit pylorique des solides broyés au temps t , k le coefficient de vidange gastrique des liquides (i.e., la fraction des liquides transférés dans l'intestin par unité de temps) et $SC(t)$ la quantité de solides broyés présents dans l'estomac au temps t :

$$SC(t) = \int_t [SB(u) - DPs(u)] du .$$

Ces hypothèses aboutissent à une nouvelle formulation mathématique de la vidange gastrique. Si l'évacuation gastrique de l'azote alimentaire était représentée dans le modèle initial par l'EDO du premier ordre suivante :

$$\frac{dG}{dt} = -k \times G, \quad (1)$$

elle est désormais représentée par l'EDO linéaire du second ordre suivante :

$$\frac{d^2G}{dt^2} = -(B + k) \times \frac{dG}{dt} - k \times B \times G, \quad (2)$$

où G représente le contenu stomacal en azote alimentaire, B le coefficient de broyage antral des solides et k le coefficient de vidange gastrique des liquides (on retrouve l'équation (1) lorsque le coefficient de broyage antral des solides B est nul, i.e., en l'absence de solides dans le repas).

Ce modèle a été validé en utilisant les données du contenu stomacal en azote alimentaire d'un sujet dont la sonde n'avait pas migré jusqu'à l'iléon terminal, mais était restée en sortie d'estomac (**Figure 53**). Le temps de demi-vidange gastrique pour ce sujet est de l'ordre de 140 minutes.

En outre, à partir de la structure du modèle initial, nous avons proposé différentes structures candidates d'ordre croissant (**Figure 54**), toutes ayant une signification physiologique forte,

dans le but de déterminer la structure minimale qui permette de rendre correctement compte des données expérimentales (principe de parcimonie). Nous avons ainsi testé la capacité de différentes structures à ajuster nos données, pour finalement sélectionner la structure la plus simple *vs.* des structures plus complexes n'améliorant pas significativement la qualité des ajustements. Ces différents modèles différaient du modèle initial au niveau des sous-systèmes gastro-intestinal et de désamination, considérés comme les plus susceptibles d'être affectés par la nature solide du repas et la nature de la source protéique étudiée. En particulier, sachant que les protéines de blé sont davantage désaminées que les protéines de soja, nous avons proposé une voie supplémentaire de transfert de l'azote alimentaire du compartiment des AA libres périphériques vers celui de l'ammoniaque urinaire (modèle 2, Figure 54), ainsi qu'une voie supplémentaire de recyclage entéro-hépatique de l'urée (modèles 3 et 4, Figure 54), ces voies d'échange d'azote alimentaire ayant pu être négligées jusqu'à présent (Fouillet *et al.*, 2000). En ce qui concerne la nouvelle voie de transfert correspondant au recyclage entéro-hépatique de l'urée, deux principales modifications ont été envisagées. La première a consisté à ajouter une voie de retour de l'azote alimentaire du compartiment de l'urée corporelle vers celui des AA libres splanchniques (modèle 3, Figure 54), agrégeant la diffusion passive de l'urée vers l'intestin, la formation *in situ* d'ammoniaque par les bactéries intestinales et la réincorporation consécutive d'azote alimentaire dans les AA splanchniques. La seconde modification envisagée a consisté à dissocier le compartiment d'urée corporelle en deux compartiments représentant respectivement l'urée corporelle non intestinale, et l'urée corporelle ayant diffusé dans l'intestin et ayant été soumise aux uréases bactériennes (modèle 4, Figure 54). Pour chacune de ces structures, la structure correspondante présentant un unique compartiment intestinal au lieu de deux (IL *vs.* IL1 & IL2, modèles 2bis, 3bis et 4bis, Figure 54) a été testée.

Ces différentes structures ont été discriminées sur la base des critères objectifs d'Akaike et de Schwarz, et de tests statistiques comme le quotient de vraisemblance. Le modèle finalement retenu est représentée **Figure 55**. Au niveau du sous-système désamination, il présente deux voies d'échange supplémentaires par rapport au modèle initial : une voie de retour de l'azote alimentaire du compartiment de l'urée corporelle vers celui des AA libres splanchniques et une voie de transfert de l'azote alimentaire des AA libres périphériques vers l'ammoniaque urinaire. L'analyse de l'identifiabilité théorique *a priori* de ce modèle complexe dépasse les capacités de calcul du logiciel GLOBI2, qui a été développé pour des modèles intégrant moins de 12 compartiments. L'identifiabilité théorique du modèle a donc été testée en utilisant un algorithme récemment développé par l'équipe de Cobelli, et basé sur des techniques d'algèbre

différentielle (Audoly *et al.*, 2001). Cet algorithme a pu démontrer que les paramètres du modèle sont uniquement identifiables sous les deux conditions d'égalité (1) des paramètres de transit intestinal proximal et distal de l'azote alimentaire (i.e., $k_{3,2} = k_{4,3}$) et (2) des paramètres de re-sécrétion d'azote alimentaire de la zone splanchnique vers la lumière intestinale (i.e., $k_{2,5} = k_{3,5}$).

Dans cette étude, l'estimation numérique des paramètres du modèle a été menée à l'aide du logiciel Simusolv (Steiner *et al.*, 1990). Ce logiciel met en oeuvre la méthode du maximum de vraisemblance, et recherche le jeu de paramètres optimal de la fonction objectif (ainsi que les valeurs optimales des paramètres d'hétéroscédasticité du modèle d'erreur) à partir de valeurs initiales spécifiées par l'utilisateur. Les algorithmes de recherche implémentés dans Simusolv sont des algorithmes d'optimisation locale de type gradient et simplexe, qui ne garantissent la convergence vers l'optimum global que dans les cas (rares) où les valeurs initiales des paramètres ont été choisies proches de leurs valeurs optimales. La stratégie adoptée pour pallier cet écueil a consisté à utiliser une technique de multistart, i.e., à lancer l'optimisation à partir d'un grand nombre de points de départ différents de manière à explorer l'espace des paramètres le plus intensivement possible (Fouillet *et al.*, 2000). La convergence sinon vers l'optimum global, en tout cas vers un jeu de paramètres satisfaisant, est vérifiée en testant l'identifiabilité numérique *a posteriori* du modèle et la cohérence physiologique de ses prédictions par rapport aux données de la littérature. L'inspection visuelle des ajustements entre données prédites et données observées, et une analyse plus approfondie des résidus indiquent que les résultats de modélisation sont très satisfaisants. Par ailleurs, les coefficients de variation des paramètres estimés sont jugés très bons dans la mesure où un seul paramètre ($k_{7,6}$) présente un coefficient de variation supérieur à 50% (CV = 51%).

Prédictions du modèle concernant la partie non observable du système

Le modèle sélectionné permet de simuler les cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans les compartiments suivis expérimentalement mais également de prédire l'évolution des compartiments qui n'étaient pas accessibles à la mesure expérimentale. Il permet notamment de prédire les cinétiques de passage de l'azote alimentaire dans le tractus gastro-intestinal, ses cinétiques d'apparition dans les compartiments d'AA libres et de protéines (splanchniques et périphériques) et d'élimination de l'organisme. En particulier, le modèle permet de simuler l'évolution de la vidange gastrique de l'azote du repas solide, qui est assez lente puisque le modèle prédit un temps demi-vidange d'environ 130 minutes (**Figure 56**). L'azote alimentaire passe ensuite dans les lumières intestinales proximale et distale d'où il est absorbé vers le

reste du système. La partie non absorbée de l'azote alimentaire vient s'accumuler dans les effluents iléaux. Une fois absorbé, l'azote du repas est soit retenu soit éliminé de l'organisme. Sur le deuxième graphique de la Figure 56, on peut visualiser par exemple l'apparition de l'azote alimentaire dans le compartiment des AA libres splanchniques (SA), suivie de son incorporation consécutive dans les protéines des tissus splanchniques (SP).

La **Figure 57** présente la distribution postprandiale de l'azote alimentaire entre les différents compartiments de rétention et d'élimination de l'organisme au cours des 12 heures qui suivent l'ingestion du repas. Les données expérimentales brutes permettent de déterminer la partition des pertes totales d'azote alimentaire sous ses différentes formes (pertes iléales et pertes de désamination). Ces pertes représentent environ 34% de l'azote alimentaire au bout des 8 heures qui suivent le repas. Les prédictions du modèle permettent également de déterminer la partition de la rétention totale d'azote alimentaire dans l'organisme sous ses différentes formes, à savoir les protéines splanchniques constitutives et exportées, les protéines périphériques, les AA libres splanchniques et les AA libres périphériques. On constate que la rétention a lieu majoritairement dans la zone splanchnique avec 39% de l'azote alimentaire retrouvé dans les protéines splanchniques constitutives (31%) et exportées (8%) au bout de 8 heures contre 21% pour les protéines des tissus périphériques. Ainsi, cette rétention majoritairement splanchnique s'effectue au détriment de la zone périphérique, qui ne reçoit que 20% de l'azote alimentaire à la fin des 8 heures postprandiales (Figure 57).

On peut aussi calculer l'efficacité de la synthèse protéique (ESP) régionale comme le rapport entre le flux de protéosynthèse et le flux d'azote alimentaire entrant dans le compartiment d'AA précurseurs. Ainsi, l'ESP splanchnique (ESPS) vaut :

$$ESPS = \frac{(k_{8,5} + k_{9,5}) \times SA}{k_{5,2} \times IL_1 + k_{5,3} \times IL_2 + k_{5,6} \times AA + k_{5,8} \times SCP + k_{5,11} \times BU}$$

Quant à l'efficacité de synthèse protéique périphérique (ESPP), elle vaut :

$$ESPP = \frac{k_{10,7} \times SA}{k_{7,6} \times AA + k_{7,10} \times PP}$$

L'ESPS atteint 41% de l'azote ingéré à 8 heures contre 38% pour l'ESPP.

En ce qui concerne le recyclage entéro-hépatique de l'urée, on peut calculer que 24% de la production totale d'urée à partir d'azote alimentaire a été réincorporée dans le pool des AA splanchniques à 6 heures.

Discussion

Le but de cette étude était d'évaluer la distribution régionale de l'azote des protéines de blé après leur ingestion au sein d'un repas solide mixte chez l'homme. Des données cliniques ont été précédemment obtenues concernant l'apparition postprandiale de l'azote alimentaire dans différents pools métaboliques aux niveaux intestinal, sanguin et urinaire (Bos *et al.*, 2005). Dans ce travail, nous avons procédé à l'analyse compartimentale de ces données, dans le but de prédire l'utilisation spécifique de l'azote des protéines de blé dans les compartiments non accessibles à la mesure, en particulier dans les AA libres et protéines des zones splanchniques et périphériques

Tout d'abord, les prédictions du modèle ont été validées par le fait qu'elles sont cohérentes avec les (rares) données disponibles dans la littérature. En ce qui concerne les cinétiques gastro-intestinales de l'azote alimentaire, le modèle prédit un temps de demi-vidange gastrique de l'azote alimentaire d'environ 130 minutes pour un repas de 2318 kJ (18% de protéines, 54% de glucides et 28% de lipides), en accord avec les résultats obtenus par Moore (Moore *et al.*, 1981) qui rapporte un temps moyen de demi-vidange gastrique de 147 minutes pour la phase solide d'un repas mixte d'une énergie de 2590 kJ (20% de protéines, 40% de glucides et 40% de lipides). En outre, le modèle prédit que l'absorption ayant lieu dans l'intestin proximal atteint 44% de l'azote ingéré au temps $t = 140$ min, conformément à des données obtenues après l'ingestion d'un repas mixte liquide contenant des protéines de soja où l'absorption gastro-jéjunale d'azote alimentaire atteignait 50% à $t = 140$ min (Baglieri *et al.*, 1995). Par ailleurs, une étude a montré que la grande majorité (~80%) de l'absorption intestinale d'azote alimentaire a lieu dans la partie proximale de l'intestin grêle (duodénum/jéjunum) 6 heures après l'ingestion d'un repas mixte liquide contenant des protéines de pois (Gausseres *et al.*, 1996). Notre modèle confirme que la partie proximale de l'intestin contribue majoritairement à l'absorption intestinale, et il prédit que la contribution de l'absorption proximale à l'absorption totale (proximale et distale) atteint 96% au bout de 6 heures. Cette contribution accrue provient vraisemblablement de la nature solide de notre repas test qui induit un ralentissement considérable de la vidange gastrique par rapport aux repas liquides : l'azote alimentaire étant délivré plus lentement et progressivement sur les sites d'absorption, la partie proximale de l'intestin grêle peut prendre en charge l'essentiel de l'absorption.

Les prédictions du modèle concernant la valorisation régionale spécifique de l'azote alimentaire en phase postprandiale chez l'homme sont également cohérentes avec les données disponibles dans la littérature. La valeur de rétention périphérique de l'azote des protéines de

blé (25%) prédite par le modèle est cohérente avec les données trouvées dans la littérature pour les AACR (18%) et les protéines alimentaires (30%) chez l'homme (Capaldo *et al.*, 1999 ; Elia *et al.*, 1989). La valeur d'efficacité de la protéosynthèse périphérique que nous obtenons (ESPP = 36%) se situe dans la fourchette des valeurs mesurées pour certains AA chez l'homme (29% pour la phénylalanine et 63% pour la lysine) (Volpi *et al.*, 1998). Les prédictions concernant l'extraction splanchnique de l'azote alimentaire sont également compatibles avec les données de la littérature obtenues chez l'homme (Biolo *et al.*, 1992b). Par contre, peu de données sont disponibles chez l'homme concernant l'utilisation anabolique de l'azote alimentaire dans la zone splanchnique, l'essentiel des études ayant été menées chez l'animal (Deutz *et al.*, 1998 ; Stoll *et al.*, 1998a).

Il est également possible de comparer chez l'homme l'utilisation métabolique postprandiale des protéines de blé aux protéines végétales de référence (soja), étant donné que l'analyse compartimentale de données obtenues après l'ingestion d'un repas mixte liquide contenant des protéines de soja, selon un protocole expérimental similaire à cette étude, a été précédemment menée au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2003). En particulier, l'extraction splanchnique (somme de la rétention splanchnique et de la désamination) de l'azote des protéines de blé à 8 heures (63,5%) augmente d'environ 10% par rapport à celle des protéines de soja (58%). La différence s'opère exclusivement en faveur de la désamination qui est augmentée de 20% pour les protéines de blé tandis que l'utilisation anabolique splanchnique n'est pas modifiée. En zone périphérique, la rétention de l'azote alimentaire à 8 heures chute d'environ 25% pour les protéines de blé puisqu'elle atteint 31% de l'ingéré pour le repas soja contre 23% pour le blé. Les efficacités de synthèse protéique splanchnique et périphérique sont meilleures pour les protéines de soja à 8 heures, avec une chute de 13% de l'ESPS et de 25% pour l'ESPP avec le repas blé vs. soja. Ainsi, la différence de valorisation anabolique des protéines de blé et de soja a lieu majoritairement dans les tissus périphériques. Ceci confirme les résultats d'une précédente étude de modélisation compartimentale menée dans le laboratoire, qui avait permis de montrer que la différence de valorisation anabolique des protéines de soja par rapport aux protéines de lait avait lieu dans la zone périphérique, avec une moindre utilisation anabolique et une moindre efficacité de la synthèse protéique dans cette zone pour l'azote des protéines de soja (Fouillet *et al.*, 2002b).

Le modèle développé dans cette étude comporte une modification importante par rapport au modèle précédent, puisqu'il tient compte du recyclage entéro-hépatique de l'urée produite à partir d'azote alimentaire. Notre modèle prédit un recyclage entéro-hépatique de l'urée de 24% à 6 heures, correspondant à la limite supérieure rapportée dans la littérature (Badaloo *et*

al., 1999 ; Long *et al.*, 1978). Toutefois, ces valeurs de la littérature concernent les flux d'azote total (alimentaire et endogène) et non d'azote alimentaire, or l'azote alimentaire est davantage désaminé que l'azote total en zone splanchnique (Stoll *et al.*, 1998a). En outre, l'ajout dans le modèle d'une voie de retour du compartiment de l'urée corporelle vers celui des AA libres splanchniques améliore significativement la qualité des ajustements alors qu'elle pouvait être négligée pour le repas soja selon des critères de parcimonie. Ce résultat semble indiquer que le recyclage entéro-hépatique de l'urée est augmenté après l'ingestion d'une protéine de moindre qualité nutritionnelle. Ceci est en accord avec certaines données de la littérature qui ont montré que le recyclage de l'urée pouvait permettre d'épargner de l'azote dans certaines conditions nutritionnelles ou physiopathologiques (apports protéiques limités, pathologies...) (Badaloo *et al.*, 1999 ; Jackson, 1998).

En conclusion, les données expérimentales parcellaires (intestin, sang, urine) précédemment obtenues (Bos *et al.*, 2005) nous ont permis de développer un modèle compartimental capable de décrire le devenir métabolique régional de l'azote des protéines de blé en phase postprandiale chez l'homme. Les prédictions du modèle montrent que la moindre rétention corporelle des protéines de blé par rapport aux protéines de soja s'effectue dans les tissus de la zone périphérique. En particulier, l'utilisation anabolique de l'azote des protéines de blé et l'efficacité de la protéosynthèse sont nettement plus faibles que celles des protéines de soja dans cette zone. Au niveau de la zone splanchnique, la plus forte désamination des protéines de blé ne s'accompagne pas d'une diminution de l'anabolisme malgré une moindre efficacité de la protéosynthèse. Enfin, le modèle prédit un recyclage entéro-hépatique important de l'urée formée à partir de l'azote des protéines de blé, ce qui pourrait permettre un effet d'épargne azotée. Les perspectives de poursuite de ce travail sont nombreuses. En particulier, il pourrait être intéressant d'étudier l'effet du niveau habituel d'apport protéique (normo ou hyperprotéique) sur le métabolisme régional de l'azote des protéines de blé. L'étude de l'influence du niveau habituel d'apport protéique sur la valorisation régionale spécifique de l'azote des protéines de blé et sur le recyclage entéro-hépatique de l'urée pourrait permettre de mieux évaluer les mécanismes d'adaptation de l'organisme et l'importance de l'épargne de l'azote après l'ingestion de protéines de faible qualité protéique sous différentes conditions nutritionnelles.

II / 4 : Article 6

Increasing habitual protein intake results in reduced postprandial efficiency of peripheral anabolic wheat protein nitrogen use in humans.

Juillet B., Fouillet H., Bos C., Mariotti F., Gausserès N., Benamouzig R., Tomé D., & Gaudichon C.

Soumis pour publication à *American Journal of Clinical Nutrition*.

Dans ce travail, l'objectif était d'étudier par modélisation compartimentale l'influence du niveau habituel d'apport protéique sur la distribution et la rétention régionale des protéines de blé à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme.

Contexte et objectifs :

Bien que de nombreuses études se soient intéressées aux modifications du métabolisme des protéines et des AA après l'adaptation à différents niveaux d'apport protéique chez l'homme, la plupart d'entre elles ont été réalisées au niveau du corps entier et à l'état stationnaire (perfusion continue ou ingestion fractionnée du repas). Ainsi, il existe peu de données dans la littérature concernant les effets d'une élévation du niveau habituel d'apport protéique sur le métabolisme régional (splanchnique et périphérique) et la qualité nutritionnelle des protéines alimentaires à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme. Cette étude a donc été entreprise dans le but d'évaluer l'utilisation métabolique régionale des protéines de blé ingérées sous forme d'un repas mixte solide (biscottes) et unique (bolus), chez des volontaires sains préalablement adaptés à différents niveaux d'apports protéiques. Dans cette étude, nous avons eu recours à la modélisation compartimentale afin d'analyser les données expérimentales obtenues dans le sang et les urines pour simuler les cinétiques d'évolution d'autres compartiments azotés non accessibles, comme les protéines et les AA libres des zones splanchniques et périphériques.

Méthodes :

Pour ce faire, nous avons obtenu des données expérimentales chez des volontaires sains adaptés pendant 7 jours, d'abord à un régime normoprotéique (NP : $1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), puis à un régime hyperprotéique (HP : $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). A l'issue de chacune de ces périodes d'adaptation, les sujets ont ingéré un repas mixte solide contenant des protéines de blé intrinsèquement et uniformément marquées au ^{15}N , et les cinétiques

d'apparition de l'azote alimentaire ont été mesurées pendant 8 heures dans les AA libres et les protéines plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires. Ces données ont été utilisées pour développer un modèle compartimental permettant de décrire et de comparer la distribution postprandiale et le métabolisme régional de l'azote alimentaire sous les deux conditions nutritionnelles étudiées (régimes NP et HP). La structure du modèle a été sélectionnée comme la structure minimum permettant de rendre correctement compte des données expérimentales (principe de parcimonie), et l'évacuation gastrique du repas solide a été modélisée par une EDO linéaire du second ordre, plutôt que par une simple loi de décroissance exponentielle (classiquement utilisée pour simuler la vidange gastrique de repas liquides). Le modèle a ensuite été validé en testant successivement son identifiabilité théorique et numérique. Enfin, les prédictions du modèle concernant les compartiments non suivis expérimentalement ont été analysées afin de localiser les phénomènes métaboliques impliqués dans les différences régionales de rétention postprandiale de l'azote alimentaire après l'adaptation à un régime NP vs. HP.

Résultats et Discussion :

Les données expérimentales brutes ont montré que l'adaptation à un régime HP vs. NP induit une diminution d'environ 10% de la rétention postprandiale de l'azote des protéines de blé au niveau du corps entier, en raison de pertes de désamination plus importantes. En outre, le modèle prédit que l'adaptation à un régime HP induit au niveau de la zone splanchnique une augmentation temporaire (pendant les 1^{ères} heures postprandiales) et concomitante de l'utilisation de l'azote alimentaire pour les protéosynthèses (+10%) et la production d'urée (+25%), tandis que le recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique n'est pas modifié 8 heures après l'ingestion du repas. Enfin, les prédictions du modèle indiquent qu'en raison de sa plus forte extraction splanchnique, l'azote des protéines de blé est moins disponible pour la périphérie après adaptation au régime HP, son utilisation anabolique se trouvant diminuée dans cette zone d'environ 30%.

En conclusion, ce travail montre que l'élévation du niveau habituel d'apport protéique diminue la rétention postprandiale de l'azote des protéines de blé au niveau du corps entier, ce qui se traduit principalement par une diminution dans la zone périphérique de la rétention et de l'utilisation anabolique de l'azote alimentaire.

II/. 5 : Article 7

Modulation of the regional utilization of dietary nitrogen by both the protein source in the meal and the habitual protein intake: a compartmental analysis.

Fouillet H., Bos C., Juillet B., Mariotti F., Tomé D., & Gaudichon C.

Soumis pour publication à *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*.

Dans ce travail, l'objectif était d'étudier par modélisation compartimentale l'effet du niveau habituel d'apport protéique dans le régime et de la source protéique dans le repas sur la distribution postprandiale et l'utilisation métabolique régionale de l'azote alimentaire à l'état non stationnaire chez l'homme.

Contexte et objectifs :

Une étude récente chez l'homme (Morens *et al.*, 2003) a permis de montrer que la rétention postprandiale de l'azote alimentaire dans l'organisme est diminuée après l'adaptation des sujets à un régime à teneur élevée (HP : 2 g.kg⁻¹.j⁻¹) vs. normale (NP : 1 g.kg⁻¹.j⁻¹) en protéines. Cet effet étant plus prononcé après l'ingestion de protéines de soja (-13%) que de lait (-5%), il a été suggéré que l'élévation du niveau habituel d'apport protéique accentuait les différences d'utilisation métabolique entre les protéines alimentaires (Morens *et al.*, 2003). Ces travaux de modélisation ont été entrepris dans le but d'étudier plus spécifiquement les phénomènes métaboliques régionaux impliqués dans la modulation croisée de la rétention postprandiale de l'azote alimentaire par le niveau habituel d'apport protéique (HP vs. NP), et la nature de la source protéique ingérée (lait vs. soja).

Méthodes :

Nous avons utilisé des données expérimentales précédemment obtenues au laboratoire (Morens *et al.*, 2003) chez des volontaires sains adaptés pendant 7 jours à un régime normoprotéique (NP : 1 g.kg⁻¹.j⁻¹), puis pendant les 7 jours suivant à un régime hyperprotéique (HP : 2 g.kg⁻¹.j⁻¹). A l'issue de chacune de ces deux périodes d'adaptation, les sujets ont ingéré un repas mixte liquide contenant des protéines de lait ou de soja intrinsèquement et uniformément marquées au ¹⁵N. Les cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire ont été mesurées pendant 8 heures dans les AA libres et les protéines plasmatiques, et dans l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque

urinaires. Ces données ont ensuite été utilisées afin de développer un modèle multi-compartimental permettant de décrire et de comparer la distribution postprandiale et le métabolisme régional de l'azote alimentaire pour les différentes conditions nutritionnelles étudiées (Lait NP, Lait HP, Soja NP, Soja HP).

La structure du modèle a été sélectionnée comme la structure minimum permettant de rendre correctement compte des données expérimentales, conformément au principe de parcimonie. Le modèle a ensuite été validé en testant successivement son identifiabilité théorique *a priori* et son identifiabilité numérique *a posteriori*. Enfin, les prédictions du modèle concernant l'évolution postprandiale des compartiments non suivis expérimentalement ont été analysées afin de localiser les phénomènes métaboliques impliqués dans les différences régionales de rétention de l'azote du repas lait vs. soja après l'adaptation à un régime NP vs. HP.

Résultats et Discussion :

Le modèle sélectionné est constitué de 13 compartiments et 21 voies d'échange. Sa structure est identique à celle du modèle précédemment développé, hormis pour le tractus gastro-intestinal, qui intègre un compartiment intestinal supplémentaire et où la vidange gastrique est représentée par une équation de décroissance exponentielle simple. Il permet de simuler les cinétiques d'absorption, d'élimination et de rétention de l'azote alimentaire au cours des 8 heures suivant l'ingestion d'un repas protéique sous forme de bolus. De plus, il permet de prédire la proportion de l'azote ingéré qui n'est pas éliminée de l'organisme mais qui est retenue et incorporée dans les tissus de chacune des zones splanchniques et périphériques.

Les prédictions de modèle indiquent que l'azote des protéines de soja est absorbé plus rapidement que celui des protéines de lait – et d'autant plus rapidement que le niveau habituel d'apport protéique est élevé – ce qui entraîne une arrivée plus précoce et massive de l'azote alimentaire dans le pool d'AA libres splanchniques et favorise son utilisation locale pour la désamination et les synthèses protéiques. En conséquence, l'azote des protéines de soja est moins disponible pour les tissus périphériques et l'anabolisme musculaire que l'azote des protéines de lait. De plus, ce phénomène est plus marqué lorsque le niveau habituel d'apport protéique est élevé, du fait de l'accentuation des différences dans les cinétiques d'absorption des protéines de soja vs. de lait dans un contexte de capacités de désamination élevées après l'adaptation au régime HP.

Ainsi, l'élévation du niveau habituel d'apport protéique induit : (1) une augmentation (de 20 à 40%) des pertes d'azote alimentaire par désamination, qui provient à la fois d'une augmentation (de 20 à 25%) de son utilisation pour la production d'urée et d'une diminution (de 30 à 40%) de sa réincorporation dans le pool d'AA libres splanchniques via l'hydrolyse de l'urée dans la lumière intestinale ; et (2) une diminution (d'environ 25%) de la disponibilité périphérique de l'azote alimentaire et de son utilisation pour les synthèses protéiques périphériques.

En conclusion, cette étude a permis de localiser les phénomènes métaboliques à l'origine des différences de rétention postprandiale entre les protéines de lait et de soja, et de comprendre comment ces phénomènes sont affectés par la teneur (normale ou élevée) en protéines du régime.

II/. 5 : Article 8

Urea-nitrogen production and salvage are substantial in fed humans and modulated by qualitative and quantitative factors of protein intake.

**Juillet B., Fouillet H., Bos C., Mariotti F., Gaudichon C., Benamouzig R., & Tomé D.
En préparation.**

Dans ce travail, l'objectif était d'étudier la modulation des cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée par différents facteurs qualitatifs et quantitatifs de l'apport protéique à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme.

Contexte et objectifs :

Dans la mesure où les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée jouent un rôle prépondérant dans l'homéostasie azotée de l'organisme, elles ont été largement étudiées chez l'homme, sous différentes conditions nutritionnelles et/ou physiopathologiques (Carraro *et al.*, 1993 ; Forrester *et al.*, 1994 ; Manary *et al.*, 2002 ; McClelland *et al.*, 1997), et en particulier pour différents niveaux d'apport protéique (Badaloo *et al.*, 1999 ; Forslund *et al.*, 1998 ; Forslund *et al.*, 1999 ; Jackson *et al.*, 1990 ; Young *et al.*, 2000a). Cependant, les résultats issus de ces études sont parfois contradictoires (Jackson, 1999 ; Young *et al.*, 2000a), et peu de données sont encore disponibles concernant l'influence de la nature des protéines alimentaires sur les cinétiques de l'urée chez l'homme (Bickerton *et al.*, 1996 ; Luiking *et al.*, 2005).

En outre, les méthodes classiques d'investigation des cinétiques de l'urée utilisées dans l'ensemble de ces études reposent sur l'administration constante ou fractionnée, le plus souvent par voie intraveineuse, d'un traceur isotopique pendant plusieurs heures, et nécessitent d'atteindre l'équilibre isotopique dans le plasma (El-Khoury *et al.*, 1994 ; Jahoor & Wolfe, 1987 ; Matthews & Downey, 1984 ; Wolfe, 1981) ou dans les urines (Jackson *et al.*, 1984 ; Jackson *et al.*, 1990 ; Jackson *et al.*, 1993 ; Picou & Phillips, 1972). Si ces méthodes permettent d'estimer les cinétiques de l'urée à l'état stationnaire postabsorptif, elles sont peu adaptées à leur étude à l'état non-stationnaire postprandial. En particulier, une étude récente a montré que ces méthodes de traceur sous-estimaient grandement (d'au moins 20 à 30%) les variations aiguës de la production d'urée comme celles advenant après l'ingestion normale d'un repas sous forme de bolus (Hamadeh & Hoffer, 1998). Nos travaux ont

donc été entrepris dans le but de proposer une nouvelle méthode de traceur permettant de déterminer les cinétiques de l'urée à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme, et d'étudier leurs modulations par la nature de la source protéique dans le repas et le niveau d'apport protéique dans le régime.

Méthodes :

Pour ce faire, nous avons développé une nouvelle méthode qui repose sur l'utilisation conjointe d'un protocole clinique de suivi du métabolisme azoté postprandial dans quelques pools accessibles à la mesure expérimentale et d'une analyse par modélisation compartimentale des données ainsi obtenues. Les données expérimentales ont été obtenues chez des volontaires sains adaptés pendant 7 jours, d'abord à un régime normoprotéique (NP : $1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$), puis à un régime hyperprotéique (HP : $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). A l'issue de chacune de ces périodes d'adaptation, les sujets ont ingéré un repas mixte sous forme de bolus, qui contenait une dose fixe ($0,41 \text{ g.kg}^{-1}$) de protéines de lait, de soja ou de blé marquées uniformément et intrinsèquement au ^{15}N . Les cinétiques de l'azote alimentaire et de l'azote total (alimentaire + endogène) ont ensuite été mesurées pendant 8 heures dans les protéines plasmatiques et dans l'urée corporelle et urinaire pour chacun des six groupes (lait NP et HP ; soja NP et HP ; blé NP et HP). Enfin, les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée d'origines alimentaire et endogène ont été déterminées, en confrontant ces données à un modèle mathématique basé sur des équations non stationnaires, qui repose simplement sur l'hypothèse d'un pool précurseur unique pour la production d'urée et de protéines splanchniques exportées vers le sang.

Résultats et Discussion :

Nos résultats concernant les taux de production et d'excrétion de l'urée totale à l'état nourri (9-17 et 6-10 mg N/kg de poids corporel par h, respectivement) sont cohérents avec les données disponibles dans la littérature concernant les moyennes de ces taux sur 24h (Carraro *et al.*, 1993 ; El-Khoury *et al.*, 1994 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; El-Khoury *et al.*, 1997 ; Langran *et al.*, 1992 ; McClelland & Jackson, 1996). En ce qui concerne les taux d'hydrolyse de l'urée, considérant que les valeurs de la littérature sont sous-estimées d'au moins 20 à 30% (Hamadeh & Hoffer, 1998), elles s'élèveraient à $\sim 1\text{-}2 \text{ mg N/kg}$ de poids corporel par h, ce qui correspond

effectivement aux valeurs basses de la fourchette de nos prédictions (1-10 mg N/kg de poids corporel par h). La capacité d'hydrolyse, calculée comme la proportion d'urée produite qui est hydrolysée en phase postprandiale dans le tractus gastrointestinal, varie entre 15 et 60% (40% en moyenne sur tous les groupes), ce qui correspond aux valeurs de la littérature obtenues sur 24h (20 à 65%, 40% en moyenne) chez des sujets préalablement habitués à différents niveaux – normaux ou élevés – d'apport protéique (Badaloo *et al.*, 1999 ; Bickerton *et al.*, 1996 ; El-Khoury *et al.*, 1997 ; Faber *et al.*, 2003 ; Jackson *et al.*, 1990 ; Langran *et al.*, 1992 ; McClelland & Jackson, 1996). Par ailleurs, nos résultats montrent que la production, l'excrétion et l'hydrolyse de l'urée d'origine alimentaire augmentent davantage après l'ingestion de protéines de blé que soja, et de soja que de lait, tandis que seules la production et l'hydrolyse de l'urée totale sont augmentées après l'ingestion de protéines végétales vs. animales, l'excrétion urinaire totale restant inchangée quelle que soit la source protéique dans le repas. Au contraire, l'augmentation chronique des apports protéiques (HP vs. NP) induit une augmentation de l'excrétion urinaire de l'urée totale, ainsi qu'une diminution de la proportion d'urée produite qui est hydrolysée (qui passe de 45 à 33% en moyenne).

En conclusion, cette étude a permis de montrer qu'à partir de quelques prélèvements sanguins et urinaires réalisés pendant les 8 heures qui suivent l'ingestion d'un repas contenant des protéines marquées uniformément et intrinsèquement au ^{15}N , il est possible de déterminer les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée d'origines alimentaire ainsi qu'endogène à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme. Cette méthode a en outre permis d'étudier la modulation de ces cinétiques par différents facteurs qualitatifs (nature de la protéine alimentaire) et quantitatifs (niveau d'apport protéique dans le régime) de l'apport protéique. Les cinétiques postprandiales de l'urée semblent ainsi s'adapter à des variations aiguës et chroniques, qualitatives et quantitatives de l'apport protéique. En particulier, le recyclage entéro-hépatique de l'urée semble permettre un volant d'action important pour l'épargne azoté : il est d'autant plus important que les protéines ingérées sont fortement désaminées et donc de mauvaise qualité nutritionnelle (lait < soja < blé), et que l'apport protéique habituel est restreint (HP < NP). Ceci est un résultat intéressant et original, l'importance du recyclage entéro-hépatique étant une problématique largement discutée et sujette à controverse.

DISCUSSION

Les travaux que nous avons menés nous ont permis de développer et d'utiliser des modèles compartimentaux décrivant le devenir métabolique de l'azote alimentaire en phase postprandiale non-stationnaire sous différentes conditions nutritionnelles chez l'homme. Ainsi, la première partie de notre travail a consisté à améliorer les outils et rationaliser les méthodes de modélisation compartimentale déjà disponibles au laboratoire, tandis que la seconde a consisté à utiliser ces développements méthodologiques afin d'approfondir nos connaissances concernant le métabolisme splanchnique et périphérique de l'azote alimentaire et certains de ses facteurs de modulation.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à une étape particulièrement limitante du développement des modèles compartimentaux, celle de l'estimation des valeurs de leurs paramètres, et nous avons développé une méthode permettant l'identification numérique des modèles compartimentaux linéaires (articles 1 et 2). Cette méthode, qui est spécialement adaptée à l'estimation des paramètres de modèles complexes, repose sur une analyse de sensibilité préalable du modèle : elle utilise les propriétés de structure et de fonctionnement du modèle afin de diviser le problème d'optimisation de grande taille en plusieurs sous-problèmes emboîtés de plus petite taille, qui sont plus faciles à résoudre par les algorithmes classiques de recherche. La méthode a été validée en l'appliquant à un modèle précédemment développé au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2003), d'abord en utilisant des données « virtuelles » simulées dans certains compartiments du modèle (article 1), puis en utilisant des données cliniques « réelles » préalablement obtenues (Morens *et al.*, 2003) concernant les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans les effluents iléaux, les AA et les protéines plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires (article 2). Ensuite, nous nous sommes intéressés (articles 3 et 4) à l'intégralité du processus de développement d'un modèle compartimental décrivant la distribution inter-régionale de l'azote alimentaire en phase postprandiale chez l'homme, depuis l'obtention de données expérimentales sur le système étudié jusqu'à l'identification structurelle et numérique, puis la validation interne et externe du modèle adéquat.

Dans un second temps, nous avons utilisé les méthodes de modélisation ainsi rationalisées ou développées afin de construire de nouveaux modèles du métabolisme azoté. Ces modèles sont de deux types : il s'agit soit de modèles globaux développés pour décrire le métabolisme inter-organes au niveau du corps entier (travaux non publiés complémentaire de l'article 5,

articles 6 et 7), soit de modèles régionaux, développés pour caractériser certains processus métaboliques particuliers (article 8). Ces modèles ont été développés afin de déterminer et de comparer les phénomènes impliqués dans la valorisation spécifique de différentes sources protéiques sous différentes conditions nutritionnelles au cours de la phase postprandiale chez l'homme. Nous avons tout d'abord étudié la qualité nutritionnelle et l'utilisation métabolique postprandiale des protéines de blé. Pour cela, nous avons obtenu chez le volontaire sain des données expérimentales concernant les cinétiques postprandiales d'apparition de l'azote alimentaire dans les effluents iléaux, les AA et les protéines plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires, après l'ingestion d'un repas mixte solide contenant des protéines de blé marquées au ^{15}N (article 5), et nous avons analysé ces données par modélisation compartimentale (travaux non publiés complémentaires de l'article 5). Puis, nous nous sommes intéressés à l'influence du niveau habituel d'apport protéique sur la valorisation spécifique de différentes protéines alimentaires. Tout d'abord, nous avons obtenu de nouvelles données dans les AA et protéines plasmatiques, l'urée corporelle, l'urée et l'ammoniaque urinaires chez des sujets sains ayant ingéré un repas similaire au repas précédent, mais après l'adaptation à un régime soit normoprotéique (NP : $1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) soit hyperprotéique (HP : $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). Nous avons ensuite procédé à l'analyse compartimentale de ces données, en développant un modèle global inter-régional du métabolisme postprandial de l'azote alimentaire (article 6). En parallèle, nous avons analysé par modélisation compartimentale des données précédemment obtenues au laboratoire selon un protocole expérimental similaire (Morens *et al.*, 2003), où le devenir postprandial de l'azote alimentaire était suivi après deux périodes successives d'adaptation (régime NP puis régime HP), et après l'ingestion d'un repas non plus solide mais liquide, et contenant non plus des protéines de blé mais les protéines animales (lait) ou végétales (soja) de référence (article 7). Les modèles développés dans l'ensemble de ces travaux ont permis des avancées à la fois techniques et cognitives. Au niveau des apports techniques, ils ont permis de simuler les cinétiques gastro-intestinales de l'azote alimentaire (évacuation gastrique, transit et absorption intestinale...) dans le cadre physiologique de l'ingestion de repas mixtes liquides (article 7) ou solides (article 6), alors que les modèles précédemment développés au laboratoire étaient restreints à l'ingestion de repas liquides (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003). Au niveau des apports cognitifs, ils ont permis de localiser les phénomènes métaboliques impliqués dans la moindre rétention de l'azote alimentaire après l'adaptation à un régime HP vs. NP (articles 6 et 7). En outre, ils ont permis de localiser les phénomènes expliquant la moindre rétention de l'azote des protéines de blé par rapport aux protéines animales ou végétales de référence

(grâce à la comparaison des résultats obtenus dans les articles 6 et 7). En particulier, ces travaux ont montré l'importance du phénomène de recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique d'origine alimentaire après l'ingestion d'une protéine de qualité nutritionnelle comme le blé, puisqu'à la fin de la période postprandiale, une fraction non négligeable de l'azote ingéré (~10%) est épargnée suite à son entrée dans les voies de désamination (article 6), alors que cette fraction diminue lorsque les protéines du repas sont de meilleure qualité (article 7), comme pour le soja (5 à 7%) et le lait (1 à 2%). Ces résultats nous ont amenés à nous intéresser plus avant aux cinétiques postprandiales de l'urée, ainsi qu'à leur modulation par différents facteurs quantitatifs et qualitatifs de l'apport protéique. Pour cela, nous avons développé un petit modèle à 4 compartiments spécifique des phénomènes splanchniques de désamination et de recyclage entéro-hépatique (article 8). Ce modèle régional est un sous-système des modèles précédemment décrits et il permet, à partir de données expérimentales obtenues aux niveaux uniquement sanguin et urinaire, de déterminer les quantités d'azote alimentaire, mais aussi d'azote endogène, participant à la production, à l'excrétion et à l'hydrolyse de l'urée pendant la phase postprandiale. Ces derniers travaux ont permis, à partir des données expérimentales précédemment obtenues pour le blé (article 6), le lait et le soja (article 7), de déterminer l'influence de la source protéique (lait vs. soja vs. blé) et du niveau habituel d'apport protéique (NP vs. HP) sur les cinétiques postprandiales de l'urée, et en particulier sur son hydrolyse au niveau intestinal.

1. Aspects méthodologiques

Il est à la fois surprenant et édifiant de constater que dans la plupart des études portant sur la modélisation compartimentale des systèmes métaboliques et nutritionnels, les différentes étapes de développement du modèle ne sont généralement présentées ni explicitement ni de manière exhaustive, alors qu'elles sont déterminantes puisqu'elles conduisent au choix de la structure du modèle présenté ainsi qu'à son paramétrage particulier, qui conditionnent les prédictions du modèle retenu (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996). En effet, certaines étapes (e.g., l'identifiabilité théorique *a priori* du modèle) ou certaines difficultés (e.g., l'existence de minima locaux de la fonction objectif) sont souvent ignorées ou passées sous silence, ou alors quand elles sont explicitées, elles n'ont souvent pas pu être résolues en raison de l'absence de méthodes ou d'outils performants (Adiels *et al.*, 2005 ; Fouillet *et al.*, 2003 ; Pawlosky *et al.*, 2001 ; Staub *et al.*, 2003). Parmi ces différentes étapes, deux sont particulièrement limitantes, alors même qu'elles constituent des conditions *sine qua non* à

l'obtention de prédictions fiables sur le système étudié : il s'agit, comme nous l'avons déjà vu, de l'identifiabilité théorique *a priori* du modèle et de l'estimation numérique de ses paramètres. Dans nos travaux de thèse, nous nous sommes attachés à résoudre au mieux ces deux problèmes, soit en utilisant les méthodes les plus récentes et/ou les plus sophistiquées disponibles dans la littérature, soit en développant nous-mêmes des méthodes capables de résoudre le problème considéré.

1.1. Résolution du problème d'identifiabilité théorique *a priori*

Il est nécessaire de vérifier l'identifiabilité théorique *a priori* d'un modèle pour pouvoir juger de sa validité (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996). L'identifiabilité théorique est en effet une condition nécessaire à l'identification numérique des paramètres du modèle, puisqu'elle permet de s'assurer que le problème d'estimation des paramètres constitue un problème bien posé qui admet une solution unique, tout au moins dans le contexte idéal d'un modèle sans erreur de structure et de données expérimentales continues et non bruitées (Cobelli & Caumo, 1998). Cette condition n'est toutefois pas suffisante car elle exclue les problèmes numériques ultérieurs pouvant advenir lors de l'estimation effective des paramètres, liés par exemple au bruit associé aux données ou à la forte corrélation entre certains paramètres (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson *et al.*, 1981 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & DiStefano, 1980 ; Cobelli *et al.*, 1984 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984 ; Jacquez, 1996). Depuis quelques décennies, différentes méthodes ont été développées, qui permettent de tester l'identifiabilité théorique *a priori* de modèles compartimentaux linéaires (fonction de transfert, transformation de similarité, matrice des paramètres de Markov, ...) et non linéaires (linéarisation, développement en séries de Taylor ou en séries génératrices, algèbre différentielle...) (Audoly *et al.*, 1998 ; Audoly *et al.*, 2001 ; Carson *et al.*, 1981 ; Cobelli & DiStefano, 1980). Cependant, l'étude de l'identifiabilité théorique reste difficile à mener pour des modèles compartimentaux de grande taille, étant donné que la complexité des équations algébriques à résoudre (nombre d'inconnues, nombre de termes et degré de non-linéarité) augmente considérablement avec le nombre de compartiments et de voies de transfert du modèle, et dépasse rapidement les capacités de calcul des logiciels existants (Audoly *et al.*, 1998 ; Carson & Cobelli, 2001 ; Cobelli & Caumo, 1998 ; DiStefano & Landaw, 1984). Ainsi, l'identifiabilité théorique *a priori* du deuxième modèle précédemment développé au laboratoire par Fouillet *et al.* (Figure 39B) n'a pu être étudiée lors de sa publication originale (Fouillet *et al.*, 2003). Depuis, elle a toutefois pu être testée (Maria Pia Saccomani,

communication personnelle) grâce à l'utilisation d'un nouvel algorithme développé par l'équipe de Claudio Cobelli (Audoly *et al.*, 2001) et basé sur des techniques sophistiquées d'algèbre différentielle (Audoly *et al.*, 2001 ; Margaria *et al.*, 2004 ; Saccomani *et al.*, 2003). Dans nos travaux de thèse, l'application de ce nouvel algorithme nous a également permis de tester l'identifiabilité théorique de modèles plus complexes, comme celui présenté dans les articles 3 et 7, et dans les travaux complémentaires de l'article 5 (Figure 55), qui intègre deux voies supplémentaires de transfert d'azote alimentaire par rapport au précédent modèle de Fouillet *et al.* (Figure 39B) : une voie de recyclage entéro-hépatique de l'azote alimentaire depuis le compartiment d'urée corporelle vers celui des AA libres splanchniques, et une voie de transfert d'azote alimentaire du compartiment des AA libres périphériques vers celui de l'ammoniaque urinaire. L'étude de l'identifiabilité théorique *a priori* de ce modèle complexe a montré que ses paramètres sont uniquement identifiables sous deux conditions nécessaires d'égalité : égalité entre les taux de transit intestinal proximal et distal, et entre les taux de resécration proximale et distale de l'azote alimentaire dans la lumière intestinale. Ces contraintes sont tout à fait plausibles d'un point de vue physiologique. En l'absence de ces contraintes, l'étude de l'identifiabilité théorique du modèle indique que plusieurs solutions sont *a priori* possibles pour certains des paramètres gastro-intestinaux du modèle du fait de réarrangements numériques pour certains couples de paramètres très corrélés comme les taux d'absorption et de resécration intestinaux de l'azote alimentaire (Figure 55). Cette non-identifiabilité de certains paramètres gastro-intestinaux provient vraisemblablement de la structure mamillaire complexe entourant le nœud des AA libres splanchniques. Cette structure traduit le rôle central de ce compartiment dans la distribution et le métabolisme postprandiaux de l'azote alimentaire, puisqu'il reçoit de l'azote par voie veineuse (depuis IL_1) et artérielle (depuis PL), et redistribue l'azote reçu, soit en l'orientant vers les voies cataboliques (vers BU) ou anaboliques (vers SCP et SEP) locales, soit en permettant sa libération (vers PL) et sa mise à disposition pour les tissus périphériques. Ces résultats soulignent l'importance de l'étape d'identifiabilité théorique *a priori* d'un modèle (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996), et montrent qu'il est possible de remédier de manière simple à la non-identifiabilité de certains de ses paramètres, en leur imposant des contraintes d'égalité physiologiquement cohérentes. Ceci permet d'une part de rendre le modèle uniquement identifiable, et d'autre part de réduire la complexité du problème suivant d'estimation des paramètres.

1.2. Résolution du problème d'estimation des paramètres

La méthode la plus utilisée en modélisation compartimentale pour estimer les paramètres d'un modèle est celle des moindres carrés, qui consiste à minimiser l'écart entre les prédictions du modèle et les observations du système (Cobelli *et al.*, 1991 ; Saccomani *et al.*, 1996). Il existe également deux autres approches, à savoir les approches fishériennes et bayésiennes, qui consistent à déterminer le jeu de paramètres qui fournit la plus grande probabilité d'observer les données expérimentales obtenues, soit en utilisant uniquement l'information issue des données (méthode fishérienne), soit en utilisant également des informations *a priori* sur les paramètres à estimer (méthode bayésienne) (Bard, 1974 ; Jacquez, 1996). Depuis quelques années, cette dernière approche bénéficie d'un succès croissant (Cremers *et al.*, 2003 ; Magni *et al.*, 2006), d'autant qu'il a été montré récemment qu'elle améliore l'efficacité et la précision du processus d'estimation par rapport aux méthodes fishériennes (maximum de vraisemblance) dans certains cas particuliers de l'identification numérique du modèle minimal des cinétiques du glucose (Pillonetto *et al.*, 2003). Toutefois, l'approche bayésienne nécessite de disposer d'informations sûres concernant la distribution et les valeurs des paramètres du modèle, car les résultats finaux obtenus avec cette méthode dépendent fortement des hypothèses préalablement formulées. En ce qui concerne notre système d'étude, à savoir le métabolisme inter-régional de l'azote alimentaire en phase postprandiale non stationnaire, les connaissances actuellement disponibles sont à la fois rares et parcellaires, surtout chez l'homme. Nous n'avons donc que peu d'idées *a priori* concernant les valeurs des paramètres d'un modèle représentant un tel système et il nous était difficile de supposer des lois de distribution de probabilité pour les valeurs des paramètres qui soient un peu plus précises que la simple exclusion de leurs valeurs négatives. De ce fait, nous avons opté dans nos travaux de thèse pour l'approche fishérienne, en utilisant l'estimateur du maximum de vraisemblance, dans la continuité des travaux menés précédemment au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003). Le maximum de vraisemblance mesure la qualité des ajustements entre données prédites et données observées. Cette fonction objectif doit être optimisée afin de déterminer les valeurs des paramètres qui assurent le meilleur ajustement des prédictions du modèle aux données expérimentales, i.e., le jeu de paramètres qui présente la plus grande probabilité d'avoir engendré les données disponibles pour les compartiments observés (Cobelli & Caumo, 1998 ; Jacquez, 1996).

Différents algorithmes d'optimisation (locale ou globale) existent, qui permettent de progresser vers l'optimum de la fonction objectif (Carson & Cobelli, 2001 ; Jacquez, 1996 ; Mendes &

Kell, 1998). Le problème d'optimisation globale, que constitue l'estimation des paramètres d'un modèle compartimental, est difficile à résoudre pour la plupart des algorithmes de recherche locale, en particulier lorsque sa dimension est grande du fait de l'ordre important du modèle (modèles multi-compartimentaux intégrant un grand nombre de compartiments et de paramètres) (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991). Dans ce contexte, le recours à des méthodes d'optimisation globale peut constituer une alternative intéressante. Toutefois, la plupart de ces méthodes font intervenir différents opérateurs dont le paramétrage conditionne fortement l'efficacité et la rapidité de convergence vers la solution globale (Eiben *et al.*, 1999). En outre, il a été montré que les valeurs optimales de ces opérateurs dépendent fortement du problème considéré (Bäck *et al.*, 2000 ; Eiben *et al.*, 1999). De ce fait, le paramétrage des opérateurs constitue en lui-même un problème complexe, qui doit être préalablement résolu par l'utilisateur. Les méthodes de paramétrage les plus utilisées et les plus simples consistent, soit à fixer les paramètres des opérateurs à des valeurs ubiquitaires, ce qui semble toutefois peu efficace (Bäck *et al.*, 2000 ; Eiben *et al.*, 1999), soit à rechercher par tâtonnements des valeurs qui améliorent l'efficacité ou accélèrent la convergence de l'algorithme d'optimisation. D'autres méthodes, dites de « self-adaptation », permettent de contourner ce problème en intégrant les valeurs de certains opérateurs comme des paramètres supplémentaires à optimiser (Bäck *et al.*, 2000 ; Eiben *et al.*, 1999 ; Kivijärvi *et al.*, 2003), mais ces méthodes présentent en retour l'inconvénient d'augmenter encore la dimension de l'espace de recherche, déjà vaste lors de l'identification numérique de modèles multi-compartimentaux.

Dans mon travail de thèse, il s'est avéré assez difficile d'implémenter un tel algorithme en un temps raisonnable pour notre problème particulier. En l'occurrence, nous avons commencé par chercher à implémenter une méthode globale d'optimisation de type algorithme génétique, qui s'inspire des théories de l'évolution : au sein d'une espèce, les individus les mieux adaptés supplantent les plus faibles, se perpétuent et évoluent. Nous avons adapté ces principes à notre problématique de la manière suivante : l'algorithme génère une population initiale d'individus représentant chacun un point de l'espace auquel est associée la valeur de la fonction objective (l'individu est caractérisé par $p+1$ gènes, les p valeurs des paramètres et la valeur du critère objectif associé), puis il crée des populations successives en sélectionnant à chaque génération les meilleurs individus par différents mécanismes (sélection, hybridation, mutation...), tout en assurant une exploration efficace de l'espace de recherche, et ceci jusqu'à l'obtention d'un individu jugé acceptable qui constitue la solution du problème d'optimisation. Un algorithme génétique a ainsi été développé sous Matlab pour permettre l'estimation des paramètres du

modèle compartimental présenté dans l'article 1. Afin de tester l'efficacité de cet algorithme, nous avons tout d'abord évalué sa capacité à retrouver un jeu donné de paramètres à partir des données simulées à l'aide de ce jeu, en commençant par des données non bruitées et simulées dans tous les compartiments du modèle. L'algorithme développé s'est avéré efficace dans ce contexte théorique, mais il s'est révélé nettement plus difficile de le faire fonctionner dans le contexte réel de données bruitées et disponibles seulement dans 6 des 12 compartiments du modèle (i.e., les compartiments classiquement observés dans nos protocoles de recueils de données expérimentales chez l'homme). Nous nous sommes alors orientés vers le développement d'une approche moins globale, mais d'implémentation plus rapide et plus intuitive, qui utilise les caractéristiques structurelles fortes du modèle (articles 1 et 2). Ce travail a abouti au développement d'un nouvel outil d'optimisation sous Matlab, qui présente l'intérêt d'une grande souplesse d'utilisation et de communication avec des bibliothèques d'algorithmes prédéfinis. Cet algorithme tire parti des spécificités de structure et de fonctionnement du modèle pour faciliter l'identification numérique des paramètres. En particulier, une analyse de sensibilité préalable du modèle permet d'obtenir des informations *a priori* sur son comportement, lesquelles sont utilisées afin de décomposer le problème global et complexe d'optimisation en plusieurs sous-problèmes emboîtés de taille réduite, plus facilement solvables par les techniques d'optimisation locale comme le simplexe. Ainsi, si l'on considère les indices $1 \leq i < i' \leq p$ et $1 \leq k < k' \leq n$ où p est le nombre de paramètres du modèle et n le nombre de compartiments suivis expérimentalement, le problème global d'optimisation consiste à faire varier simultanément les p paramètres du modèle pour ajuster les n compartiments observés, et il est remplacé par plusieurs sous-problèmes emboîtés d'ordre inférieur où le problème d'ordre i consiste à faire varier i paramètres pour ajuster k compartiments, le problème d'ordre i' consiste à faire varier i' paramètres pour ajuster k' compartiments, etc... La méthode que nous avons finalement développée a montré sa capacité à trouver l'optimum global de la fonction objectif dans le contexte de données simulées non bruitées et bruitées, ainsi que dans le cadre de données cliniques réelles (articles 1 et 2). Cette méthode, déjà pressentie dans des travaux précédents de modélisation compartimentale des systèmes physiologiques (Fouillet *et al.*, 2000 ; Shyr *et al.*, 1991), a été formalisée pour la première fois de manière explicite pour notre cas d'étude (article 1), puis a été généralisée pour permettre son application à un champ plus vaste de problèmes (article 2). Nous nous sommes orientés vers le développement de cette méthode pour des raisons à la fois pragmatiques et cognitives. En dehors des difficultés empiriques que nous avons rencontrées lors de nos premières tentatives d'implémentation d'une méthode d'optimisation globale, et

des performances finalement décevantes de l'algorithme génétique implémenté, notre choix a également été guidé par le souci de développer une méthode qui apporte en outre des informations intéressantes sur le fonctionnement du système étudié, au contraire des méthodes globales qui reposent sur des principes déconnectés du problème posé. En particulier, la méthode développée permet d'identifier les paramètres les plus influents du système sur chacun des compartiments suivis du modèle et de déduire les voies de transfert et/ou les phénomènes métaboliques qui suffisent à expliquer les données expérimentales. En ce sens, l'analyse de sensibilité peut également être très utile lors de l'identification structurelle des modèles (Saltelli *et al.*, 2000). Cependant, cette raison même qui rend notre méthode particulièrement intéressante lors de l'identification numérique de modèles compartimentaux linéaires, freine son éventuelle généralisation à des problèmes différents. D'autre part, nous avons choisi d'utiliser un algorithme de recherche locale de type simplexe pour résoudre chacun des sous-problèmes d'optimisation de notre méthode d'estimation des paramètres (articles 1 à 3). D'abord, cette méthode d'ordre 0 ne nécessite pas de calculer le gradient de la fonction objectif, pour lequel nous ne disposons pas d'expression analytique. En outre, l'utilisation d'une méthode d'optimisation d'ordre 1 aurait nécessité le calcul d'un gradient approché de la fonction objectif, cette approximation (souvent linéaire) étant susceptible de générer artificiellement des optima locaux (Eric Cancès, communication personnelle). Enfin, la méthode du simplexe présente l'intérêt d'être rapide d'implémentation et d'exécution, ainsi que d'une grande souplesse d'utilisation, ce qui nous a permis d'entrer facilement dans son code originel (Nelder & Mead, 1965), afin d'essayer d'atténuer la sensibilité de l'algorithme aux conditions initiales et au bruit, et d'éviter qu'il ne se trouve prématurément piégé dans un optimum local.

Ces tentatives d'amélioration des méthodes et/ou des outils de modélisation compartimentale existants au laboratoire avaient principalement pour but de permettre une analyse plus fiable des données expérimentales recueillies lors des études cliniques chez l'homme, et ce afin d'approfondir nos connaissances concernant les phénomènes métaboliques impliqués dans le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire, ainsi que leurs facteurs alimentaires de modulation.

2. Modélisation de la distribution régionale de l'azote alimentaire

2.1. Évacuation gastrique de l'azote alimentaire après l'ingestion d'un repas solide

Les deux modèles précédemment développés au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003) décrivent le devenir métabolique de l'azote alimentaire en phase postprandiale chez l'homme, depuis sa digestion et son absorption jusqu'à son élimination ou sa rétention dans les différents compartiments azotés de l'organisme. Ces deux modèles ont été construits sur la base de données expérimentales obtenues chez des volontaires sains après l'ingestion de repas liquides (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 2000b). Dans ces modèles, l'évacuation gastrique de l'azote ingéré est représentée par une loi de décroissance exponentielle simple, en accord avec les données disponibles dans la littérature concernant la vidange gastrique des repas liquides (Bernier *et al.*, 1988 ; Vist & Maughan, 1995). Dans certains de nos travaux de modélisation du métabolisme azoté au niveau du corps entier, l'analyse compartimentale de données expérimentales obtenues dans le cadre plus physiologique de l'ingestion de repas solides (articles 5 et 6 : repas constitués de biscottes contenant des protéines de blé marquées uniformément et intrinsèquement au ^{15}N) a conduit à complexifier cette loi simple de vidange gastrique afin de rendre correctement compte de l'arrivée retardée de l'azote alimentaire dans le duodénum, due à la nature solide du repas. Ainsi, nous avons modélisé la vidange gastrique de l'azote ingéré au sein d'un repas solide par une EDO linéaire du second ordre (travaux non publiés complémentaires de l'article 5 et article 6), adaptée des équations de Bernier *et al.* (Bernier *et al.*, 1988). Cette équation constitue un modèle explicatif du devenir de l'azote alimentaire dans l'estomac, et décrit le broyage antral des particules solides ingérées, suivi de l'évacuation pylorique des solides broyés (Figure 52). Ce modèle permet de rendre compte de manière satisfaisante de la décroissance plus lente du contenu stomacal en azote alimentaire après l'ingestion de repas solides que liquides (**Figure 58**). En outre, ce modèle a été validé à partir de données expérimentales obtenues lors du protocole présenté dans l'article 5, chez des sujets ayant ingéré un repas mixte solide contenant des protéines de blé et chez qui la sonde n'avait pas migré jusqu'à l'iléon terminal mais était restée en sortie d'estomac (travaux non publiés complémentaires de l'article 5, Figure 53). De plus, les prédictions du modèle en terme de temps de demi-vidange gastrique (80-110 min) sont cohérentes avec les données disponibles dans la littérature concernant l'évacuation gastrique d'un repas solide (Bernier *et al.*, 1988 ; Moore *et al.*, 1981). Ainsi, la complexification du modèle initial de vidange gastrique et son adaptation à l'ingestion de repas solides constituent une amélioration des

modèles précédemment développés au laboratoire et un apport important de notre travail de modélisation, étant donné l'influence de la vitesse d'évacuation gastrique sur les cinétiques d'absorption des AA et de l'azote alimentaires (Darcy, 1984 ; Gaudichon *et al.*, 1994), et sur leur utilisation anabolique ultérieure (Boirie *et al.*, 1997a ; Dangin *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b).

2.2. Positionnement de la qualité nutritionnelle des protéines de blé et pertinence des indices classiques de la qualité protéique

Dans un premier temps, les données expérimentales que nous avons obtenues chez des sujets sains ayant ingéré des protéines de blé marquées au ^{15}N nous ont permis de déterminer, *in vivo* et sous les conditions physiologiques de l'ingestion d'un repas mixte solide (biscottes), la digestibilité iléale « vraie » et l'utilisation postprandiale protéique nette (UPPN) de l'azote des protéines de blé chez l'homme, respectivement calculée comme la proportion de l'azote ingéré qui n'est pas retrouvé au niveau de l'iléon terminal et la proportion de l'azote absorbé qui n'est pas retrouvé dans les urines et l'urée corporelle au terme des 8h postprandiales (article 5). Nos résultats indiquent que la digestibilité iléale « vraie » des protéines de blé, bien qu'elle reste inférieure à la digestibilité iléale « vraie » des protéines animales (lait) de référence (**Tableau 10**) (Gaudichon *et al.*, 1999), est élevée et proche de celle d'autres protéines végétales déjà étudiées au laboratoire (Gausseres *et al.*, 1997 ; Mariotti *et al.*, 2000b ; Mariotti *et al.*, 2001 ; Mariotti *et al.*, 2002). Ainsi, l'ingestion de protéines de blé au sein d'un repas mixte induit des pertes iléales d'azote alimentaire similaires à celles qu'engendre l'ingestion d'autres protéines végétales, comme le pois, le lupin et le soja, protéine végétale de référence. A l'inverse, nos résultats indiquent que les protéines de blé sont plus fortement désaminées que les autres protéines alimentaires animales (lait) et végétales (soja, pois, lupin) déjà étudiées au laboratoire (Gaudichon *et al.*, 1999 ; Mariotti *et al.*, 2000b ; Mariotti *et al.*, 2001 ; Mariotti *et al.*, 2002). De ce fait, l'UPPN de l'azote des protéines de blé ne s'élève qu'à 66% des quantités ingérées, contre 74% pour les protéines de lait et de lupin, et 71% pour les protéines de soja et de pois (Tableau 10) (Mariotti *et al.*, 2001 ; Mariotti *et al.*, 2002 ; Morens *et al.*, 2003). Ainsi, la rétention postprandiale de l'azote des protéines de blé atteint 89% de celle du lait et 94% de celle du soja (Morens *et al.*, 2003). Ces valeurs confèrent aux protéines de blé une meilleure qualité nutritionnelle que celle escomptée à partir des indices chimiques classiquement utilisés, puisque le PD-CAAS du blé n'excède pas 40% de celui des protéines animales et végétales de référence (Tableau 10). Ceci souligne le besoin de

reconsidérer l'utilisation d'indices chimiques comme le PD-CAAS pour mesurer la qualité des protéines alimentaires (Deutz *et al.*, 1998 ; Fouillet, 2002 ; Mariotti *et al.*, 2001 ; Millward, 1997 ; Tome & Bos, 2000). Cet indice compare la composition en AA indispensables de la protéine étudiée à celle d'une protéine virtuelle de référence, censée couvrir les besoins en AA indispensables (FAO/WHO, 1990). En outre, le fait que l'azote des protéines de blé soit mieux retenu que prévu par les indices chimiques classiques de la qualité protéique pourrait refléter la capacité de l'organisme à gérer une déficience alimentaire aiguë en lysine (l'AA limitant des protéines de blé), en particulier chez des sujets ayant un apport habituel excédentaire en cet AA (Millward *et al.*, 2000).

En outre, la modélisation compartimentale permet de fournir des indices plus détaillés de la qualité protéique, puisqu'elle permet d'étudier le devenir métabolique de l'azote alimentaire au niveau régional, et en particulier d'évaluer son utilisation pour les synthèses protéiques périphériques (articles 6 et 7). Les modèles que nous avons développés ont ainsi permis de montrer que, 8 heures après l'ingestion d'un repas, la rétention d'azote alimentaire a lieu majoritairement dans la zone splanchnique, avec 37-44% de l'azote ingéré incorporé dans les protéines splanchniques totales (dont 7-8% dans les protéines splanchniques exportées), contre seulement 10-20% dans les protéines périphériques selon la nature des protéines ingérées (lait, soja ou blé) et le niveau préalable d'apport protéique (normoprotéique ou hyperprotéique) (**Tableau 11**). Ces résultats sont en accord avec les rares données correspondantes dans la littérature, obtenues essentiellement chez l'animal (Bos *et al.*, 2002b ; Deutz *et al.*, 1998 ; Morens *et al.*, 2000 ; Morens *et al.*, 2001 ; Stoll *et al.*, 1997 ; Stoll *et al.*, 1998a ; Stoll *et al.*, 1999b) et chez l'homme uniquement pour les protéines splanchniques exportées qui sont plus facilement accessibles à la mesure (Morens *et al.*, 2003). La modélisation compartimentale a ainsi permis de montrer que la conséquence d'une moins bonne rétention corporelle de l'azote des protéines alimentaires affecte l'anabolisme périphérique, que ce soit pour les protéines de blé vs. de lait ou de soja ou pour les protéines de soja vs. de lait, tandis que son incorporation dans les protéines splanchniques constitutives et exportées n'est que peu modifiée (**Tableau 12**, comparaison des résultats des articles 6 et 7).

2.3. Modulation de l'utilisation métabolique régionale de l'azote alimentaire par des facteurs qualitatifs et quantitatifs de l'apport protéique

Les données expérimentales que nous avons été amenés à analyser par modélisation compartimentale en utilisant des modèles décrivant les phénomènes d'absorption, d'extraction splanchnique et de métabolisme ultérieur en zone périphérique, recouvrent différentes sources protéiques (lait et soja dans l'article 7, et blé dans l'article 6) et différents niveaux préalables d'apport protéique (NP et HP, articles 6 et 7). Analysés ensemble et/ou comparés entre eux, nos résultats permettent d'étudier l'influence de facteurs qualitatifs (nature de la protéine ingérée) et quantitatifs (niveau habituel d'apport protéique) de l'apport protéique sur l'utilisation métabolique postprandiale de l'azote alimentaire chez l'homme au niveau du corps entier mais aussi des zones splanchniques et périphériques.

2.3.1. **Modulation de la rétention corporelle totale des protéines alimentaires**

Au niveau du corps entier, l'analyse des données expérimentales brutes obtenues dans l'étude de l'article 6 indique que l'élévation du niveau habituel d'apport protéique de $1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (NP) à $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (HP) induit une diminution d'environ 10% de l'utilisation postprandiale (UPPN) des protéines de blé, ce qui est cohérent avec la baisse d'UPPN observée chez des sujets ayant ingéré des protéines de lait ou de soja, après adaptation successive à ces mêmes régimes NP et HP (Morens *et al.*, 2003). En comparant les résultats obtenus lors de l'ensemble de ces études (**Figure 59**), nous constatons que l'augmentation du niveau habituel d'apport protéique affecte davantage l'UPPN des protéines de blé (-10%) que celle des protéines de lait (-5%), alors qu'elle affecte moins l'UPPN des protéines de blé que celle des protéines de soja (-15%) (Morens *et al.*, 2003). Ceci nuance à première vue l'hypothèse de Morens *et al.*, selon laquelle l'augmentation du niveau habituel d'apport protéique accentuerait les différences d'utilisation postprandiale de l'azote alimentaire entre les différentes sources protéiques (Morens *et al.*, 2003), puisque la rétention postprandiale des protéines de blé ne semble pas davantage altérée que celle des protéines de soja en condition HP. Ces résultats obtenus pour les protéines de blé pourraient refléter la capacité de l'organisme à gérer une déficience alimentaire aiguë en lysine dans un contexte d'apport excédentaire en cet AA (Millward *et al.*, 2000) et/ou pourraient s'expliquer par des différences cinétiques de mise à disposition de l'azote alimentaire dans le pool précurseur splanchnique après l'ingestion d'un repas liquide (soja) vs. solide (blé), comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant.

2.3.2. Modulation du métabolisme régional des protéines alimentaires

Au niveau régional, l'analyse compartimentale des six groupes de données expérimentales (article 6 : Blé NP, Blé HP ; article 7 : Lait NP, Lait HP, Soja NP, Soja HP) nous a permis d'améliorer notre compréhension des mécanismes impliqués dans la modulation du métabolisme splanchnique et périphérique de l'azote alimentaire par différents facteurs de l'alimentation, en particulier par la nature de la protéine ingérée et le niveau habituel d'apport protéique.

Tout d'abord, les résultats obtenus dans ces deux études soulignent l'influence prépondérante des cinétiques gastro-intestinales dans le profil d'apparition (rapide *vs.* lente et/ou massive *vs.* modérée) de l'azote alimentaire dans le pool précurseur d'AA libres splanchniques, profil qui conditionne son utilisation ultérieure pour la production d'urée et les synthèses protéiques splanchniques, l'azote alimentaire échappant à cette extraction splanchnique étant finalement rendu disponible pour la périphérie. Ainsi, nos résultats montrent que l'apparition de l'azote alimentaire dans le pool d'AA libres splanchniques est augmentée et légèrement accélérée lorsque les sujets passent d'un régime NP à un régime HP, quelle que soit la protéine ingérée (articles 6 et 7). Dans tous les cas, ces modifications de l'apparition de l'azote alimentaire dans le pool précurseur splanchnique reflètent celles de son flux d'absorption intestinale, qui est à la fois plus rapide et pique plus haut lorsque le niveau habituel d'apport protéique est augmenté (**Figure 60**, articles 6 et 7). Cependant, ces variations induites par le niveau habituel d'apport protéique ne suivent pas nécessairement celles de la vidange gastrique : en effet, l'évacuation gastrique de l'azote alimentaire est ralentie en condition HP *vs.* NP après l'ingestion des repas lait et soja (article 7), tandis qu'elle est accélérée après l'ingestion du repas blé (article 6), les rares données disponibles dans la littérature concernant l'influence du régime d'adaptation sur les vitesses de vidange gastrique étant elles aussi contradictoires (Morens *et al.*, 2001 ; Shi *et al.*, 1997). Nos résultats ont également permis de montrer que la nature de la protéine ingérée module les cinétiques d'apparition de l'azote alimentaire dans le pool précurseur splanchnique. Ainsi, l'azote des protéines de soja est absorbé plus vite que celui des protéines de lait, ce qui conduit à une mise à disposition plus brutale et massive de l'azote alimentaire dans le pool d'AA libres splanchniques et entraîne une activation simultanée de la protéosynthèse et de l'oxydation dans cette zone (Figure 60, article 7), en accord avec les données disponibles dans la littérature concernant l'effet de protéines rapides *vs.* lentes (Boirie *et al.*, 1997a ; Bos *et al.*, 2003a ; Dangin *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b ; Lacroix *et al.*, 2006). En outre, nos résultats indiquent qu'il existe une forte corrélation entre

le taux d'absorption intestinale proximale de l'azote alimentaire et ses taux d'utilisation splanchnique pour la production d'urée et les synthèses protéiques après l'ingestion de protéines de lait ou de soja, quelle que soit le niveau préalable d'apport protéique (**Figure 61**). D'une manière générale, ces effets cinétiques induisent une utilisation plus importante de l'azote alimentaire pour la production d'urée lorsque les sujets passent d'un régime NP à un régime HP (articles 6 et 7) ou lorsqu'ils ingèrent des protéines de soja vs. de lait (article 7), alors que l'augmentation de son utilisation pour les synthèses protéiques locales n'est que transitoire (articles 6 et 7). Ainsi, l'incorporation à 8h de l'azote alimentaire dans les protéines splanchniques n'est pas affectée par l'élévation du niveau habituel d'apport protéique (Tableau 12), en accord avec ce que nous avons déjà constaté concernant les protéines splanchniques exportées vers le sang lors d'une précédente étude menée au laboratoire chez des sujets sains ayant ingéré des protéines de lait ou de soja (Morens *et al.*, 2003). En conséquence, lors d'une augmentation chronique de l'apport protéique, la plus forte désamination des AA alimentaires, associée à leur rétention stable dans la zone splanchnique, est à l'origine de leur moindre disponibilité pour la périphérie (articles 6 et 7). En outre, il semble que la composition en AA libérés vers la périphérie constitue le principal facteur de modulation de l'utilisation anabolique périphérique de l'azote alimentaire, comme cela a déjà été suggéré (Bos *et al.*, 2003a ; Fouillet *et al.*, 2002b) : les protéines de lait, plus riches en AA à chaîne ramifiée par rapport aux protéines de soja, stimuleraient davantage les protéosynthèses musculaires (article 7).

Enfin, les modèles développés au cours de mes travaux de thèse (articles 6 et 7) intègrent en particulier, par rapport aux modèles précédemment développés au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet *et al.*, 2003), une voie d'échange supplémentaire qui leur permettent de prendre en compte le recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique d'origine alimentaire. D'après l'ensemble des résultats obtenus pour les protéines de lait, de soja et de blé, ce recyclage semble constituer un volant d'action important pour l'épargne azotée (**Figure 62**) : en effet, il est d'autant plus important que les protéines ingérées sont fortement désaminées et donc de qualité moyenne (lait < soja < blé), et dans une moindre mesure, que le niveau habituel d'apport protéique est restreint (HP < NP). Ainsi, l'efficacité du recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique d'origine alimentaire, calculée comme la proportion de l'azote alimentaire utilisé pour la production d'urée qui est ensuite réincorporé dans le pool d'AA libres splanchniques, passe après doublement des apports protéiques habituels de 8 à 5%, de 25 à 15% et de 30 à 25% 8h après l'ingestion de protéines de lait, de soja et de blé, respectivement. Nos résultats constituent à notre connaissance les premières données obtenues

chez l'homme concernant le recyclage de l'azote alimentaire à l'état nourri. Ces résultats nous ont ainsi progressivement amenés à nous intéresser plus particulièrement aux cinétiques postprandiales de l'urée, et à leur modulation par différents facteurs quantitatifs et qualitatifs de l'apport protéique. Pour cela, nous avons développé un modèle régional à 4 compartiments qui décrit les phénomènes splanchniques de production et de recyclage entéro-hépatique de l'urée (article 8). Ce modèle régional est en réalité un sous-système des modèles précédemment développés, mais contrairement à ces derniers, il ne s'intéresse pas uniquement au devenir métabolique de l'azote alimentaire, mais également à celui de l'azote endogène. En effet, ce modèle permet, à partir de données obtenues aux niveaux sanguin et urinaire, de déterminer les quantités d'azote alimentaire et d'azote total participant à la production, à l'excrétion et à l'hydrolyse de l'urée pendant la phase postprandiale. Ces derniers travaux nous ont permis, à partir des données obtenues pour le blé (article 6), le lait et le soja (article 7), de déterminer les effets de la nature de la protéine ingérée (lait *vs.* soja *vs.* blé) et du niveau habituel d'apport protéique (NP *vs.* HP) sur les cinétiques postprandiales de l'urée.

3. Modélisation des cinétiques postprandiales de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée

3.1. Limites des méthodes classiques d'investigation des cinétiques de l'urée et développement d'une technique alliant expérimentation clinique et modélisation

L'urée étant métabolisée dans la lumière intestinale sous l'action de l'uréase bactérienne, la production « vraie » d'urée ne peut être estimée à partir de la simple mesure de son excrétion urinaire, même si cette valeur est ensuite corrigée des variations du contenu en urée du pool d'urée corporelle (Walser & Bodenlos, 1959). Ce constat a conduit au développement de différentes méthodes expérimentales permettant de déterminer directement le taux de production d'urée chez l'homme grâce à l'administration d'isotopes stables de l'urée. Dans les études pionnières (Long *et al.*, 1978 ; Picou & Phillips, 1972 ; Walser & Bodenlos, 1959), une dose unique de traceur était administrée par voie intraveineuse, et la mesure du taux d'apparition de l'urée nécessitait de suivre la disparition plasmatique et l'apparition urinaire du traceur sur une longue période (généralement 24 ou 48h). Depuis les années 1980, d'autres équipes ont développé des méthodes permettant d'atteindre plus rapidement l'équilibre isotopique dans le plasma, et ce grâce à l'administration préalable d'une dose amorce

(« primed dose ») importante de traceur (El-Khoury *et al.*, 1994 ; Jackson *et al.*, 1984 ; Jackson *et al.*, 1993 ; Jahoor & Wolfe, 1987 ; Matthews & Downey, 1984 ; Oosterveld *et al.*, 2005 ; Rypins *et al.*, 1980 ; Wolfe, 1981). Ces méthodes ne diffèrent que par la nature du traceur utilisé ($[^{15}\text{N}, ^{15}\text{N}]$ -urée ou $[^{13}\text{C}]$ -urée) et/ou par son mode d'administration (perfusion intraveineuse ou intragastrique, ou petits bolus répétés intraveineux ou oraux...). Ainsi, une méthode classique consiste à administrer le traceur par voie intraveineuse de manière continue durant plusieurs heures, après en avoir initialement injecté une dose amorce (El-Khoury *et al.*, 1994 ; Jahoor & Wolfe, 1987 ; Matthews & Downey, 1984 ; Wolfe, 1981). Cette méthode a été largement utilisée pour étudier les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée sous différentes conditions nutritionnelles ou physiopathologiques chez l'homme (Carraro *et al.*, 1993 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; Faber *et al.*, 2003 ; Manary *et al.*, 2002 ; Wolfe *et al.*, 1982 ; Yu *et al.*, 1995a). Cependant, si cette méthode a permis d'estimer les cinétiques de l'urée à l'état stationnaire postabsorptif, elle est peu adaptée à l'étude de ces cinétiques à l'état nourri, car elle nécessite d'administrer les nutriments d'une manière peu physiologique (par perfusion intraveineuse ou intragastrique continue). Ce mode d'administration des nutriments shunte les phénomènes cinétiques qui suivent l'ingestion normale du repas sous forme de bolus (Fouillet *et al.*, 2002a). En outre, une étude récente a montré que cette méthode ne permet pas de rendre compte de manière précise des variations à court terme de la production d'urée : en effet, elle sous-estime considérablement le taux de production d'urée à l'état nourri non stationnaire (Hamadeh & Hoffer, 1998). Ainsi, dans les quelques travaux qui utilisent cette méthode pour étudier les cinétiques de l'urée à l'état nourri (El-Khoury *et al.*, 1994 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; Langran *et al.*, 1992 ; Oosterveld *et al.*, 2005), les valeurs obtenues pour la production et l'hydrolyse postprandiales de l'urée sont très faibles (voire nulles) et toujours inférieures à celles obtenues à l'état postabsorptif, ce qui paraît peu vraisemblable (Hamadeh & Hoffer, 1998).

Toujours dans notre optique générale de travail qui consistait à aborder l'état nourri dans sa dimension physiologique réelle (repas sous forme de bolus et phénomènes postprandiaux non stationnaires), la dernière partie de nos travaux a consisté à développer une méthode capable de déterminer de manière fiable les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme (article 8). Cette méthode repose sur l'utilisation conjointe d'un protocole expérimental de type traceur et d'une analyse par modélisation compartimentale des données obtenues. Au niveau expérimental, c'est l'azote du repas qui est marqué et administré sous forme de bolus (au contraire des méthodes présentées précédemment où c'est l'urée qui était marquée et administrée de manière continue (El-

Khoury *et al.*, 1994 ; Jackson *et al.*, 1984 ; Matthews & Downey, 1984 ; Wolfe, 1981)), suivant un protocole peu invasif et classiquement utilisé au laboratoire : les sujets ingèrent un repas contenant des protéines marquées uniformément et intrinsèquement au ^{15}N , et les cinétiques postprandiales de l'azote alimentaire et total (alimentaire et endogène) sont suivies pendant 8h dans certains pools métaboliques facilement accessibles grâce à des prises de sang (protéines plasmatiques et urée corporelle) et le recueil des urines (urée urinaire). Les données ainsi obtenues sont ensuite utilisées pour déterminer les cinétiques postprandiales de l'azote uréique, d'origine alimentaire comme totale, à l'aide d'un modèle mathématique basé sur des équations non stationnaires et qui repose sur le concept d'un pool précurseur unique pour la synthèse de l'urée et des protéines splanchniques exportées vers la circulation sanguine (**Figure 63**).

3.2. Prédictions et fiabilité de la nouvelle technique

Nous avons développé et utilisé cette nouvelle méthode afin d'étudier l'influence conjointe de facteurs qualitatifs (nature de la protéine dans le repas) et quantitatifs (niveau habituel d'apport protéique dans le régime) sur les cinétiques postprandiales de l'urée chez l'homme (article 8). Pour ce faire, nous avons utilisé différentes données expérimentales précédemment obtenues au laboratoire (celles présentées dans les articles 6 et 7), chez des sujets sains ayant ingéré un repas mixte contenant un certain type de protéines (lait, soja ou blé) en deux occasions successives : la première fois après 7 jours d'adaptation à un régime normoprotéique (NP : $1 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$) et la seconde fois après 7 jours d'adaptation à un régime hyperprotéique (HP : $2 \text{ g.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$). Lors de chacun de ces deux tests postprandiaux, les cinétiques de l'azote alimentaire et total ont été mesurées dans les pools plasmatiques et urinaires suivis, puis analysées par la technique mise en place, ce qui a permis de déterminer les cinétiques postprandiales de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'azote uréique, et leur modulation sous l'effet de variations quantitatives et qualitatives de l'apport protéique.

Dans l'ensemble de ces conditions d'apport, les différentes valeurs moyennes obtenues sur la période postprandiale pour la production, l'excrétion et l'hydrolyse d'azote uréique sont tout à fait cohérentes avec les données correspondantes de la littérature couvrant des conditions nutritionnelles variées chez le sujet sain. En effet, nous obtenons selon les groupes les valeurs récapitulées dans le **Tableau 13**, qui correspondent aux valeurs moyennes suivantes sur les 8h postprandiales : $9\text{-}17 \text{ mg N.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour la production, $6\text{-}10 \text{ mg N.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour l'excrétion et $1\text{-}10 \text{ mg N.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour l'hydrolyse d'azote uréique total, ces estimations étant en accord avec

les valeurs précédemment rapportées dans la littérature, qui varient selon les conditions nutritionnelles testées entre 6-16 mg N.kg⁻¹.h⁻¹ pour la production, 4-13 mg N.kg⁻¹.h⁻¹ pour l'excrétion et 1-4 mg N.kg⁻¹.h⁻¹ pour l'hydrolyse d'azote uréique total (Carraro *et al.*, 1993 ; El-Khoury *et al.*, 1994 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; El-Khoury *et al.*, 1997 ; Langran *et al.*, 1992 ; McClelland & Jackson, 1996). Ces valeurs de la littérature ne sont cependant pas spécifiques de l'état postprandial mais représentent une moyenne quotidienne mesurée à l'état stationnaire (elles ont généralement été mesurées sur 24h), les rares données obtenues à l'état nourri étant peu fiables et considérablement plus faibles : moins de 4 mg N.kg⁻¹.h⁻¹ pour la production et l'excrétion d'urée, et une hydrolyse quasiment nulle (El-Khoury *et al.*, 1994 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; Langran *et al.*, 1992). Si l'on considère que la production d'urée a été sous-estimée d'au moins 20 à 30% dans ces études menées à l'état nourri (Hamadeh & Hoffer, 1998), l'hydrolyse s'élèverait alors à ~1-2 mg N.kg⁻¹.h⁻¹, ce qui correspondrait alors tout juste à la limite basse de la fourchette de valeurs que nous avons obtenues (Tableau 13). Nos résultats indiquent ainsi que l'hydrolyse de l'urée, qu'on savait déjà importante en phase postabsorptive, est également un phénomène perceptible et sensible en phase postprandiale, davantage que ne le laissent supposer les études précédemment menées à l'état nourri (El-Khoury *et al.*, 1994 ; El-Khoury *et al.*, 1996 ; Langran *et al.*, 1992). Ainsi, la capacité d'hydrolyse, calculée comme la proportion d'urée produite qui est hydrolysée, est déjà très importante en phase postprandiale, puisqu'elle varie entre 15 et 60% après 8h (40% en moyenne sur tous les groupes pour la période postprandiale), ce qui correspond aux données de la littérature obtenues sur 24h (i.e., une moyenne sur la journée des phases postprandiale et postabsorptive) qui varient entre 20 et 65% (40% en moyenne) chez des sujets préalablement habitués à différents niveaux – normaux ou élevés – d'apport protéique (Badaloo *et al.*, 1999 ; Bickerton *et al.*, 1996 ; El-Khoury *et al.*, 1997 ; Faber *et al.*, 2003 ; Jackson *et al.*, 1990 ; Langran *et al.*, 1992 ; McClelland & Jackson, 1996). En outre, cette nouvelle méthode qui utilise un modèle régional pour simuler les cinétiques de l'urée totale et d'origine alimentaire fournit des données concernant la production, l'excrétion et l'hydrolyse d'urée d'origine alimentaire (Tableau 13) qui sont parfaitement en accord avec celles précédemment obtenues par le biais d'un modèle compartimental global du métabolisme azoté (**Tableau 14**, articles 6 et 7), en procédant à l'analyse des mêmes données expérimentales (Lait NP et HP, Soja NP et HP, Blé NP et HP). En particulier, nous obtenons moins de 5% de différence entre les valeurs de production d'urée (Tableaux 13 et 14) prédites par le modèle global (Figure 55) et celles estimées par le modèle régional (Figure 63). La méthode que nous avons développée semble donc permettre de déterminer de manière fiable les cinétiques de production, d'excrétion et

d'hydrolyse de l'urée (d'origines alimentaire et totale) à l'état postprandial non stationnaire chez l'homme. En outre, il est intéressant de noter que, quelles que soient les conditions nutritionnelles, la source alimentaire participe toujours à hauteur de 20% à la production d'urée totale en phase postprandiale, contre 10% à l'excrétion urinaire et à l'hydrolyse de l'urée totale (Tableau 13).

3.3. Modulation des cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée par des facteurs qualitatifs et quantitatifs de l'apport protéique

Nos résultats montrent que les cinétiques de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée s'adaptent à des variations aiguës et/ou chroniques, qualitatives et/ou quantitatives, de l'apport protéique (article 8). Tout d'abord, nos résultats ont montré que si l'excrétion urinaire d'urée totale dépend du niveau habituel d'apport protéique, le taux d'excrétion urinaire d'urée n'est modulé ni par la source protéique ni par le niveau habituel d'apport : 8 à 9 % de l'azote présent dans le pool précurseur d'urée corporelle est excrété dans les urines par heure en phase postprandiale, quelques soient les conditions nutritionnelles étudiées (**Tableau 15**). De ce fait, le profil d'excrétion urinaire de l'azote uréique total ne dépend que des variations de la taille du pool précurseur d'urée corporelle en fonction des conditions nutritionnelles étudiées. Ainsi, l'excrétion urinaire d'azote total augmente significativement lors d'une augmentation chronique de l'apport (après l'adaptation à un régime HP vs. NP), mais ne varie pas en réponse à des variations aiguës de l'apport (ingestion de différentes protéines alimentaires). Cela conforte l'idée que l'azote urinaire est un bon marqueur du niveau habituel d'apport (Bingham, 2003), et appuie son utilisation dans les enquêtes alimentaires pour valider les estimations de l'apport protéique dans le régime (Bingham & Cummings, 1985 ; Isaksson, 1980).

Au contraire de son excrétion urinaire, la production postprandiale d'urée totale semble répondre à des modifications aiguës qualitatives de l'apport protéique. En effet, elle est significativement plus importante 8 heures après l'ingestion de protéines végétales que de protéines animales, et ce quel que soit le niveau habituel d'apport protéique (Tableau 13). Cela provient de la désamination plus importante des AA issus des protéines végétales ingérées, et s'explique par des différences de cinétiques digestives et/ou de composition en AA des sources protéiques considérées (Boirie *et al.*, 1997a ; Bos *et al.*, 2003a ; Bos *et al.*, 2005 ; Dangin *et al.*, 2001 ; Fouillet *et al.*, 2002b). Par contre, lors d'une augmentation chronique de l'apport protéique (après l'adaptation à un régime HP vs. NP), bien que la

capacité relative pour la production d'urée (calculée comme le rapport des taux de production d'urée et de synthèse des protéines splanchniques exportées, Tableau 15) soit stimulée, la quantité d'urée totale produite après l'ingestion d'une dose fixe de protéines (la même que celle ingérée avant l'augmentation des apports) n'augmente que temporairement durant les premières heures postprandiales et n'est plus significativement différente après 8h. Pour comparer nos résultats aux données de la littérature, il faut bien faire attention à les interpréter en terme de capacité de production d'urée plutôt qu'en terme de quantité totale produite, étant donné notre contexte particulier où c'est la même dose de protéines ($0,41 \text{ g.kg}^{-1}$) qui est ingérée à l'issue des deux régimes d'adaptation. Nos résultats suggèrent ainsi que la production postprandiale d'urée totale puisse répondre à des modifications quantitatives de l'apport, alors que les études de la littérature restent contradictoires à ce sujet, la plupart rapportant une augmentation de la production d'urée en réponse à une augmentation du niveau d'apport protéique (Forslund *et al.*, 1998 ; Young *et al.*, 2000a), alors que certaines trouvent au contraire des taux relativement constants de production d'urée pour différents niveaux d'apport protéique (Jackson, 1998).

Enfin, nos résultats indiquent que l'hydrolyse de l'urée totale dépend fortement de son profil d'apparition dans le pool d'urée corporelle, ce qui fait que l'hydrolyse de l'urée est fortement corrélée à la production d'urée (**Figure 64**). En particulier, on constate que l'hydrolyse d'urée devient substantielle pour un niveau de production d'urée plus important après l'adaptation à un régime HP vs. NP, ce qui indique que pour un même niveau de production d'urée, l'hydrolyse est davantage moins en condition HP. En outre, l'hydrolyse de l'urée suit le même profil de variation que la production d'urée lors de variations qualitatives aiguës de l'apport : elle augmente après l'ingestion de protéines végétales vs. animales (Tableau 13). Par ailleurs, l'efficacité de l'épargne d'azote uréique total, i.e., la proportion d'urée totale produite qui est hydrolysée dans l'intestin, serait diminuée quand l'apport protéique augmente (Tableau 13), ce qui confirme des résultats précédemment obtenus chez l'adulte en bonne santé (Forslund *et al.*, 1998) et chez l'enfant dénutri (Jackson *et al.*, 1990). Enfin, cette efficacité de l'épargne d'azote uréique total est augmentée après l'ingestion de protéines végétales vs. animales, ce qui semble indiquer que le métabolisme de l'urée s'adapte non seulement à des variations quantitatives (Langran *et al.*, 1992 ; Meakins & Jackson, 1996), mais aussi qualitatives de l'apport protéique. Ces résultats sont particulièrement intéressants, l'importance du recyclage entéro-hépatique de l'urée étant une problématique récurrente dans la littérature, largement discutée et sujette à controverse (Forslund *et al.*, 1998 ; Jackson, 1998 ; Young *et al.*, 2000a).

Pour conclure, nos travaux de thèse ont permis d'améliorer les méthodes et les outils de modélisation existants au laboratoire, ainsi que d'approfondir nos connaissances concernant le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme, et certains de ses facteurs de modulation.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Nos travaux de thèse s'inscrivent dans la démarche récemment initiée au laboratoire (Fouillet *et al.*, 2000 ; Fouillet, 2002) de modélisation compartimentale du système physiologique et nutritionnel complexe que constitue le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire chez l'homme. Cette approche modélistique s'était déjà avérée très prometteuse puisqu'elle avait permis d'explorer et d'acquérir des connaissances nouvelles sur différents phénomènes métaboliques impliqués dans l'homéostasie des protéines de l'organisme, phénomènes qui n'étaient pas directement accessibles à la mesure expérimentale chez l'homme. En particulier, les précédents travaux de modélisation compartimentale avaient pu montrer que l'ingestion de protéines de soja au sein d'un repas protéique mixte, par rapport à celle de protéines de lait, induisait une utilisation anabolique de l'azote alimentaire nettement plus faible dans les tissus périphériques (Fouillet *et al.*, 2002b). Ainsi, les modèles précédemment développés avaient déjà permis d'évaluer, de comparer et d'expliquer la valorisation régionale spécifique de différentes sources protéiques en phase de gain postprandial chez l'homme.

Dans nos travaux de thèse, nous nous sommes intéressés plus spécifiquement aux effets croisés de variations quantitatives (niveau habituel d'apport protéique) et qualitatives (nature de la source protéique) de l'apport protéique sur la distribution postprandiale et l'utilisation métabolique régionale de l'azote alimentaire chez l'homme. A l'aide de données obtenues par des méthodes assez peu invasives dans certains pools azotés accessibles de l'organisme, nous avons ainsi développé différents modèles compartimentaux permettant de prédire le devenir métabolique de l'azote alimentaire au niveau du corps entier et à l'état nourri non stationnaire. Nous avons ainsi pu montrer que la moindre rétention postprandiale de l'azote des protéines du repas, observée au niveau du corps entier après l'élévation du niveau habituel d'apport protéique, se traduit principalement par une rétention et une utilisation anabolique de l'azote alimentaire fortement diminuée au niveau des tissus périphériques. En outre, nous avons développé un modèle régional (4 compartiments) du métabolisme azoté, afin d'explorer plus spécifiquement les cinétiques postprandiales de production, d'excrétion et d'hydrolyse de l'urée sous différentes conditions nutritionnelles. Ces derniers travaux ont permis de mettre en lumière l'importance du recyclage entéro-hépatique de l'azote uréique pour l'épargne azotée, phénomène qui est d'autant plus important que les protéines ingérées sont de mauvaise qualité et fortement désaminées, et dans une moindre mesure, que le niveau habituel d'apport protéique est limité. Ainsi, les modèles que nous avons développés se sont avérés des outils

de choix pour évaluer la qualité de l'apport protéique en phase postprandiale, et pourraient être à l'origine de l'élaboration de stratégies nutritionnelles adaptées à différentes situations physiopathologiques.

Cependant, les modèles que nous avons développés comportent, comme toute représentation mathématique d'un système biologique, d'importantes simplifications ou approximations des phénomènes étudiés. Ainsi, certains processus impliqués dans le métabolisme postprandial de l'azote alimentaire ont été agrégés en une seule et même voie de transfert (e.g., la synthèse de protéines splanchniques et leur exportation ultérieure vers la circulation sanguine), d'autres phénomènes métaboliques ont été négligés lors de la période postprandiale considérée (e.g., la dégradation des protéines splanchniques nouvellement synthétisées et exportées dans le sang), ou encore certaines lois de transfert de l'azote alimentaire ont été supposées linéaires, alors qu'on connaît par ailleurs leur nature non-linéaire (e.g., le phénomène saturable d'absorption intestinale de l'azote et des AA alimentaires). Ces simplifications ont été rendues nécessaires soit parce que ces phénomènes pouvaient effectivement être simplifiés, agrégés ou omis lors des périodes et des situations considérées, soit parce que les données expérimentales utilisées pour calibrer nos modèles n'étaient pas suffisamment informatives pour permettre un tel niveau de détail. Les résultats de modélisation obtenus doivent donc être interprétés avec précaution, en gardant à l'esprit les hypothèses simplificatrices posées. En outre, nos travaux de thèse ont permis de confirmer et/ou de mettre à jour les différentes limitations des outils et des techniques de modélisation utilisés dans notre domaine de recherche pour le développement de modèles compartimentaux complexes. En effet, nous avons constaté qu'à la fois les méthodes de résolution du problème d'identifiabilité théorique *a priori* des modèles, et celles du problème d'estimation numérique de leurs paramètres, se heurtent à des difficultés majeures, computationnelles ou numériques, dès lors que le modèle présente un (trop) grand nombre de compartiments et/ou de voies de transfert. Ces difficultés ne semblent pas pouvoir être surmontées dans un avenir proche, ce qui, vraisemblablement, va freiner le développement de modèles compartimentaux complexes du métabolisme azoté, d'autant qu'on dispose de peu de connaissances *a priori* sur ce système. En conséquence, l'une des perspectives de poursuite de notre travail consiste à s'orienter vers le développement de modèles régionaux du métabolisme azoté, afin d'une part de réduire la taille des modèles développés et donc les difficultés techniques rencontrées lors de leur identification structurelle et numérique, et d'autre part d'explorer plus précisément certains mécanismes métaboliques locaux contrôlant la digestion, l'absorption, l'assimilation ou l'élimination de l'azote ingéré. En particulier, il serait très intéressant d'essayer d'ouvrir la « boîte noire » que représente la

zone splanchnique, afin de distinguer le métabolisme intestinal du métabolisme hépatique, et d'évaluer leur contribution respective au métabolisme splanchnique total. Ou encore, il serait intéressant de développer un modèle régional des cinétiques gastro-intestinales de l'azote alimentaire, afin de mieux décrire les phénomènes postprandiaux de digestion des protéines du repas et d'absorption intestinale des AA ainsi libérés, étant donné l'importance de ces phénomènes sur le métabolisme ultérieur des AA dans l'organisme. Ceci nécessiterait l'acquisition de nouvelles données expérimentales, ce qui montre bien que la modélisation ne se substitue pas à l'expérimentation, mais qu'au contraire, elle stimule souvent la mise en place de nouvelles explorations expérimentales. En outre, il nous semble essentiel de s'orienter progressivement lors des travaux de modélisation à venir vers des approches de type pharmacocinétique de population et contrôle optimal. En effet, les premières devraient fournir les moyens de procéder à l'estimation de la variabilité inter-individuelle du métabolisme azoté chez l'homme (en considérant les grandeurs métaboliques mesurées ou prédites sur un échantillon de sujets comme des réalisations d'une variable aléatoire dont on chercherait à estimer les lois de population et les variabilités inter-individuelles). En outre, les secondes devraient permettre de piloter le système en régulant les entrées alimentaires (composition et répartition temporelle des repas) pour atteindre des objectifs spécifiques tels que le contrôle du bilan azoté, du poids, ou de la croissance musculaire, en particulier chez des populations spécifiques (obèses, personnes âgées, sportifs...). Ces travaux ambitieux présentent un intérêt majeur en terme de recommandations nutritionnelles et de santé publique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adiels M, Packard C, Caslake MJ, Stewart P, Soro A, Westerbacka J, Wennberg B, Olofsson SO, Taskinen MR & Boren J (2005). A new combined multicompartmental model for apolipoprotein B-100 and triglyceride metabolism in VLDL subfractions. *J. Lipid. Res.* 46: 58-67.
- Ahlman B, Charlton M, Fu A, Berg C, O'Brien P & Nair KS (2001). Insulin's effect on synthesis rates of liver proteins. A swine model comparing various precursors of protein synthesis. *Diabetes* 50: 947-954.
- Alpers DH (1987). Digestion and absorption of carbohydrates and proteins. In Johnson LR, ed. *Physiology of the gastrointestinal tract*, Second edition ed. Raven Press, New-York, NY, USA.
- Anthony JC, Anthony TG, Kimball SR, Vary TC & Jefferson LS (2000a). Orally administered leucine stimulates protein synthesis in skeletal muscle of postabsorptive rats in association with increased eIF4F formation. *J Nutr* 130: 139-145.
- Anthony JC, Yoshizawa F, Anthony TG, Vary TC, Jefferson LS & Kimball SR (2000b). Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *J Nutr* 130: 2413-2419.
- Anthony TG, Reiter AK, Anthony JC, Kimball SR & Jefferson LS (2001). Deficiency of dietary EAA preferentially inhibits mRNA translation of ribosomal proteins in liver of meal-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E430-439.
- Aoki TT, Brennan MF, Muller WA, Soeldner JS, Alpert JS, Saltz SB, Kaufmann RL, Tan MH & Cahill GF, Jr. (1976). Amino acid levels across normal forearm muscle and splanchnic bed after a protein meal. *Am J Clin Nutr* 29: 340-350.
- Arfvidsson B, Zachrisson H, Moller-Loswick AC, Hyltander A, Sandstrom R & Lundholm K (1991). Effect of systemic hyperinsulinemia on amino acid flux across human legs in postabsorptive state. *Am J Physiol* 260: E46-52.
- Audoly S, D'Angio L, Saccomani MP & Cobelli C (1998). Global identifiability of linear compartmental models--a computer algebra algorithm. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 45: 36-47.
- Audoly S, Bellu G, D'Angio L, Saccomani MP & Cobelli C (2001). Global identifiability of nonlinear models of biological systems. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 48: 55-65.

- Bäck T, Eiben AE & van der Vaart NAL (2000) An empirical study on GAs "without parameters". In Science LNIC, Ed. Proceedings of the 6th International Conference on Parallel Problem Solving from Nature 1917.
- Badaloo A, Boyne M, Reid M, Persaud C, Forrester T, Millward DJ & Jackson AA (1999). Dietary protein, growth and urea kinetics in severely malnourished children and during recovery. *J Nutr* 129: 969-979.
- Baglieri A, Mahe S, Benamouzig R, Savoie L & Tome D (1995). Digestion patterns of endogenous and different exogenous proteins affect the composition of intestinal effluents in humans. *J Nutr* 125: 1894-1903.
- Balage M, Sinaud S, Prod'homme M, Dardevet D, Vary TC, Kimball SR, Jefferson LS & Grizard J (2001). Amino acids and insulin are both required to regulate assembly of the eIF4E. eIF4G complex in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E565-574.
- Balagopal P, Nair KS & Stirewalt WS (1994). Isolation of myosin heavy chain from small skeletal muscle samples by preparative continuous elution gel electrophoresis: application to measurement of synthesis rate in human and animal tissue. *Anal. Biochem.* 221: 72-77.
- Barazzoni R, Kiwanuka E, Zanetti M, Cristini M, Vettore M & Tessari P (2003). Insulin acutely increases fibrinogen production in individuals with type 2 diabetes but not in individuals without diabetes. *Diabetes* 52: 1851-1856.
- Barber MD, Fearon KC, McMillan DC, Slater C, Ross JA & Preston T (2000). Liver export protein synthetic rates are increased by oral meal feeding in weight-losing cancer patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E707-714.
- Bard Y (1974). Nonlinear parameter estimation. Academic Press, Orlando, FL, USA.
- Barle H, Nyberg B, Essen P, Andersson K, McNurlan MA, Wernerman J & Garlick PJ (1997). The synthesis rates of total liver protein and plasma albumin determined simultaneously in vivo in humans. *Hepatology* 25: 154-158.
- Barrett EJ, Gusberg R, Ferrannini E, Tepler J, Felig P, Jacob R, Smith D & DeFronzo RA (1986). Amino acid and glucose metabolism in the postabsorptive state and following amino acid ingestion in the dog. *Metabolism* 35: 709-717.
- Bastianelli D, Sauvant D & Rerat A (1996). Mathematical modeling of digestion and nutrient absorption in pigs. *J. Anim. Sci.* 74: 1873-1887.
- Battezzati A, Haisch M, Brillon DJ & Matthews DE (1999). Splanchnic utilization of enteral alanine in humans. *Metabolism* 48: 915-921.

- Beaufriere B, Dangin M & Boirie Y (2000). The 'fast' and 'slow' protein concept. In Fürst P & Young VR, eds. *Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition*. Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme.
- Beckoff K, MacIntosh CG, Chapman IM, Wishart JM, Morris HA, Horowitz M & Jones KL (2001). Effects of glucose supplementation on gastric emptying, blood glucose homeostasis, and appetite in the elderly. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 280: R570-576.
- Beliveau Carey G, Cheung CW, Cohen NS, Brusilow S & Raijman L (1993). Regulation of urea and citrulline synthesis under physiological conditions. *Biochem J* 292: 241-247.
- Bell JA, Fujita S, Volpi E, Cadenas JG & Rasmussen BB (2005). Short-term insulin and nutritional energy provision do not stimulate muscle protein synthesis if blood amino acid availability decreases. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289: E999-1006.
- Bennet WM, Connacher AA, Scrimgeour CM, Smith K & Rennie MJ (1989). Increase in anterior tibialis muscle protein synthesis in healthy man during mixed amino acid infusion: studies of incorporation of [1- ¹³C]leucine. *Clin Sci (Colch)* 76: 447-454.
- Bennet WM, Connacher AA, Scrimgeour CM, Jung RT & Rennie MJ (1990). Euglycemic hyperinsulinemia augments amino acid uptake by human leg tissues during hyperaminoacidemia. *Am J Physiol* 259: E185-194.
- Bennet WM & Haymond MW (1991). Plasma pool source for fibrinogen synthesis in postabsorptive conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 260: E581-587.
- Bernier JJ, Adrain J & Vidon N (1988). *Les aliments dans le tube digestif*. Doin, Paris, France.
- Berthold HK, Jahoor F, Klein PD & Reeds PJ (1995). Estimates of the effect of feeding on whole-body protein degradation in women vary with the amino acid used as tracer. *J Nutr* 125: 2516-2527.
- Bickerton AS, Birch R, Jackson AA, Uauy R, Persaud C, Gattas V & Barrera G (1996). Protein quality and urea kinetics in prepubertal Chilean schoolboys. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 47: 61-70.
- Bier DM (1997). Stable isotopes in biosciences, their measurement and models for amino acid metabolism. *Eur. J. Pediatr.* 156: S2-8.
- Bingham SA & Cummings JH (1985). Urine nitrogen as an independent validity measure of dietary intake: a study of nitrogen balance in individuals consuming their normal diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 42: 1276-1289.

- Bingham SA (2003). Urine nitrogen as a biomarker for the validation of dietary protein intake. *J. Nutr.* 133: 921S-924S.
- Biolo G, Chinkes D, Zhang XJ & Wolfe RR (1992a). Harry M. Vars Research Award. A new model to determine in vivo the relationship between amino acid transmembrane transport and protein kinetics in muscle. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 16: 305-315.
- Biolo G, Tessari P, Inchiostro S, Bruttomesso D, Fongher C, Sabadin L, Fratton MG, Valerio A & Tiengo A (1992b). Leucine and phenylalanine kinetics during mixed meal ingestion: a multiple tracer approach. *Am J Physiol* 262: E455-463.
- Biolo G, Gastaldelli A, Zhang XJ & Wolfe RR (1994). Protein synthesis and breakdown in skin and muscle: a leg model of amino acid kinetics. *Am J Physiol* 267: E467-474.
- Biolo G, Declan Fleming RY & Wolfe RR (1995a). Physiologic hyperinsulinemia stimulates protein synthesis and enhances transport of selected amino acids in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 95: 811-819.
- Biolo G, Fleming RY, Maggi SP & Wolfe RR (1995b). Transmembrane transport and intracellular kinetics of amino acids in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 268: E75-84.
- Biolo G, Maggi SP, Williams BD, Tipton KD & Wolfe RR (1995c). Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 268: E514-520.
- Biolo G & Tessari P (1997). Splanchnic versus whole-body production of alpha-ketoisocaproate from leucine in the fed state. *Metabolism* 46: 164-167.
- Biolo G, Tipton KD, Klein S & Wolfe RR (1997). An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *Am J Physiol* 273: E122-129.
- Birkett S & de Lange K (2001). A computational framework for a nutrient flow representation of energy utilization by growing monogastric animals. *Br. J. Nutr.* 86: 661-674.
- Bisschop PH, De Sain-Van Der Velden MG, Stellaard F, Kuipers F, Meijer AJ, Sauerwein HP & Romijn JA (2003). Dietary carbohydrate deprivation increases 24-hour nitrogen excretion without affecting postabsorptive hepatic or whole body protein metabolism in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88: 3801-3805.
- Bloomgarden ZT, Liljenquist J, Lacy W & Rabin D (1981). Amino acid disposition by liver and gastrointestinal tract after protein and glucose ingestion. *Am J Physiol* 241: E90-99.

- Bohe J, Low JF, Wolfe RR & Rennie MJ (2001). Latency and duration of stimulation of human muscle protein synthesis during continuous infusion of amino acids. *J Physiol* 532: 575-579.
- Bohe J, Low A, Wolfe RR & Rennie MJ (2003). Human muscle protein synthesis is modulated by extracellular, not intramuscular amino acid availability: a dose-response study. *J. Physiol.* 552.
- Boirie Y, Dangin M, Gachon P, Vasson MP, Maubois JL & Beaufrere B (1997a). Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 14930-14935.
- Boirie Y, Gachon P & Beaufrere B (1997b). Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. *Am J Clin Nutr* 65: 489-495.
- Boirie Y, Short KR, Ahlman B, Charlton M & Nair KS (2001). Tissue-specific regulation of mitochondrial and cytoplasmic protein synthesis rates by insulin. *Diabetes* 50: 2652-2658.
- Bos C, Mahe S, Gaudichon C, Benamouzig R, Gausseres N, Luengo C, Ferriere F, Rautureau J & Tome D (1999). Assessment of net postprandial protein utilization of [¹⁵N]-labelled milk nitrogen in humans. *Br J Nutr* 81: 221-226.
- Bos C, Gaudichon C & Tome D (2002a). Isotopic studies of protein and amino acid requirements. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 5: 55-61.
- Bos C, Stoll B, Fouillet H, Gaudichon C, Guan X, Galland MP, Grusak MA, Tome D, Reeds PJ & Burrin DG (2002b) Postprandial dietary nitrogen metabolism in piglets receiving a bolus meal. *Experimental Biology* 16. Faseb J., La Nouvelle-Orléans, USA.
- Bos C, Metges CC, Gaudichon C, Petzke KJ, Pueyo ME, Morens C, Everwand J, Benamouzig R & Tome D (2003a). Postprandial kinetics of dietary amino acids are the main determinant of their metabolism after soy or milk protein ingestion in humans. *J. Nutr.* 133: 1308-1315.
- Bos C, Stoll B, Fouillet H, Gaudichon C, Guan X, Grusak MA, Reeds PJ, Tome D & Burrin DG (2003b). Intestinal lysine metabolism is driven by the enteral availability of dietary lysine in piglets fed a bolus meal. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285: E1246-1257.
- Bos C, Juillet B, Fouillet H, Turlan L, Dare S, Luengo C, N'tounda R, Benamouzig R, Gausseres N, Tome D & Gaudichon C (2005). Postprandial metabolic utilization of wheat protein in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 87-94.

- Boudry G, Guerin S & Malbert CH (2004). Effect of an abrupt switch from a milk-based to a fibre-based diet on gastric emptying rates in pigs: difference between origins of fibre. *Br. J. Nutr.* 92: 913-920.
- Bouletreau M (2000). Mathématiques et biologie sont-elles en harmonie ? *CRNS info Spécial mathématiques*: 35-36.
- Bouteloup-Demange C, Boirie Y, Dechelotte P, Gachon P & Beaufrere B (1998). Gut mucosal protein synthesis in fed and fasted humans. *Am J Physiol* 274: E541-546.
- Bouteloup-Demange C, Claeysens S, Maillot C, Lavoigne A, Lerebours E & Dechelotte P (2000). Effects of enteral glutamine on gut mucosal protein synthesis in healthy humans receiving glucocorticoids. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 278: G677-681.
- Bregendahl K, Liu L, Cant JP, Bayley HS, McBride BW, Milligan LP, Yen JT & Fan MZ (2004). Fractional Protein Synthesis Rates Measured by an Intraperitoneal Injection of a Flooding Dose of L-[ring-2H5]Phenylalanine in Pigs. *J. Nutr.* 134: 2722-2728.
- Brosnan JT (2000). Glutamate, at the interface between amino acid and carbohydrate metabolism. *J. Nutr.* 130: 988S-990S.
- Brosnan JT (2003). Interorgan amino acid transport and its regulation. *J. Nutr.* 133: 2068S-2072S.
- Brunser O, Espinoza J & Araya M (1991) Role of the gastrointestinal tract in energy and protein metabolism. In Scrimshaw NS & Schürch B, Eds. *Protein-energy interactions*. UNU, Waterville Valey, NH, USA.
- Calbet JA & MacLean DA (1997). Role of caloric content on gastric emptying in humans. *J. Physiol.* 498: 553-559.
- Capaldo B, Gastaldelli A, Antonello S, Auletta M, Pardo F, Ciociaro D, Guida R, Ferrannini E & Sacca L (1999). Splanchnic and leg substrate exchange after ingestion of a natural mixed meal in humans. *Diabetes* 48: 958-966.
- Carraro F, Rosenblatt J & Wolfe RR (1991). Isotopic determination of fibronectin synthesis in humans. *Metabolism* 40: 553-561.
- Carraro F, Kimbrough TD & Wolfe RR (1993). Urea kinetics in humans at two levels of exercise intensity. *J. Appl. Physiol.* 75: 1180-1185.
- Carroll RJ & Ruppert D (1988). *Transformation and Weighting in Regression*. Chapman and Hall, New York, NY, USA.
- Carson ER, Cobelli C & Finkelstein L (1981). Modeling and identification of metabolic systems. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 240: 120-129.

- Carson ER & Cobelli C (2001). *Modeling Methodology for Physiology and Medicine*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Caso G, Scalfi L, Marra M, Covino A, Muscaritoli M, McNurlan MA, Garlick PJ & Contaldo F (2000). Albumin synthesis is diminished in men consuming a predominantly vegetarian diet. *J Nutr* 130: 528-533.
- Castellino P, Luzi L, Simonson DC, Haymond M & DeFronzo RA (1987). Effect of insulin and plasma amino acid concentrations on leucine metabolism in man. Role of substrate availability on estimates of whole body protein synthesis. *J Clin Invest* 80: 1784-1793.
- Castillo L, Chapman TE, Yu YM, Ajami A, Burke JF & Young VR (1993). Dietary arginine uptake by the splanchnic region in adult humans. *Am J Physiol* 265: E532-539.
- Cauchy A (1847). Méthode Générale pour la Résolution des Systèmes d'Equations Simultanées. *Comp. Rend. Acad. Sci. Paris*: 536-538.
- Causin P, dos Santos ND, Gerbeau JF, Guivier C & Métier P (2005). An embedded surface method for valve simulation. Application to stenotic aortic valve estimation. *ESAIM: Proceedings* 14: 48-62.
- Cayol M, Boirie Y, Prugnaud J, Gachon P, Beaufrere B & Obled C (1996). Precursor pool for hepatic protein synthesis in humans: effects of tracer route infusion and dietary proteins. *Am J Physiol* 270: E980-987.
- Cayol M, Boirie Y, Rambourdin F, Prugnaud J, Gachon P, Beaufrere B & Obled C (1997). Influence of protein intake on whole body and splanchnic leucine kinetics in humans. *Am J Physiol* 272: E584-591.
- Clark WA & Zak R (1981). Assessment of fractional rates of protein synthesis in cardiac muscle cultures after equilibrium labeling. *J. Biol. Chem.* 256: 4863-4870.
- Cobelli C & DiStefano JJI (1980). Parameter and structural identifiability concepts and ambiguities: a critical review and analysis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 239: 7-24.
- Cobelli C, Carson ER, Finkelstein L & Leaning MS (1984). Validation of simple and complex models in physiology and medicine. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 246: 259-266.
- Cobelli C, Saccomani MP, Ferrannini E, DeFronzo R, Gelfand R & Bonadonna R (1989). A compartmental model to quantitate in vivo glucose transport in the human forearm. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 257: E943-E958.

- Cobelli C, Saccomani MP, Tessari P, Biolo G, Luzi L & Matthews DE (1991). Compartmental model of leucine kinetics in humans. *Am. J. Physiol.* 261: E539-550.
- Cobelli C & Caumo A (1998). Using What Is Accessible to Measure That Which Is Not: Necessity of Model of System. *Metabolism* 47: 1009-1035.
- Cobelli C & Foster DM (1998). Compartmental models: theory and practice using the SAAM II software system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 445.
- Cobelli C, Caumo A & Omenetto M (1999). Minimal model SG overestimation and SI underestimation: improved accuracy by a Bayesian two-compartment model. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 277: 481-488.
- Coeffier M, Claeysens S, Hecketsweiler B, Lavoigne A, Ducrotte P & Dechelotte P (2003). Enteral glutamine stimulates protein synthesis and decreases ubiquitin mRNA level in human gut mucosa. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 285: G266-273.
- Cortamira NO, Seve B, Lebreton Y & Ganier P (1991). Effect of dietary tryptophan on muscle, liver and whole-body protein synthesis in weaned piglets: relationship to plasma insulin. *Br. J. Nutr.* 66: 423-435.
- Cremers SC, Scholten EM, Schoemaker RC, Lentjes EG, Vermeij P, Paul LC, den Hartigh J & de Fijter JW (2003). A compartmental pharmacokinetic model of cyclosporin and its predictive performance after Bayesian estimation in kidney and simultaneous pancreas-kidney transplant recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18: 1201-1208.
- Crenn P, Thuillier F, Rakatoambinina B, Rongier M, Darmaun D & Messing B (2000). Duodenal vs. gastric administration of labeled leucine for the study of splanchnic metabolism in humans. *J. Appl. Physiol.* 89: 573-580.
- Crozier SJ, Kimball SR, Emmert SW, Anthony JC & Jefferson LS (2005). Oral leucine administration stimulates protein synthesis in rat skeletal muscle. *J. Nutr.* 135: 376-382.
- D'Angelo C & Papelier Y (2005). Mathematical modelling of the cardiovascular system and skeletal muscle interaction during exercise. *ESAIM: Proceedings* 14: 72-88.
- Dangin M, Boirie Y, Garcia-Rodenas C, Gachon P, Fauquant J, Callier P, Balleve O & Beaufriere B (2001). The digestion rate of protein is an independent regulating factor of postprandial protein retention. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280: E340-E348.
- Darcy B (1984). Availability of amino acids in monogastric animals. Variations of digestive origin. *Diabete Metab.* 10: 121-133.
- Dardevet D, Sornet C, Balage M & Grizard J (2000). Stimulation of in vitro rat muscle protein synthesis by leucine decreases with age. *J Nutr* 130: 2630-2635.

- Darragh AJ, Cranwell PD & Moughan PJ (1994). Absorption of lysine and methionine from the proximal colon of the piglet. *Br. J. Nutr.* 71: 739-752.
- Davis TA, Burrin DG, Fiorotto ML & Nguyen HV (1996). Protein synthesis in skeletal muscle and jejunum is more responsive to feeding in 7-than in 26-day-old pigs. *Am J Physiol* 270: E802-809.
- Davis TA, Burrin DG, Fiorotto ML, Reeds PJ & Jahoor F (1998). Roles of insulin and amino acids in the regulation of protein synthesis in the neonate. *J. Nutr.* 128: 347S-350S.
- De Feo P, Gaisano MG & Haymond MW (1991). Differential effects of insulin deficiency on albumin and fibrinogen synthesis in humans. *J Clin Invest* 88: 833-840.
- De Feo P, Horber FF & Haymond MW (1992). Meal stimulation of albumin synthesis: a significant contributor to whole body protein synthesis in humans. *Am J Physiol* 263: E794-799.
- De Feo P, Volpi E, Lucidi P, Cruciani G, Reboldi G, Siepi D, Mannarino E, Santeusanio F, Brunetti P & Bolli GB (1993). Physiological increments in plasma insulin concentrations have selective and different effects on synthesis of hepatic proteins in normal humans. *Diabetes* 42: 995-1002.
- De Feo P (1996). Hormonal regulation of human protein metabolism. *Eur J Endocrinol* 135: 7-18.
- De Feo P (1998). Fed state protein metabolism in diabetes mellitus. *J. Nutr.* 128: 328S-332S.
- Demant T, Packard CJ, Demmelmair H, Stewart P, Bedynek A, Bedford D, Seidel D & Shepherd J (1996). Sensitive methods to study human apolipoprotein B metabolism using stable isotope-labeled amino acids. *Am. J. Physiol.* 270: E1022-1036.
- Deutz NE, Bruins MJ & Soeters PB (1998). Infusion of soy and casein protein meals affects interorgan amino acid metabolism and urea kinetics differently in pigs. *J Nutr* 128: 2435-2445.
- Deutz NE, Wagenmakers AJ & Soeters PB (1999). Discrepancy between muscle and whole body protein turnover. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2: 29-32.
- DiStefano JJI & Mori F (1977). Parameter identifiability and experiment design: thyroid hormone metabolism parameters. *Am. J. Physiol.* 233: R134-144.
- DiStefano JJI (1981). Optimized blood sampling protocols and sequential design of kinetic experiments. *Am. J. Physiol.* 240: R259-265.
- DiStefano JJI & Landaw EM (1984). Multiexponential, multicompartmental, and noncompartmental modeling. I. Methodological limitations and physiological interpretations. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 246: 651-664.

- Dudley MA, Burrin DG, Wykes LJ, Toffolo G, Cobelli C, Nichols BL, Rosenberger J, Jahoor F & Reeds PJ (1998a). Protein kinetics determined in vivo with a multiple-tracer, single-sample protocol: application to lactase synthesis. *Am. J. Physiol.* 274: G591-598.
- Dudley MA, Wykes LJ, Dudley AW, Jr., Burrin DG, Nichols BL, Rosenberger J, Jahoor F, Heird WC & Reeds PJ (1998b). Parenteral nutrition selectively decreases protein synthesis in the small intestine. *Am J Physiol* 274: G131-137.
- Eggum BO (1970). Blood urea measurement as a technique for assessing protein quality. *Br. J. Nutr.* 24: 983-988.
- Ehrlein H & Stockmann A (1998). Absorption of nutrients is only slightly reduced by supplementing enteral formulas with viscous fiber in miniature pigs. *J Nutr* 128: 2446-2455.
- Eiben AE, Hinterding R & Michalewicz Z (1999). Parameter Control in Evolutionary Algorithms. *IEEE Trans. Evol. Comput.* 3: 124-141.
- Elia M, Folmer P, Schlatmann A, Goren A & Austin S (1989). Amino acid metabolism in muscle and in the whole body of man before and after ingestion of a single mixed meal. *Am J Clin Nutr* 49: 1203-1210.
- El-Khoury AE, Fukagawa NK, Sanchez M, Tsay RH, Gleason RE, Chapman TE & Young VR (1994). Validation of the tracer-balance concept with reference to leucine: 24-h intravenous tracer studies with L-[1-¹³C]leucine and [15N-15N]urea. *Am. J. Clin. Nutr.* 59: 1000-1011.
- El-Khoury AE, Ajami AM, Fukagawa NK, Chapman TE & Young VR (1996). Diurnal pattern of the interrelationships among leucine oxidation, urea production, and hydrolysis in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 271: E563-E573.
- El-Khoury AE, Forslund A, Olsson R, Branth S, Sjödin A, Andersson A, Atkinson A, Selvaraj A, Hambraeus L & Young VR (1997). Moderate exercise at energy balance does not affect 24-h leucine oxidation or nitrogen retention in healthy men. *Am. J. Physiol.* 273: E394-407.
- El-Refai M & Bergman RN (1976). Simulation study of control of hepatic glycogen synthesis by glucose and insulin. *Am. J. Physiol.* 231: 1608-1619.
- Elwyn DH, Parikh HC & Shoemaker WC (1968). Amino acid movements between gut, liver, and periphery in unanesthetized dogs. *Am J Physiol* 215: 1260-1275.
- Erickson RH & Kim YS (1990). Digestion and absorption of dietary protein. *Annu. Rev. Med.* 41: 133-139.

- Esposito WR & Floudas CA (1998). Global Optimization in Parameter Estimation of Nonlinear Algebraic Models via the Error-in-Variables Approach. *Ind. Eng. Chem. Res.* 37: 1841-1858.
- Faber P, Johnstone AM, Gibney ER, Elia M, Stubbs RJ, Roger PL, Milne E, Buchan W & Lobley GE (2003). The effect of rate and extent of weight loss on urea salvage in obese male subjects. *Br. J. Nutr.* 90: 221-231.
- FAO/WHO (1990) Joint FAO/WHO expert consultation. Protein quality evaluation. Food and Agriculture Organization / World Health Organization, Rome.
- Ferrannini E, DeFronzo RA, Gusberg R, Tepler J, Jacob R, Aaron M, Smith D & Barrett EJ (1988). Splanchnic amino acid and glucose metabolism during amino acid infusion in dogs. *Diabetes* 37: 237-245.
- Fletcher R & Powell MJD (1963). A Rapidly Convergent Descent Method for Minimization. *Computer Journal* 6: 163-168.
- Fletcher R & Reeves CM (1964). Function minimization by conjugate gradients. *Comput. Journal* 7: 149--154.
- Food and Nutrition Board IoMotNA (2005). Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). The National Academies Press, Washington, D.C.
- Forrester T, Badaloo AV, Persaud C & Jackson AA (1994). Urea production and salvage during pregnancy in normal Jamaican women. *Am. J. Clin. Nutr.* 60: 341-346.
- Forslund AH, Hambraeus L, Olsson RM, El-Khoury AE, Yu YM & Young VR (1998). The 24-h whole body leucine and urea kinetics at normal and high protein intakes with exercise in healthy adults. *Am. J. Physiol.* 275: E310-320.
- Forslund AH, El-Khoury AE, Olsson RM, Sjodin AM, Hambraeus L & Young VR (1999). Effect of protein intake and physical activity on 24-h pattern and rate of macronutrient utilization. *Am. J. Physiol.* 276: E964-976.
- Foster DM, Aamodt RL, Henkin RI & Berman M (1979). Zinc metabolism in humans: a kinetic model. *Am. J. Physiol.* 237: R340-349.
- Foster DM (1998). Developing and testing integrated multicompartement models to describe a single-input multiple-output study using the SAAM II software system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 445.
- Fouillet H, Gaudichon C, Mariotti F, Mahe S, Lescoat P, Huneau JF & Tome D (2000). Compartmental modeling of postprandial dietary nitrogen distribution in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279: E161-175.

- Fouillet H, Gaudichon C, Mariotti F, Bos C, Huneau JF & Tome D (2001). Energy nutrients modulate the splanchnic sequestration of dietary nitrogen in humans: a compartmental analysis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 281: E248-260.
- Fouillet H (2002). Modélisation compartimentale du métabolisme splanchnique et périphérique de l'azote alimentaire en phase postprandiale non stationnaire chez l'homme. Institut National Agronomique de Paris-Grignon, Paris.
- Fouillet H, Bos C, Gaudichon C & Tome D (2002a). Approaches to quantifying protein metabolism in response to nutrient ingestion. *J. Nutr.* 132: 3208S-3218S.
- Fouillet H, Mariotti F, Gaudichon C, Bos C & Tome D (2002b). Peripheral and splanchnic metabolism of dietary nitrogen are differently affected by the protein source in humans as assessed by compartmental modeling. *J. Nutr.* 132: 125-133.
- Fouillet H, Gaudichon C, Bos C, Mariotti F & Tome D (2003). Contribution of plasma proteins to splanchnic and total anabolic utilization of dietary nitrogen in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285: E88-97.
- Fouillet H & Tome D (2006). soja lait NP HP.
- Frexes-Steed M, Lacy DB, Collins J & Abumrad NN (1992). Role of leucine and other amino acids in regulating protein metabolism in vivo. *Am. J. Physiol.* 262: E925-935.
- Fryburg DA, Jahn LA, Hill SA, Oliveras DM & Barrett EJ (1995). Insulin and insulin-like growth factor-I enhance human skeletal muscle protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanisms. *J Clin Invest* 96: 1722-1729.
- Fuller MF & Reeds PJ (1998). Nitrogen cycling in the gut. *Annu Rev Nutr* 18: 385-411.
- Ganapathy V, Brandsch M & Leibach FH (1994). Intestinal transport of amino acids and peptides. In Johnson LR, ed. *Physiology of the gastrointestinal tract*, 3 ed. Raven Press, New-York, NY, USA.
- Garfinkel D & Fegley KA (1984). Fitting physiological models to data. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 246: 641-650.
- Garlick PJ & McNurlan MA (1998). Measurement of protein synthesis in human tissues by the flooding method. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 1: 455-460.
- Garlick PJ (2005). The role of leucine in the regulation of protein metabolism. *J. Nutr.* 135: 1553S-1556S.
- Gaudichon C, Roos N, Mahe S, Sick H, Bouley C & Tome D (1994). Gastric emptying regulates the kinetics of nitrogen absorption from ¹⁵N-labeled milk and ¹⁵N-labeled yogurt in miniature pigs. *J. Nutr.* 124: 1970-1977.

- Gaudichon C, Mahe S, Benamouzig R, Luengo C, Fouillet H, Dare S, Van Oycke M, Ferriere F, Rautureau J & Tome D (1999). Net postprandial utilization of [¹⁵N]-labeled milk protein nitrogen is influenced by diet composition in humans. *J Nutr* 129: 890-895.
- Gausseres N, Mahe S, Benamouzig R, Luengo C, Drouet H, Rautureau J & Tome D (1996). The gastro-ileal digestion of ¹⁵N-labelled pea nitrogen in adult humans. *Br J Nutr* 76: 75-85.
- Gausseres N, Mahe S, Benamouzig R, Luengo C, Ferriere F, Rautureau J & Tome D (1997). [¹⁵N]-labeled pea flour protein nitrogen exhibits good ileal digestibility and postprandial retention in humans. *J. Nutr.* 127: 1160-1165.
- Gelfand RA, Glickman MG, Jacob R, Sherwin RS & DeFronzo RA (1986). Removal of infused amino acids by splanchnic and leg tissues in humans. *Am. J. Physiol.* 250: E407-413.
- Gelfand RA & Barrett EJ (1987). Effect of physiologic hyperinsulinemia on skeletal muscle protein synthesis and breakdown in man. *J Clin Invest* 80: 1-6.
- Gerrits WJ, Dijkstra J & France J (1997a). Description of a model integrating protein and energy metabolism in preruminant calves. *J. Nutr.* 127: 1229-1242.
- Gerrits WJ, France J, Dijkstra J, Bosch MW, Tolman GH & Tamminga S (1997b). Evaluation of a model integrating protein and energy metabolism in preruminant calves. *J. Nutr.* 127: 1243-1252.
- Gibson NR, Fereday A, Cox M, Halliday D, Pacy PJ & Millward DJ (1996). Influences of dietary energy and protein on leucine kinetics during feeding in healthy adults. *Am J Physiol* 270: E282-291.
- Gibson SA, McFarlan C, Hay S & MacFarlane GT (1989). Significance of microflora in proteolysis in the colon. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 679-683.
- Giordano M, Castellino P & DeFronzo RA (1996). Differential responsiveness of protein synthesis and degradation to amino acid availability in humans. *Diabetes* 45: 393-399.
- Green MH, Uhl L & Green JB (1985). A multicompartmental model of vitamin A kinetics in rats with marginal liver vitamin A stores. *J. Lipid. Res.* 26: 806-818.
- Greiwe JS, Kwon G, McDaniel ML & Semenkovich CF (2001). Leucine and insulin activate p70 S6 kinase through different pathways in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E466-471.
- Griffin IJ, King JC & Abrams SA (2000). Body weight-specific zinc compartmental masses in girls significantly exceed those reported in adults: a stable isotope study using a kinetic model. *J. Nutr.* 130: 2607-2612.

- Grimble GK (2000). Mechanisms of peptide and amino acid transport and their regulation. In Fürst P & Young VR, eds. *Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition*. Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme.
- Guus C, Boender E & Romeijn HE (1995). Stochastic methods. In *Handbook of global optimization*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Halas V, Dijkstra J, Babinszky L, Verstegen MW & Gerrits WJ (2004a). Modelling of nutrient partitioning in growing pigs to predict their anatomical body composition. 1. Model description. *Br. J. Nutr.* 92: 707-723.
- Halas V, Dijkstra J, Babinszky L, Verstegen MW & Gerrits WJ (2004b). Modelling of nutrient partitioning in growing pigs to predict their anatomical body composition. 2. Model evaluation. *Br. J. Nutr.* 92: 725-734.
- Halliday D, Pacy PJ, Cheng KN, Dworzak F, Gibson JN & Rennie MJ (1988). Rate of protein synthesis in skeletal muscle of normal man and patients with muscular dystrophy: a reassessment. *Clin Sci (Lond)* 74: 237-240.
- Hamadeh MJ & Hoffer LJ (1998). Tracer methods underestimate short-term variations in urea production in humans. *Am. J. Physiol.* 274: E547-553.
- Hanes DA, Weaver CM & Wastney ME (1999). Calcium and Oxalic Acid Kinetics Differ in Rats. *J. Nutr.* 129.
- Hara H, Nishikawa H & Kiriya S (1992). Different effects of casein and soyabean protein on gastric emptying of protein and small intestinal transit after spontaneous feeding of diets in rats. *Br J Nutr* 68: 59-66.
- Hasten DL, Morris GS, Ramanadham S & Yarasheski KE (1998). Isolation of human skeletal muscle myosin heavy chain and actin for measurement of fractional synthesis rates. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 275: E1092-E1099.
- Hatanaka T, Huang W, Nakanishi T, Bridges CC, Smith SB, Prasad PD, Ganapathy ME & Ganapathy V (2002). Transport of D-serine via the amino acid transporter ATB(0,+), expressed in the colon. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 291: 291-295.
- Hatjimihail AT (1993). Genetic algorithms-based design and optimization of statistical quality-control procedures. *Clin. Chem.* 39: 1972-1978.
- Hess V, Ganier P, Thibault JN & Seve B (2000). Comparison of the isotope dilution method for determination of the ileal endogenous amino acid losses with labelled diet and labelled pigs. *Br. J. Nutr.* 83: 123-130.

- Heys SD, Park KG, McNurlan MA, Keenan RA, Miller JD, Eremin O & Garlick PJ (1992). Protein synthesis rates in colon and liver: stimulation by gastrointestinal pathologies. *Gut* 33: 976-981.
- Hibbert JM & Jackson AA (1991). Variation in measures of urea kinetics over four years in a single adult. *Eur. J. Clin. Nutr.* 45: 347-351.
- Hinder RA & Kelly KA (1977). Canine gastric emptying of solids and liquids. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. Gastrointest. Physiol.* 2: E335-E340.
- Hoerr RA, Matthews DE, Bier DM & Young VR (1993). Effects of protein restriction and acute refeeding on leucine and lysine kinetics in young men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 264: E567-E575.
- Hsu CJ, Kimball SR, Antonetti DA & Jefferson LS (1992). Effects of insulin on total RNA, poly(A)⁺ RNA, and mRNA in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 263: E1106-1112.
- Hume ID, Karasov WH & Darken BW (1993). Acetate, butyrate and proline uptake in the caecum and colon of prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *J. Exp. Biol.* 176: 285-297.
- Humphrey DG & Wilson JR (2000). A Revised Simplex Search Procedure For Stochastic Simulation Response-Surface Optimization. *INFORMS Journal on Computing* 12: 272-283.
- Hunt JN & Stubbs DF (1975). The volume and energy content of meals as determinants of gastric emptying. *J. Physiol.* 245: 209-225.
- Hunter KA, Ballmer PE, Anderson SE, Broom J, Garlick PJ & McNurlan MA (1995). Acute stimulation of albumin synthesis rate with oral meal feeding in healthy subjects measured with [ring-²H₅]phenylalanine. *Clin Sci (Colch)* 88: 235-242.
- Hunter WG (1967). Estimation of unknown constants from multiresponse data. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals* 6: 461-463.
- Isaksson B (1980). Urinary nitrogen output as a validity test in dietary surveys. *Am. J. Clin. Nutr.* 33: 4-5.
- Jackson AA, Picou D & Landman J (1984). The non-invasive measurement of urea kinetics in normal man by a constant infusion of ¹⁵N¹⁵N-urea. *Hum Nutr Clin Nutr* 38: 339-354.
- Jackson AA, Doherty J, de Benoist MH, Hibbert J & Persaud C (1990). The effect of the level of dietary protein, carbohydrate and fat on urea kinetics in young children during rapid catch-up weight gain. *Br. J. Nutr.* 64: 371-385.

- Jackson AA, Danielsen MS & Boyes S (1993). A noninvasive method for measuring urea kinetics with a single dose of [¹⁵N¹⁵N]urea in free-living humans. *J. Nutr.* 123: 2129-2136.
- Jackson AA (1995). Salvage of urea-nitrogen and protein requirements. *Proc Nutr Soc* 54: 535-547.
- Jackson AA (1998). Salvage of urea-nitrogen in the large bowel: functional significance in metabolic control and adaptation. *Biochem Soc Trans* 26: 231-236.
- Jackson AA (1999). Limits of adaptation to high dietary protein intakes. *Eur. J. Clin. Nutr.* 53: S44-52.
- Jackson AA, Phillips G, McClelland IS & Jahoor F (2001). Synthesis of hepatic secretory proteins in normal adults consuming a diet marginally adequate in protein. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 281: G1179-G1187.
- Jacquez JA & Perry T (1990). Parameter estimation: local identifiability of parameters. *Am. J. Physiol.* 258: E727-736.
- Jacquez JA (1996). Compartmental analysis in biology and medicine. BioMedware, Ann Arbor, MI.
- Jahoor F & Wolfe RR (1987). Reassessment of primed constant-infusion tracer method to measure urea kinetics. *Am. J. Physiol.* 252: E557-564.
- Jang JT, Green JB, Beard JL & Green MH (2000). Kinetic analysis shows that iron deficiency decreases liver vitamin A mobilization in rats. *J. Nutr.* 130: 1291-1296.
- Jefferson LS, Liao WS, Peavy DE, Miller TB, Appel MC & Taylor JM (1983). Diabetes-induced alterations in liver protein synthesis. Changes in the relative abundance of mRNAs for albumin and other plasma proteins. *J Biol Chem* 258: 1369-1375.
- Jian R, Vigneron N, Najean Y & Bernier JJ (1982). Gastric emptying and intragastric distribution of lipids in man. A new scintigraphic method of study. *Dig. Dis. Sci.* 27: 705-711.
- Jian R, Ruskone A, Filali A, Ducrot F, Rain JD & Bernier JJ (1986). Effect of the increase of the caloric load of a meal on gastric emptying of its solid and liquid phases. *Gastroenterol. Clin. Biol.* 10: 831-836.
- Johnson HA, Baldwin RL, France J & Calvert CC (1999a). Recycling, channeling and heterogeneous protein turnover estimation using a model of whole-body protein turnover based on leucine kinetics in rodents. *J. Nutr.* 129: 740-750.
- Johnson HA, Baldwin RL, France J & Calvert CC (1999b). A model of whole-body protein turnover based on leucine kinetics in rodents. *J. Nutr.* 129: 728-739.

- Johnson HA, Baldwin RL, Klasing KC, France J & Calvert CC (2000). A rodent model of protein turnover used to design an experiment for measuring the rates of channeling, recycling and protein synthesis. *J. Nutr.* 130: 3097-3102.
- Jungas RL, Halperin ML & Brosnan JT (1992). Quantitative analysis of amino acid oxidation and related gluconeogenesis in humans. *Physiol. Rev.* 72: 419-448.
- Kalogeris TJ, Reidelberger RD & Mendel VE (1983). Effect of nutrient density and composition of liquid meals on gastric emptying in feeding rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 244: R865-R871.
- Katsanos CS, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, Aarsland A & Wolfe RR (2005). Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am. J. Clin. Nutr.* 82: 1065-1073.
- Kelley J, Stirewalt WS & Chrin L (1984). Protein synthesis in rat lung. Measurements in vivo based on leucyl-tRNA and rapidly turning-over procollagen I. *Biochem. J.* 222: 77-83.
- Kelley SK & Green MH (1998). Plasma retinol is a major determinant of vitamin A utilization in rats. *J. Nutr.* 128: 1767-1773.
- Kelly KA (1980). Gastric emptying of liquids and solids: roles of proximal and distal stomach. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 239: G71-G76.
- Kimball SR, Horetsky RL & Jefferson LS (1995). Hormonal regulation of albumin gene expression in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 268: E6-14.
- King JC, Shames DM, Lowe NM, Woodhouse LR, Sutherland B, Abrams SA, Turnlund JR & Jackson MJ (2001). Effect of acute zinc depletion on zinc homeostasis and plasma zinc kinetics in men. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 116-124.
- Kivijärvi J, Fränti P & Nevalainen O (2003). Self-Adaptive Genetic Algorithm for Clustering. *Journal of Heuristics* 9: 113–129.
- Krempf M, Hoerr RA, Pelletier VA, Marks LM, Gleason R & Young VR (1993). An isotopic study of the effect of dietary carbohydrate on the metabolic fate of dietary leucine and phenylalanine. *Am J Clin Nutr* 57: 161-169.
- Kumar D, Ritman EL & Malagelada J-R (1987). Three-dimensional imaging of the stomach: role of pylorus in the emptying of liquids. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 253: G79-G85.
- Kurpad AV, Raj T, El-Khoury A, Kuriyan R, Maruthy K, Borgonha S, Chandukudlu D, Regan MM & Young VR (2001). Daily requirement for and splanchnic uptake of leucine in healthy adult Indians. *Am. J. Clin. Nutr.* 74: 747-755.

- Kurpad AV, Regan MM, Raj T, Varalakshmi S, Gnanou J, Thankachan P & Young VR (2003). Leucine requirement and splanchnic uptake of leucine in chronically undernourished adult Indian subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 77: 861-867.
- Lacroix M, Bos C, Leonil J, Airinei G, Luengo C, Daré S, Benamouzig R, Fouillet H, Fauquant J, Tome D & Gaudichon C (2006). Compared to casein or total milk protein, digestion of milk soluble proteins is too rapid to sustain the anabolic postprandial amino acid requirement. *Am. J. Clin. Nutr.* in press.
- Lagarias JC, Reeds JA, Wright MH & Wright PE (1998). Convergence properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM J. Optim.* 9: 112-147.
- Landaw EM & DiStefano JJI (1984). Multiexponential, multicompartmental, and noncompartmental modeling. II. Data analysis and statistical considerations. *Am. J. Physiol.* 246: R665-677.
- Langran M, Moran BJ, Murphy JL & Jackson AA (1992). Adaptation to a diet low in protein: effect of complex carbohydrate upon urea kinetics in normal man. *Clin. Sci. (Lond.)*. 82: 191-198.
- Lecavalier L, De Feo P & Haymond MW (1991). Isolated hypoisoleucinemia impairs whole body but not hepatic protein synthesis in humans. *Am J Physiol* 261: E578-586.
- Leterme P, Thewis A, Francois E, Van Leeuwen P, Wathélet B & J. H (1996). The use of ¹⁵N-labeled dietary proteins for determining true ileal amino acid digestibilities is limited by their rapid recycling in the endogenous secretions of pigs. *J. Nutr.* 126: 2188-2198.
- Levenberg K (1944). A method for the solution of certain nonlinear problems in least squares. *Q. Appl. Math.* 2.
- Liu Z & Barrett EJ (2002). Human protein metabolism: its measurement and regulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 283: E1105-1112.
- Ljungqvist OH, Persson M, Ford GC & Nair KS (1997). Functional heterogeneity of leucine pools in human skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 273: E564-570.
- Lloyd CE, Kalinyak JE, Hutson SM & Jefferson LS (1987). Stimulation of albumin gene transcription by insulin in primary cultures of rat hepatocytes. *Am J Physiol* 252: C205-214.
- Lobley GE, Sinclair KD, Grant CM, Miller L, Mantle D, Calder AG, Warkup CC & Maltin CA (2000). The effects of breed and level of nutrition on whole-body and muscle protein metabolism in pure-bred Aberdeen angus and Charolais beef steers. *Br. J. Nutr.* 84: 275-284.

- Long CL, Jeevanandam M, Kim BM & Kinney JM (1977). Whole body protein synthesis and catabolism in septic man. *Am. J. Clin. Nutr.* 30: 1340-1344.
- Long CL, Jeevanandam M & Kinney JM (1978). Metabolism and recycling of urea in man. *Am. J. Clin. Nutr.* 31: 1367-1382.
- Lowe NM, Shames DM, Woodhouse LR, Matel JS, Roehl R, Saccomani MP, Toffolo G, Cobelli C & King JC (1997). A compartmental model of zinc metabolism in healthy women using oral and intravenous stable isotope tracers. *Am. J. Clin. Nutr.* 65: 1810-1819.
- Luiking YC, Deutz NE, Jakel M & Soeters PB (2005). Casein and soy protein meals differentially affect whole-body and splanchnic protein metabolism in healthy humans. *J. Nutr.* 135: 1080-1087.
- Maerz LL, Sankaran H, Scharpf SJ & Deveney CW (1994). Effect of caloric content and composition of a liquid meal on gastric emptying in the rat. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 267: R1163-R1167.
- Maes BD, Hiele MI, Geypens BJ, Ghoos YF & Rutgeerts PJ (1998). Gastric emptying of the liquid, solid and oil phase of a meal in normal volunteers and patients with Billroth II gastrojejunostomy. *Eur. J. Clin. Invest.* 28: 197-204.
- Magni P, Bellazzi R, Sparacino G & Cobelli C (2000). Bayesian Identification of a Population Compartmental Model of C-Peptide Kinetics. *Ann. Biomed. Eng.* 28: 812-823.
- Magni P, Sparacino G, Bellazzi R & Cobelli C (2006). Reduced sampling schedule for the glucose minimal model: importance of Bayesian estimation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 290: E177-E184.
- Mahe S, Fauquant J, Gaudichon C, Roos N, Maubois JL & Tome D (1994). [¹⁵N] labelling and preparation of milk, casein and whey proteins. *Le Lait* 74: 307-312.
- Mahe S, Roos N, Benamouzig R, Davin L, Luengo C, Gagnon L, Gausseres N, Rautureau J & Tome D (1996). Gastrojejunal kinetics and the digestion of [¹⁵N]beta-lactoglobulin and casein in humans: the influence of the nature and quantity of the protein. *Am J Clin Nutr* 63: 546-552.
- Manary MJ, Yarasheski KE & Broadhead RL (2002). Urea production and leucine oxidation in malnourished children with and without acute infection. *Metabolism* 51: 1418-1422.
- Mansoor O, Cayol M, Gachon P, Boirie Y, Schoeffler P, Obled C & Beaufrere B (1997). Albumin and fibrinogen syntheses increase while muscle protein synthesis decreases in head-injured patients. *Am. J. Physiol.* 273: E898-902.

- Margaria G, Riccomagno E & White LJ (2004). Structural identifiability analysis of some highly structured families of statespace models using differential algebra. *J. Math. Biol.* 49: 433-454.
- Mariotti F, Mahe S, Benamouzig R, Luengo C, Dare S, Gaudichon C & Tome D (1999). Nutritional value of [15N]-soy protein isolate assessed from ileal digestibility and postprandial protein utilization in humans. *J Nutr* 129: 1992-1997.
- Mariotti F, Huneau JF, Mahe S & Tome D (2000a). Protein metabolism and the gut. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 3: 45-50.
- Mariotti F, Mahe S, Luengo C, Benamouzig R & Tome D (2000b). Postprandial modulation of dietary and whole-body nitrogen utilization by carbohydrates in humans. *Am J Clin Nutr* 72: 954-962.
- Mariotti F (2001). Facteurs alimentaires modulant la biodisponibilité des protéines et le métabolisme postprandial de l'azote chez l'homme. Thèse de docteur-ingénieur, Institut National Agronomique de Paris-Grignon, Paris, France.
- Mariotti F, Pueyo ME, Tome D, Berot S, Benamouzig R & Mahe S (2001). The influence of the albumin fraction on the bioavailability and postprandial utilization of pea protein given selectively to humans. *J Nutr* 131: 1706-1713.
- Mariotti F, Pueyo ME, Tome D & Mahe S (2002). The bioavailability and postprandial utilisation of sweet lupin (*Lupinus albus*)-flour protein is similar to that of purified soyabean protein in human subjects: a study using intrinsically 15N-labelled proteins. *Br. J. Nutr.* 87: 315-323.
- Marquardt DW (1963). An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM J.* 11: 431-441.
- Matthews DE & Downey RS (1984). Measurement of urea kinetics in humans: a validation of stable isotope tracer methods. *Am. J. Physiol.* 246: E519-527.
- Matthews DE, Harkin R, Battezzati A & Brillon DJ (1999). Splanchnic bed utilization of enteral alpha-ketoisocaproate in humans. *Metabolism* 48: 1555-1563.
- Maury B, Meunier N, Soualah A & Vial L (2005). Outlet dissipative conditions for air flow in the bronchial tree. *ESAIM: Proceedings* 14: 201-212.
- McClelland IS & Jackson AA (1996). Urea kinetics in healthy young women: minimal effect of stage of menstrual cycle, contraceptive pill and protein intake. *Br. J. Nutr.* 76: 199-209.
- McClelland RSM, Persaud C & Jackson AA (1997). Urea kinetics in healthy women during normal pregnancy. *Br. J. Nutr.* 77: 165-181.

- McHugh PR & Moran TH (1979). Calories and gastric emptying: a regulatory capacity with implications for feeding. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 236: 254-260.
- McNurlan MA, Essen P, Milne E, Vinnars E, Garlick PJ & Wernerman J (1993). Temporal responses of protein synthesis in human skeletal muscle to feeding. *Br J Nutr* 69: 117-126.
- Meakins TS & Jackson AA (1996). Salvage of exogenous urea nitrogen enhances nitrogen balance in normal men consuming marginally inadequate protein diets. *Clin. Sci. (Lond)*. 90: 215-225.
- Meakins TS, Persaud C & Jackson AA (1998). Dietary supplementation with L-methionine impairs the utilization of urea-nitrogen and increases 5-L-oxoprolinuria in normal women consuming a low protein diet. *J. Nutr.* 128: 720-727.
- Meek SE, Persson M, Ford GC & Nair KS (1998). Differential regulation of amino acid exchange and protein dynamics across splanchnic and skeletal muscle beds by insulin in healthy human subjects. *Diabetes* 47: 1824-1835.
- Mendes P (1993). GEPASI: a software package for modelling the dynamics, steady states and control of biochemical and other systems. *Comput. Appl. Biosci.* 9: 563-571.
- Mendes P & Kell D (1998). Non-linear optimization of biochemical pathways: applications to metabolic engineering and parameter estimation. *Bioinformatics* 14: 869-883.
- Metges CC, El-Khoury AE, Henneman L, Petzke KJ, Grant I, Bedri S, Pereira PP, Ajami AM, Fuller MF & Young VR (1999a). Availability of intestinal microbial lysine for whole body lysine homeostasis in human subjects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 277: E597-E607.
- Metges CC, Petzke KJ, El-Khoury AE, Henneman L, Grant I, Bedri S, Regan MM, Fuller MF & Young VR (1999b). Incorporation of urea and ammonia nitrogen into ileal and fecal microbial proteins and plasma free amino acids in normal men and ileostomates. *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 1046-1058.
- Metges CC (2000). Contribution of microbial amino acids to amino acid homeostasis of the host. *J. Nutr.* 130: 1857S-1864S.
- Miller LV, Krebs NF & Hambidge KM (1998). Human zinc metabolism: advances in the modeling of stable isotope data. *Adv. Exp. Med. Biol.* 445.
- Miller LV, Krebs NF & Hambidge KM (2000). Development of a compartmental model of human zinc metabolism: identifiability and multiple studies analyses. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 279: 1671-1684.

- Millward DJ, Fereday A, Gibson NR & Pacy PJ (1996). Post-prandial protein metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 10: 533-549.
- Millward DJ (1997). Human amino acid requirements. *J Nutr* 127: 1842-1846.
- Millward DJ (1998). Metabolic demands for amino acids and the human dietary requirement: Millward and rRvers (1988) revisited. *J. Nutr.* 128: 2563S-2576S.
- Millward DJ, Fereday A, Gibson NR & Pacy PJ (2000). Human adult amino acid requirements: [1-¹³C]leucine balance evaluation of the efficiency of utilization and apparent requirements for wheat protein and lysine compared with those for milk protein in healthy adults. *Am J Clin Nutr* 72: 112-121.
- Millward DJ (2004). Macronutrient intakes as determinants of dietary protein and amino acid adequacy. *J. Nutr.* 134: 1588S-1596S.
- Mittendorfer B, Volpi E & Wolfe RR (2001). Whole body and skeletal muscle glutamine metabolism in healthy subjects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280: E323-333.
- Modigliani R, Rambaud JC & Bernier JJ (1973). The method of intraluminal perfusion of the human small intestine. I. Principle and technique. *Digestion* 9: 176-192.
- Moles CG, Mendes P & Banga JR (2003). Parameter estimation in biochemical pathways: A comparison of global optimization methods. *Genome Res.* 13: 2467-2474.
- Moore JG, Christian PE & Coleman RE (1981). Gastric emptying of varying meal weight and composition in man. *Dig Dis Sci* 26: 12-22.
- Moore MC, Pagliassotti MJ, Swift LL, Asher J, Murrell J, Neal D & Cherrington AD (1994). Disposition of a mixed meal by the conscious dog. *Am J Physiol* 266: E666-675.
- Moore MC, Flakoll PJ, Hsieh PS, Pagliassotti MJ, Neal DW, Monohan MT, Venable C & Cherrington AD (1998). Hepatic glucose disposition during concomitant portal glucose and amino acid infusions in the dog. *Am J Physiol* 274: E893-902.
- Morens C, Gaudichon C, Metges CC, Fromentin G, Baglieri A, Even PC, Huneau JF & Tome D (2000). A high-protein meal exceeds anabolic and catabolic capacities in rats adapted to a normal protein diet. *J Nutr* 130: 2312-2321.
- Morens C, Gaudichon C, Fromentin G, Marsset-Baglieri A, Bensaid A, Larue-Achagiotis C, Luengo C & Tome D (2001). Daily delivery of dietary nitrogen to the periphery is stable in rats adapted to increased protein intake. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E826-836.
- Morens C, Bos C, Pueyo ME, Benamouzig R, Gausseres N, Luengo C, Tome D & Gaudichon C (2003). Increasing habitual protein intake accentuates differences in postprandial

- dietary nitrogen utilization between protein sources in humans. *J. Nutr.* 133: 2733-2740.
- Mortimore GE, Poso AR, Kadowaki M & Wert JJ, Jr. (1987). Multiphasic control of hepatic protein degradation by regulatory amino acids. General features and hormonal modulation. *J Biol Chem* 262: 16322-16327.
- Mosoni L, Houlier ML, Patureau-Mirand P, Bayle G & Grizard J (1993). Effect of amino acids alone or with insulin on muscle and liver protein synthesis in adult and old rats. *Am J Physiol* 264: E614-620.
- Mosoni L, Malmezat T, Valluy MC, Houlier ML & Mirand PP (1996). Muscle and liver protein synthesis adapt efficiently to food deprivation and refeeding in 12-month-old rats. *J Nutr* 126: 516-522.
- Motil KJ, Matthews DE, Bier DM, Burke JF, Munro HN & Young VR (1981). Whole-body leucine and lysine metabolism: response to dietary protein intake in young men. *Am J Physiol* 240: E712-721.
- Munro HN (1964). General aspects of the regulation of protein metabolism by diet and by hormones. In Munro HN & Allison JB, eds. *Mammalian Protein Metabolism* Academic Press, New York, NY, USA.
- Nair KS, Ford GC, Ekberg K, Fernqvist-Forbes E & Wahren J (1995). Protein dynamics in whole body and in splanchnic and leg tissues in type I diabetic patients. *J Clin Invest* 95: 2926-2937.
- Nakai Y, Okada S, Matsumoto I, Asakura T & Kimura H (2005). Time-course characteristics for the digestion of endogenous as well as exogenous protein in the small intestine: a case study with rats fed a [¹⁵N]-soy protein isolate. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69: 855-856.
- Nakshabendi IM, Obeidat W, Russell RI, Downie S, Smith K & Rennie MJ (1995). Gut mucosal protein synthesis measured using intravenous and intragastric delivery of stable tracer amino acids. *Am J Physiol* 269: E996-999.
- Nakshabendi IM, McKee R, Downie S, Russell RI & Rennie MJ (1999). Rates of small intestinal mucosal protein synthesis in human jejunum and ileum. *Am J Physiol* 277: E1028-1031.
- Nelder JA & Mead R (1965). A simplex method for function minimization. *Computer J.* 7: 308-313.
- Newsholme EA & Dimitriadis G (2001). Integration of biochemical and physiologic effects of insulin on glucose metabolism. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109: S122-S134.

- Newton I (1736). Method of Fluxions. John Colson.
- Niinikoski H, Stoll B, Guan X, Kansagra K, Lambert BD, Stephens J, Hartmann B, Holst JJ & Burrin DG (2004). Onset of Small Intestinal Atrophy Is Associated with Reduced Intestinal Blood Flow in TPN-Fed Neonatal Piglets. *J. Nutr.* 134: 1467-1474.
- Nygren J & Nair KS (2003). Differential regulation of protein dynamics in splanchnic and skeletal muscle beds by insulin and amino acids in healthy human subjects. *Diabetes* 52: 1377-1385.
- Oosterveld MJ, Gemke RJ, Dainty JR, Kulik W, Jakobs C & de Meer K (2005). Minimal sampling protocol for accurate estimation of urea production: a study with oral [¹³C]urea in fed and fasted piglets. *Clin. Nutr.* 24: 97-104.
- Otto ER, Yokoyama M, Ku PK, Ames NK & Trottier NL (2003). Nitrogen balance and ileal amino acid digestibility in growing pigs fed diets reduced in protein concentration. *J. Anim. Sci.* 81: 1743-1753.
- Ozand PT, Reed WD, Hawkins RL, Stevenson JH, Tildon JT & Cornblath M (1978). Effect of L-alanine infusion on gluconeogenesis and ketogenesis in the rat in vivo. *Biochem. J.* 170: 583-591.
- Pacy PJ, Price GM, Halliday D, Quevedo MR & Millward DJ (1994). Nitrogen homeostasis in man: the diurnal responses of protein synthesis and degradation and amino acid oxidation to diets with increasing protein intakes. *Clin Sci (Colch)* 86: 103-116.
- Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Zhang XJ, Volpi E, Wolf SE, Aarsland A, Ferrando AA & Wolfe RR (2004). Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 286: E321-328.
- Pardalos PM & Romeijn HE (2002). Handbook of global optimization. Kluwer Academic Publishers.
- Pawlosky RJ, Hibbeln JR, Novotny JA & Salem N (2001). Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J. Lipid. Res.* 42: 1257-1265.
- Pettigrew JE, Gill M, France J & Close WH (1992a). Evaluation of a mathematical model of lactating sow metabolism. *J. Anim. Sci.* 70: 3762-3773.
- Pettigrew JE, Gill M, France J & Close WH (1992b). A mathematical integration of energy and amino acid metabolism of lactating sows. *J. Anim. Sci.* 70: 3742-3761.
- Petzke KJ, Grigorov JG, Korkushko OV, Kovalenko NK, Semesko TG & Metges CC (1998). Incorporation of urea nitrogen into fecal protein and plasma protein amino acids in

- elderly human volunteers after ingestion of lactic acid bacteria. *Z Ernahrungswiss* 37: 368-375.
- Picou D & Phillips M (1972). Urea metabolism in malnourished and recovered children receiving a high or low protein diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 25: 1261-1266.
- Pillonetto G, Sparacino G, Magni P, Bellazzi R & Cobelli C (2002). Minimal model SI=0 problem in NIDDM subjects: intervals nonzero Bayesian estimates with credible confidence. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282: E564–E573.
- Pillonetto G, Sparacino G & Cobelli C (2003). Numerical non-identifiability regions of the minimal model of glucose kinetics: superiority of Bayesian estimation. *Math. Biosci.* 184: 53–67.
- Polisetty PK, Voit EO & Gatzke EP (2006). Identification of metabolic system parameters using global optimization methods. *Theor. Biol. Med. Model.* 27: 1-15.
- Polonsky KS, Given BD, Hirsch L, Shapiro ET, Tillil H, Beebe C, Galloway JA, Frank BH, Karrison T & Van Cauter E (1988). Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects. *J Clin Invest* 81: 435-441.
- Pont F, Duvillard L, Verges B & Gambert P (1998). Development of compartmental models in stable-isotope experiments: application to lipid metabolism. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18: 853-860.
- Preston T & McMillan DC (1988). Rapid sample throughput for biomedical stable isotope tracer studies. *Biomed Environ Mass Spectrom* 16: 229-235.
- Prod'homme M, Balage M, Debras E, Farges MC, Kimball S, Jefferson L & Grizard J (2005). Differential effects of insulin and dietary amino acids on muscle protein synthesis in adult and old rats. *J. Physiol.* 563: 235-248.
- Rabitz H, Alis ÖF, Shorter J & Shim K (1999). Efficient input-output model representations. *Computer Phys. Comm.* 117.
- Raj DS, Zager P, Shah VO, Dominic EA, Adeniyi O, Blandon P, Wolfe R & Ferrando A (2004). Protein turnover and amino acid transport kinetics in end-stage renal disease. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 286: E136-143.
- Rathmacher JA, Flakoll PJ & Nissen SL (1995). A compartmental model of 3-methylhistidine metabolism in humans. *Am. J. Physiol.* 269: E193-198.
- Read WW, Harrison RA & Halliday D (1982). A resin-based method for the preparation of molecular nitrogen for ^{15}N analysis from urinary and plasma components. *Anal Biochem* 123: 249-254.

- Reeds PJ & Fuller MF (1983). Nutrient intake and protein turnover. *Proc. Nutr. Soc.* 42: 463-471.
- Reeds PJ, Fuller MF, Cadenhead A & Hay SM (1987). Urea synthesis and leucine turnover in growing pigs: changes during 2 d following the addition of carbohydrate or fat to the diet. *Br J Nutr* 58: 301-311.
- Reeds PJ (1990). Amino acid needs and protein scoring patterns. *Proc Nutr Soc* 49: 489-497.
- Reeds PJ, Burrin DG, Jahoor F, Wykes L, Henry J & Frazer EM (1996). Enteral glutamate is almost completely metabolized in first pass by the gastrointestinal tract of infant pigs [published errata appear in *Am J Physiol* 1996 Oct;271(4 Pt 1):section E following table of contents and 1996 Dec;271(6 Pt 3):section E following table of contents]. *Am J Physiol* 270: E413-418.
- Reeds PJ & Burrin DG (2000). The gut and amino acid homeostasis. *Nutrition* 16: 666-668.
- Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B & Jahoor F (2000a). Intestinal glutamate metabolism. *J Nutr* 130: 978S-982S.
- Reeds PJ, Burrin DG, Stoll B & van Goudoever JB (2000b). Role of the gut in the amino acid economy of the host. In Fürst P & Young VR, eds. *Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition*. Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme.
- Reeds PJ & Burrin DG (2001). Glutamine and the bowel. *J. Nutr.* 131: 2505S-2508S.
- Rennie MJ, Edwards RH, Halliday D, Matthews DE, Wolman SL & Millward DJ (1982). Muscle protein synthesis measured by stable isotope techniques in man: the effects of feeding and fasting. *Clin Sci* 63: 519-523.
- Rennie MJ, Bohe J, Smith K, Wackerhage H & Greenhaff P (2006). Branched-chain amino acids as fuels and anabolic signals in human muscle. *J. Nutr.* 136: 264S-268S.
- Rerat A, Simoes-Nunes C, Mendy F, Vaissade P & Vaugelade P (1992). Splanchnic fluxes of amino acids after duodenal infusion of carbohydrate solutions containing free amino acids or oligopeptides in the non-anaesthetized pig. *Br. J. Nutr.* 68: 111-138.
- Rerat AA (1993). Nutritional supply of proteins and absorption of their hydrolysis products: consequences on metabolism. *Proc Nutr Soc* 52: 335-344.
- Rivest J, Bernier JF & Pomar C (2000). A dynamic model of protein digestion in the small intestine of pigs. *J. Anim. Sci.* 78: 328-340.
- Rodriguez-Fernandez M, Mendes P & Banga JR (2006). A hybrid approach for efficient and robust parameter estimation in biochemical pathways. *Biosystems* 83: 248-265.
- Russell K, Lobley GE, Rawlings J, Millward DJ & Harper EJ (2000). Urea kinetics of a carnivore, *Felis silvestris catus*. *Br. J. Nutr.* 84: 597-604.

- Rypins EB, Henderson JM, Fulenwider JT, Moffitt S, Galambos JT, Warren WD & Rudman D (1980). A tracer method for measuring rate of urea synthesis in normal and cirrhotic subjects. *Gastroenterology* 78: 1419-1424.
- Saccomani MP & Cobelli C (1993). A minimal input-output configuration for a priori identifiability of a compartmental model of leucine metabolism. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 40: 797-803.
- Saccomani MP, Bonadonna RC, Cavegion E, DeFronzo RA & Cobelli C (1995). Bicarbonate kinetics in humans: identification and validation of a three-compartment model. *Am. J. Physiol.* 269: E183-192.
- Saccomani MP, Bonadonna RC, Bier DM, DeFronzo RA & Cobelli C (1996). A model to measure insulin effects on glucose transport and phosphorylation in muscle: a three-tracer study. *Am. J. Physiol.* 270: E170-185.
- Saccomani MP, Audoly S & D'Angio L (2003). Parameter identifiability of nonlinear systems: the role of initial conditions. *Automatica* 39: 619-632.
- Saltelli A, Tarantola S & Compologo F (2000). Sensitivity analysis as an ingredient of modelling. *Stat. Sci.* 15: 377-395.
- Sanchez M, El-Khoury AE, Castillo L, Chapman TE, Filho AB, Beaumier L & Young VR (1996). Twenty-four-hour intravenous and oral tracer studies with L-[1-¹³C]phenylalanine and L-[3,3-²H₂]tyrosine at a tyrosine-free, generous phenylalanine intake in adults. *Am J Clin Nutr* 63: 532-545.
- Sauvant D (1992). [Systematic modelling in nutrition]. *Reprod Nutr Dev* 32: 217-230.
- Schaart MW, Schierbeek H, van der Schoor SR, Stoll B, Burrin DG, Reeds PJ & van Goudoever JB (2005). Threonine utilization is high in the intestine of piglets. *J. Nutr.* 135: 765-770.
- Scheld H (1966). Use of polyethylene glycol and red phenol as unabsorbed indicators for intestinal absorption studies in man.
- Schwenk WF, Beaufriere B & Haymond MW (1985a). Use of reciprocal pool specific activities to model leucine metabolism in humans. *Am. J. Physiol.* 249: E646-650.
- Schwenk WF, Tsalikian E, Beaufriere B & Haymond MW (1985b). Recycling of an amino acid label with prolonged isotope infusion: implications for kinetic studies. *Am. J. Physiol.* 248: E482-487.
- Scornik OA, Howell SK & Botbol E (1997). Protein depletion and replenishment in mice: different roles of muscle and liver. *Am J Physiol* 273: E1158-1167.

- Seve B & Leterme P (1997) Amino acid fluxes in the pig. In Laplace JP, Février C & Barbeau A, Eds. Digestive physiology in pigs. Proceedings of the VIIth international symposium on digestive physiology in pigs, INRA éditions ed. EAAP, Saint Malo, France.
- Seve B & Ponter AA (1997). Nutrient-hormone signals regulating muscle protein turnover in pigs. *Proc Nutr Soc* 56: 565-580.
- Shah OJ, Antonetti DA, Kimball SR & Jefferson LS (1999). Leucine, glutamine, and tyrosine reciprocally modulate the translation initiation factors eIF4F and eIF2B in perfused rat liver. *J Biol Chem* 274: 36168-36175.
- Sheffield-Moore M, Wolfe RR, Gore DC, Wolf SE, Ferrer DM & Ferrando AA (2000). Combined effects of hyperaminoacidemia and oxandrolone on skeletal muscle protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: E273-279.
- Sheppard CW (1948). The theory of the study of transfers within a multicompartiment system using isotopic tracers. *J Appl Physics* 19: 70-76.
- Shi G, Leray V, Scarpignato C, Bentouimou N, Bruley des Varannes S, Cherbut C & Galmiche JP (1997). Specific adaptation of gastric emptying to diets with differing protein content in the rat: is endogenous cholecystokinin implicated? *Gut* 41: 612-618.
- Shyr LJ, Griffith WC & Boecker BB (1991). An optimization strategy for a biokinetic model of inhaled radionuclides. *Fundam. Appl. Toxicol.* 16: 423-434.
- Sidransky H & Verney E (1965). Chemical pathology of acute amino acids deficiency. VIII. Influence of amino acid intake on the morphologic and biochemical changes in young rats force-fed a threonine-devoid diet. *J Nutr* 86: 73-80.
- Silk DBA (1980). Digestion and absorption of dietary protein in man. *Proc. Nutr. Soc.* 39: 61-70.
- Sobol' M (1993). Sensitivity estimates for nonlinear mathematical models. *Math. Model. Comput. Exp.* 1: 407-414.
- Sparacino G, Tombolato C & Cobelli C (2000). Maximum-likelihood versus maximum a posteriori parameter estimation of physiological system models: the C-peptide impulse response case study. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 47: 801-811.
- Spilker ME & Vicini P (2001). An evaluation of extended vs weighted least squares for parameter estimation in physiological modeling. *J. Biomed. Inform.* 34: 348-364.
- Staub JF, Foos E, Courtin B, Jochemsen R & Perault-Staub AM (2003). A nonlinear compartmental model of Sr metabolism. I. Non-steady-state kinetics and model building. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284: R819-834.

- Steiner EC, Rey TD & McCroskey PS (1990). Simusolv Reference Guide-Modeling and Simulation Software. Dow Chemical Co., Midland, MI, USA.
- Stoll B, Burrin DG, Henry J, Jahoor F & Reeds PJ (1997). Phenylalanine utilization by the gut and liver measured with intravenous and intragastric tracers in pigs. *Am J Physiol* 273: G1208-1217.
- Stoll B, Burrin DG, Henry J, Yu H, Jahoor F & Reeds PJ (1998a). Dietary amino acids are the preferential source of hepatic protein synthesis in piglets. *J Nutr* 128: 1517-1524.
- Stoll B, Henry J, Reeds PJ, Yu H, Jahoor F & Burrin DG (1998b). Catabolism dominates the first-pass intestinal metabolism of dietary essential amino acids in milk protein-fed piglets. *J Nutr* 128: 606-614.
- Stoll B, Burrin DG, Henry J, Yu H, Jahoor F & Reeds PJ (1999a). Substrate oxidation by the portal drained viscera of fed piglets. *Am J Physiol* 277: E168-175.
- Stoll B, Burrin DG, Henry JF, Jahoor F & Reeds PJ (1999b). Dietary and systemic phenylalanine utilization for mucosal and hepatic constitutive protein synthesis in pigs. *Am J Physiol* 276: G49-57.
- Stoll B, Chang X, Fan MZ, Reeds PJ & Burrin DG (2000). Enteral nutrient intake level determines intestinal protein synthesis and accretion rates in neonatal pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 279: G288-294.
- Svanberg E, Moller-Loswick AC, Matthews DE, Korner U, Andersson M & Lundholm K (1996). Effects of amino acids on synthesis and degradation of skeletal muscle proteins in humans. *Am J Physiol* 271: E718-724.
- Tavill AS, Nadkarni D, Metcalfe J, Black E, Hoffenberg R & Carson ER (1975). Hepatic albumin and urea synthesis: the mathematical modelling of the dynamics of carbonate-derived guanidine-labelled arginine in the isolated perfused rat liver. *Biochem. J.* 150: 495-509.
- Tessari P (1994). Effects of insulin on whole-body and regional amino acid metabolism. *Diabetes Metab Rev* 10: 253-285.
- Tessari P, Inchiostro S, Zanetti M & Barazzoni R (1995). A model of skeletal muscle leucine kinetics measured across the human forearm. *Am J Physiol* 269: E127-136.
- Tessari P, Barazzoni R, Zanetti M, Kiwanuka E & Tiengo A (1996a). The role of substrates in the regulation of protein metabolism. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 10: 511-532.
- Tessari P, Garibotto G, Inchiostro S, Robaudo C, Saffioti S, Vettore M, Zanetti M, Russo R & Deferrari G (1996b). Kidney, splanchnic, and leg protein turnover in humans. Insight from leucine and phenylalanine kinetics. *J Clin Invest* 98: 1481-1492.

- Tessari P, Zanetti M, Barazzoni R, Vettore M & Michielan F (1996c). Mechanisms of postprandial protein accretion in human skeletal muscle. Insight from leucine and phenylalanine forearm kinetics. *J Clin Invest* 98: 1361-1372.
- Tessari P, Bruttomesso D, Pianta A, Vettore M, Zanetti M, Kiwanuka E & Iori E (2002). Effects of wine intake on postprandial plasma amino acid and protein kinetics in type 1 diabetes. *Am. J. Clin. Nutr.* 75: 856-866.
- Tesseraud S, Peresson R, Lopes J & Chagneau AM (1996). Dietary lysine deficiency greatly affects muscle and liver protein turnover in growing chickens. *Br. J. Nutr.* 75: 853-865.
- Tipton KD, Ferrando AA, Phillips SM, Doyle D, Jr. & Wolfe RR (1999). Postexercise net protein synthesis in human muscle from orally administered amino acids. *Am J Physiol* 276: E628-634.
- Toffolo G, Albright R, Joyner M, Dietz N, Cobelli C & Nair KS (2003). Model to assess muscle protein turnover: domain of validity using amino acyl-tRNA vs. surrogate measures of precursor pool. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 285: E1142-1149.
- Tome D & Bos C (2000). Dietary protein and nitrogen utilization. *J Nutr* 130: 1868S-1873S.
- Torrallardona D, Harris CI, Coates ME & Fuller MF (1996). Microbial amino acid synthesis and utilization in rats: incorporation of ^{15}N from $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ into lysine in the tissues of germ-free and conventional rats. *Br J Nutr* 76: 689-700.
- Tsai KY & Wang FS (2005). Evolutionary optimization with data collocation for reverse engineering of biological networks. *Bioinformatics* 21: 1180-1188.
- Ugawa S, Sunouchi Y, Ueda T, Takahashi E, Saishin Y & Shimada S (2001). Characterization of a mouse colonic system B(0+) amino acid transporter related to amino acid absorption in colon. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 281: G365-370.
- Umpleby AM, Boroujerdi MA, Brown PM, Carson ER & Sonksen PH (1986). The effect of metabolic control on leucine metabolism in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 29: 131-141.
- van Goudoever JB, Stoll B, Henry JF, Burrin DG & Reeds PJ (2000). Adaptive regulation of intestinal lysine metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 11620-11625.
- van Milgen J, Noblet J & Dubois S (2001). Energetic efficiency of starch, protein and lipid utilization in growing pigs. *J. Nutr.* 131: 1309-1318.
- Vary TC, Jefferson LS & Kimball SR (1999). Amino acid-induced stimulation of translation initiation in rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 277: E1077-1086.

- Vicini P, Su H & DiStefano JJI (2000). Identifiability and interval identifiability of mammillary and catenary compartmental models with some known rate constants. *Math. Biosci.* 167: 145-161.
- Vist GE & Maughan RJ (1995). The effect of osmolality and carbohydrate content on the rate of gastric emptying of liquids in man. *J. Physiol.* 486: 523-531.
- Volatier JL (2000). Enquête INCA - individuelle nationale sur les consommations alimentaires. Editions Tec et Doc, Paris.
- Volpi E, Lucidi P, Cruciani G, Monacchia F, Reboldi G, Brunetti P, Bolli GB & De Feo P (1996). Contribution of amino acids and insulin to protein anabolism during meal absorption. *Diabetes* 45: 1245-1252.
- Volpi E, Ferrando AA, Yeckel CW, Tipton KD & Wolfe RR (1998). Exogenous amino acids stimulate net muscle protein synthesis in the elderly. *J Clin Invest* 101: 2000-2007.
- Volpi E, Mittendorfer B, Wolf SE & Wolfe RR (1999). Oral amino acids stimulate muscle protein anabolism in the elderly despite higher first-pass splanchnic extraction. *Am J Physiol* 277: E513-E520.
- Volpi E, Jeschke MG, Herndon DN & Wolfe RR (2000a). Measurement of skin protein breakdown in a rat model. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279: E900-906.
- Volpi E, Mittendorfer B, Rasmussen BB & Wolfe RR (2000b). The response of muscle protein anabolism to combined hyperaminoacidemia and glucose-induced hyperinsulinemia is impaired in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 4481-4490.
- Wahren J, Felig P & Hagenfeldt L (1976). Effect of protein ingestion on splanchnic and leg metabolism in normal man and in patients with diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 57: 987-999.
- Walser M & Bodenlos LJ (1959). Urea metabolism in man. *J. Clin. Invest.* 38.
- Wastney ME, Hall SE & Berman M (1984). Ketone body kinetics in humans: a mathematical model. *J. Lipid. Res.* 25: 160-174.
- Wastney ME, Angelus P, Barnes RM & Subramanian KN (1996). Zinc kinetics in preterm infants: a compartmental model based on stable isotope data. *Am. J. Physiol.* 271: R1452-1459.
- Waterlow JC (1995). Whole-body protein turnover in humans--past, present, and future. *Annu Rev Nutr* 15: 57-92.
- Waterlow JC (1999). The mysteries of nitrogen balance. *Nutr Res Rev* 12: 25-54.

- Watt PW, Lindsay Y, Scrimgeour CM, Chien PA, Gibson JN, Taylor DJ & Rennie MJ (1991). Isolation of aminoacyl-tRNA and its labeling with stable-isotope tracers: Use in studies of human tissue protein synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 5892-5896.
- Webb KE (1990). Intestinal absorption of protein hydrolysis products: a review. *J. Anim. Sci.* 68: 3011-3022.
- Weber E & Ehrlein HJ (1998a). Relationships between gastric emptying and intestinal absorption of nutrients and energy in mini pigs. *Dig Dis Sci* 43: 1141-1153.
- Weber E & Ehrlein HJ (1998b). Reserve capacities of the small intestine for absorption of energy. *Am J Physiol* 275: R300-307.
- Wolfe RR (1981). Measurement of urea kinetics in vivo by means of a constant tracer infusion of di-¹⁵N-urea. *Am. J. Physiol.* 240: E428-434.
- Wolfe RR, Goodenough RD, Wolfe MH, Royle GT & Nadel ER (1982). Isotopic analysis of leucine and urea metabolism in exercising humans. *J. Appl. Physiol.* 52: 458-466.
- Wolfe RR (1992). Radioactive and stable isotope tracers in biomedicine. Wiley-Liss, New York, NY, USA.
- Wolfe RR (2000). Protein supplements and exercise. *Am J Clin Nutr* 72: 551S-557S.
- Wolfe RR (2002). Regulation of muscle protein by amino acids. *J. Nutr.* 132: 3219S-3224S.
- Wrong O (1978). Nitrogen metabolism in the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 31: 1587-1593.
- Wrong OM & Vince A (1984). Urea and ammonia metabolism in the human large intestine. *Proc. Nutr. Soc.* 43: 77-86.
- Wu G (1998). Intestinal mucosal amino acid catabolism. *J Nutr* 128: 1249-1252.
- Wutzke K, Heine W, Drescher U, Richter I & Plath C (1983). ¹⁵N-labelled yeast protein--a valid tracer for calculating whole-body protein parameters in infants: a comparison between [¹⁵N]-yeast protein and [¹⁵N]-glycine. *Hum. Nutr. Clin. Nutr.* 37: 317-327.
- Yaman MA, Kita K & Okumura JI (2000). Various macronutrient intakes additively stimulate protein synthesis in liver and muscle of food-deprived chicks. *J Nutr* 130: 70-76.
- Yoshizawa F, Kimball SR & Jefferson LS (1997). Modulation of translation initiation in rat skeletal muscle and liver in response to food intake. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 240: 825-831.
- Yoshizawa F, Kimball SR, Vary TC & Jefferson LS (1998). Effect of dietary protein on translation initiation in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol* 275: E814-820.
- Yoshizawa F (2004). Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313: 417-422.

- Young VR, El-Khoury AE, Raguso CA, Forslund AH & Hambraeus L (2000a). Rates of urea production and hydrolysis and leucine oxidation change linearly over widely varying protein intakes in healthy adults. *J. Nutr.* 130: 761-766.
- Young VR, Yu YM & Borgonha S (2000b). Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition: overview and some research challenges. In Fürst P & Young VR, eds. Proteins, peptides and amino acids in enteral nutrition. Nestle Nutr Workshop Ser Clin Perform Programme.
- Yu YM, Wagner DA, Tredget EE, Walaszewski JA, Burke JF & Young VR (1990). Quantitative role of splanchnic region in leucine metabolism: L-[1-¹³C, ¹⁵N]leucine and substrate balance studies. *Am J Physiol* 259: E36-51.
- Yu YM, Burke JF, Vogt JA, Chambers L & Young VR (1992). Splanchnic and whole body L-[1-¹³C, ¹⁵N]leucine kinetics in relation to enteral and parenteral amino acid supply. *Am J Physiol* 262: E687-694.
- Yu YM, Young VR, Castillo L, Chapman TE, Tompkins RG, Ryan CM & Burke JF (1995a). Plasma arginine and leucine kinetics and urea production rates in burn patients. *Metabolism* 44: 659-666.
- Yu YM, Young VR, Tompkins RG & Burke JF (1995b). Comparative evaluation of the quantitative utilization of parenterally and enterally administered leucine and L-[1-¹³C, ¹⁵N]leucine within the whole body and the splanchnic region. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 19: 209-215.
- Zanetti M, Barazzoni R, Kiwanuka E & Tessari P (1999). Effects of branched-chain-enriched amino acids and insulin on forearm leucine kinetics. *Clin. Sci. (Lond)*. 97: 437-448.
- Zhang XJ, Chinkes DL, Doyle D & Wolfe RR (1998). Metabolism of skin and muscle protein is regulated differently in response to nutrition. *Am J Physiol* 274: E484-492.
- Zhang XJ, Chinkes DL & Wolfe RR (2003). Measurement of protein metabolism in epidermis and dermis. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 284: E1191-1201.
- Zhang XJ, Chinkes DL & Wolfe RR (2004). Leucine supplementation has an anabolic effect on proteins in rabbit skin wound and muscle. *J. Nutr.* 134: 3313-3318.
- Zhao XT, Miller RH, McCamish MA, Wang L & Lin HC (1996). Protein absorption depends on load-dependent inhibition of intestinal transit in dogs. *Am J Clin Nutr* 64: 319-323.