

Evaluation de l'absorption d'un composé à travers la paroi intestinale (modèle cellulaire Caco-2)

Introduction

La capacité d'une molécule à traverser la barrière intestinale est une des propriétés étudiées dans le cadre de l'étude ADME-Tox d'un composé.

La lignée cellulaire Caco-2 (dérivée d'un carcinome colorectal humain) est le modèle utilisé in vitro pour l'évaluation de l'absorption d'un composé à travers la paroi intestinale.

Principe

Lorsqu'elles sont cultivées sur membranes semi-perméables, les cellules Caco-2 se différencient pour former une barrière épithéliale hautement fonctionnalisée de similarité morphologique et biochimique remarquable avec l'épithélium intestinal.

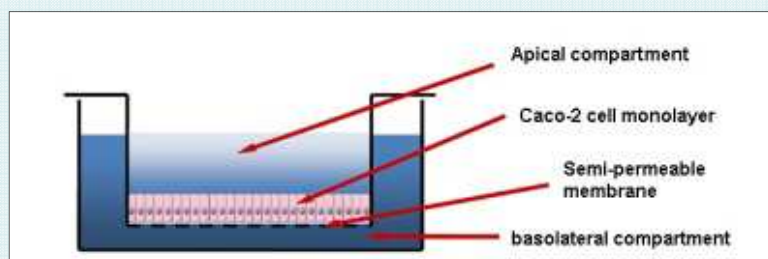
Les cellules Caco-2 sont cultivées sur une membrane placée entre deux compartiments.

Les composés sont ajoutés du côté apical de la monocouche cellulaire. Leur apparition progressive est mesurée du côté basolatéral. La perméabilité dans cette direction (apical vers basolatéral) représente l'absorption intestinale.

La perméabilité peut également être déterminée dans le sens basolatéral vers apical.

Une perméabilité apical vers basolatéral plus grande qu'une perméabilité basolatéral vers apical est indicatrice d'un transport via un transporteur.

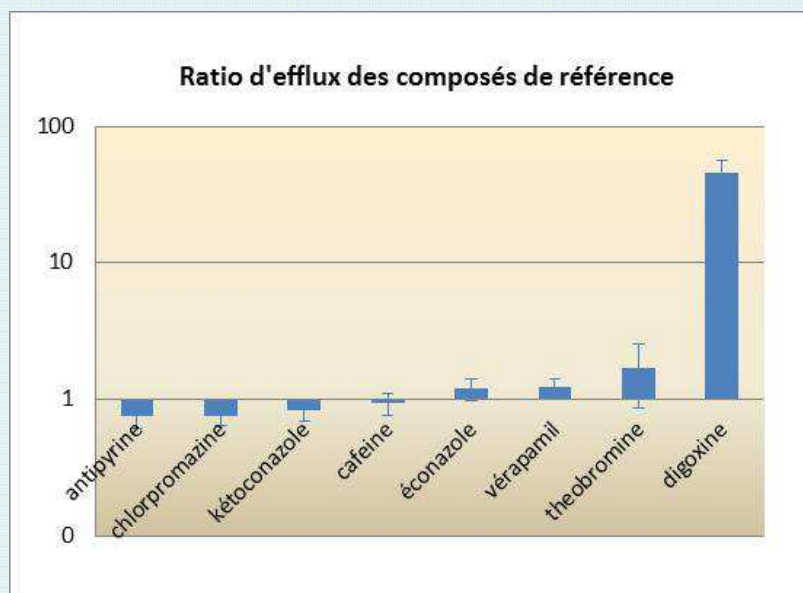
Un transport via la protéine P-gp est suggéré lorsque la perméabilité basolatéral vers apical est plus grande que apical vers basolatéral.



Protocole

Les cellules Caco2 sont cultivées le temps nécessaire à leur différenciation.
Les composés sont testés en triplicatas à 10 μ M dans les 2 sens (apical vers basolatéral et inverse).
L'incubation avec les composés se fait pendant 2h à 37°C.
Un échantillon de chaque compartiment (apical et basolatéral) est prélevé à t = 0 et t = 2h.
Les échantillons sont analysés par LC-MS/MS
(plate-forme TechmedILL, <http://www.pcbis.fr/en/presentation-techmedill-en/>).

Ratio d'efflux de composés de référence sur cellules Caco-2



La perméabilité apparente P_{app} (cm/s) des composés testés est calculée pour les deux sens (apical vers basolatéral $P_{app} A>B$ et basolatéral vers apical $P_{app} B>A$).
Le ratio d'efflux est déduit d'après la formule : $R = P_{app} B>A / P_{app} A>B$.