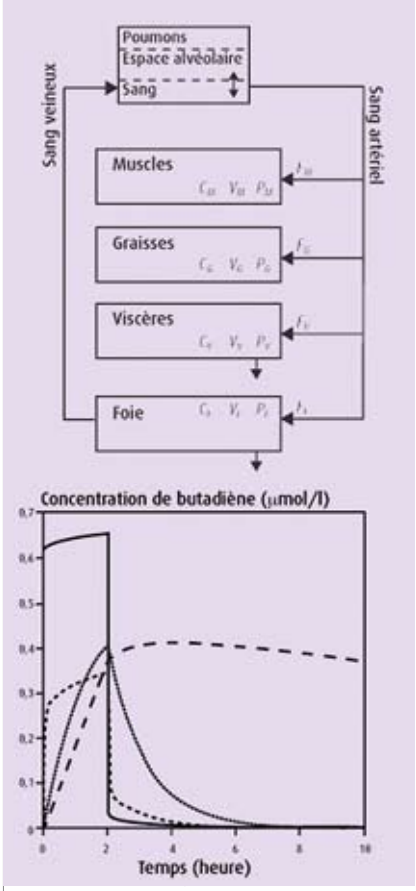
La modélisation physiologique en toxicologie

Céline Brochot, Sandrine Micallef, Frédéric Bois

1



Modèle PBPK décrivant la cinétique du 1,3-butadiène chez les mammifères. Chaque compartiment est décrit par son volume (V), sa concentration de 1,3-butadiène (C), son coefficient de partage (P) et son flux sanguin (F). Évolution de la concentration de 1,3-butadiène dans 4 compartiments : les poumons (ligne pleine), les viscères (tirets courts), les muscles (ligne en pointillé) et les graisses (tirets longs). Une exposition à 5 ppm de 1,3-butadiène pendant 2 heures a été simulée pour un homme standard.

La toxicité d'une substance peut être évaluée par l'établissement d'une relation dose-effet. Cette relation provient de deux phénomènes : le cheminement de la substance dans l'organisme (toxicocinétique) et l'effet de la substance sur l'organisme (toxicodynamie). La toxicocinétique se réfère à l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion, et la toxicodynamie au mécanisme d'action. La modélisation de la toxicocinétique n'est pas indispensable à l'établissement d'une relation dose-effet mais elle contribue fortement à améliorer sa prédictibilité (notamment pour les extrapolations) et à réduire les incertitudes qui entourent sa définition. Les effets relatifs à l'exposition à une substance ne sont pas uniquement liés à la dose reçue lors de l'exposition mais dépendent aussi de la quantité de produit actif atteignant les cellules cibles. Du fait de la complexité des processus de biodistribution mis en jeu, la relation liant la dose efficace à celle d'exposition n'est pas forcément linéaire.
Parmi les modèles toxicocinétiques existants, les modèles physiologiques (ou PBPK pour Physiologically Based PharmacoKinetic) retiennent particulièrement l'attention des toxicologues. En effet, leurs structures et paramètres reposant sur une conceptualisation des mécanismes biologiques, ils offrent une description physiologique de l'organisme. Cependant, leur ajustement à des données expérimentales peut se révéler difficile en raison de la complexité du modèle, du nombre important de paramètres à estimer et de la nature des données toxicocinétiques (généralement peu nombreuses, éparses et entachées d'erreur de mesure). Pour pallier ce manque de données, nous présentons trois méthodologies facilitant la paramétrisation des modèles PBPK par l'apport d'un complément d'information sur leurs paramètres [1].

LA MODÉLISATION PBPK [2, 3]

Le devenir d'une substance dans le corps est communément divisé en quatre phases : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion. Dans un premier temps, la substance est absorbée et distribuée dans le corps par un fluide biologique (sang, lymphe, par diffusion...). Ensuite, la substance est soit stockée, soit éliminée (par métabolisme ou excrétion). Par leur description paramétrique de l'organisme, les modèles PBPK s'appuient sur les connaissances biologiques et anatomiques pour décrire ces processus. Plus précisément, le corps est modélisé par un ensemble de compartiments correspondant à des organes ou des tissus et les fluides biologiques représentent les interconnexions entre compartiments.
Un modèle PBPK est défini par un système d'équations différentielles décrivant la variation de concentration dans les compartiments et permet de prédire la concentration de substance dans un tissu à partir de la dose d'exposition. Les paramètres du système se divisent en deux groupes : les paramètres spécifiques aux caractéristiques physiologiques de l'espèce considérée (par exemple,

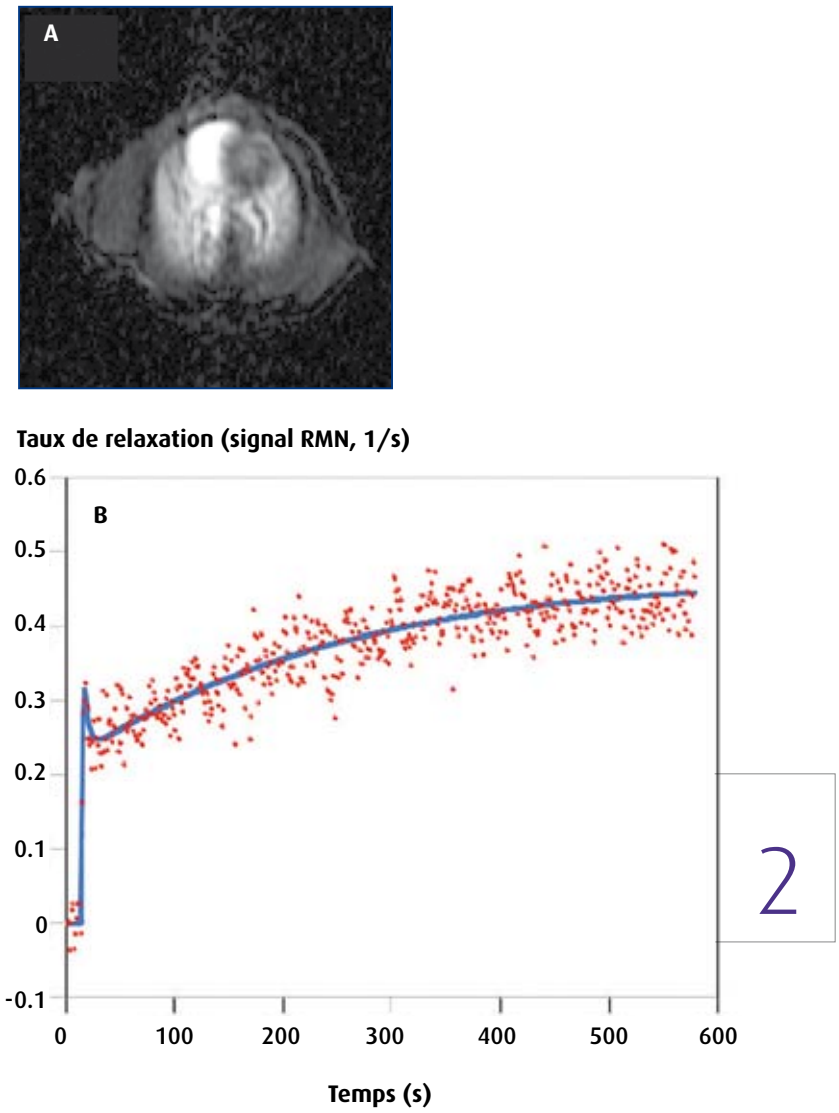
volume des tissus) et les paramètres spécifiques à la fois au toxique et à l'organisme (coefficient de partage par exemple). La figure 1 présente un modèle PBPK à 5 compartiments décrivant l'exposition par inhalation à de nombreux agents gazeux, ainsi que l'évolution temporelle de la concentration dans les compartiments.

LES DONNÉES D'IMAGERIE MÉDICALE [4]

Nous avons développé un modèle PBPK pour décrire les cinétiques d'un agent de contraste (Vistarem®) mesurées par imagerie par résonance magnétique (IRM) afin de caractériser et quantifier la microcirculation dans une tumeur chez des souris. Les augmentations du signal RMN ont été enregistrées dans le sang artériel et les tissus de la tumeur pendant 10 minutes après l'injection du Vistarem®. Les données tissulaires ont permis une description détaillée de la tumeur (séparée en capillaires et interstitium) afin d'estimer ses paramètres de microcirculation. Notre approche a permis de construire un modèle « corps entier » de la biodistribution du Vistarem® et de tester l'efficacité d'un traitement angiogénique.
La figure 2 présente une coupe IRM d'une souris (Panel A), ainsi que des données collectées et l'ajustement du modèle (Panel B). Pour ce travail, nous avons collaboré avec l'équipe Inserm U494 « Imagerie Médicale Quantitative » (CA Cuénod).

UTILISATION DE TRACEURS DANS LES ÉTUDES TOXICOCINÉTIQUES [5]

Nous proposons une méthodologie introduisant l'utilisation de traceurs non toxiques lors d'études de la cinétique d'une substance toxique chez des volontaires humains afin de réduire la dose d'exposition au toxique. L'utilisation d'un traceur a pour but de compenser la perte d'information engendrée par la réduction de la dose de toxique. Nous avons appliqué cette méthode pour développer des protocoles d'exposition pour le 1,3-butadiène chez l'humain. Pour valider notre procédure, nous avons simulé 12 expositions au butadiène. L'isoflurane a été utilisé comme traceur. Un modèle PBPK à 3 compartiments a été utilisé pour décrire les cinétiques des 2 substances. Lorsque les données butadiène et isoflurane sont analysées conjointement, la précision de la constante de métabolisme du butadiène est augmentée et le biais réduit (par rapport à une exposition



2

Coupe IRM de la distribution du Vistarem® chez une souris (Panel A) et ajustement du modèle PBPK au signal RMN (Panel B).

unique au butadiène). Ainsi, nous avons montré qu'une exposition à 10 ppm x min de butadiène et à 300 ppm x min d'isoflurane donne une précision et un biais équivalent à une unique exposition à 40 ppm x min de butadiène. En conséquence, la dose de butadiène reçue par les volontaires pourrait être divisée par 4 si l'exposition au butadiène était complétée d'une exposition à un traceur. Ce travail a été effectué en collaboration avec l'École de Santé Publique de l'Université de Harvard (TJ Smith).

AGRÉGATION DES MODÈLES PBPK [6]

Pour surmonter les difficultés liées à la manipulation de systèmes d'équations différentielles à grande dimension, des méthodes d'agrégation mathématiques sont disponibles. Elles ont pour but de réduire un système d'équations différentielles en agrégeant plusieurs variables entre elles. Typiquement, le modèle agrégé est toujours un système d'équations différentielles, dont les variables sont interprétables en termes de variables du système original. En pratique, le modèle agrégé doit satisfaire quelques restrictions, telles que ne pas agréger certaines variables d'intérêt. Pour tenir compte de ces restrictions, des méthodes d'agrégation sous contraintes ont été développées et sont appliquées avec succès dans l'industrie chimique et pétrolière. Nous avons appliqué ces techniques sur des exemples pratiques afin de tester leur potentiel pour la toxicocinétique. Pour cela, nous avons collaboré avec le département de mathématiques de l'Université de Technologie et Sciences Économiques de Budapest (J. Tóth). Comme applications, nous avons simplifié un modèle à 2 compartiments par des méthodes d'agrégation symbolique, puis un modèle PBPK à 6 compartiments pour le 1,3-butadiène par des méthodes numériques d'agrégation sous contraintes.

PERSPECTIVES

Plusieurs axes de recherche peuvent bénéficier des méthodologies développées ci-dessus.

Réduire les risques des expérimentations chez l'humain

Pour certaines substances, les études animales sont inappropriées pour prédire le comportement de substances chimiques chez l'humain. Dans ces cas précis, l'US EPA estime qu'il est prioritaire de conduire des études humaines engendrant un risque négligeable pour les volontaires exposés, afin de pouvoir prendre des décisions pertinentes pour la protection des populations.
Dans ce contexte, il est donc nécessaire de développer des techniques réduisant au maximum les doses d'exposition lors de ces études, tout en permettant la caractérisation appropriée des risques liés à l'exposition. Les méthodologies présentées ici s'inscrivent directement dans ce cadre.

Valider les modèles PBPK

Les données fournies par les techniques d'imagerie quantitative pourraient renforcer la fiabilité des modèles PBPK en permettant de les valider. Pour valider la structure mathématique d'un modèle PBPK, certains auteurs s'assurent uniquement de la concordance entre les prédictions du modèle et les observations. Cependant, les seules données toxicocinétiques disponibles sont typiquement les concentrations dans le sang, les urines ou l'air exhalé et sont insuffisantes pour discriminer les modèles entre eux. Une solution reste la vérification de la fiabilité des prédictions des doses tissulaires internes. Pour cela, il est donc essentiel de continuer le développement de méthodes expérimentales permettant la détermination de ces doses *in vivo* ou dans les cellules *in vitro*. Comme nous le proposons, un des axes de progrès serait le développement des techniques

d'imagerie permettant la quantification des concentrations internes.

Réduire la dimension des modèles

Les modèles PBPK ont tendance à décrire de plus en plus finement l'organisme et le cheminement de la substance en son sein. Cette tendance entraîne une augmentation de la dimension des systèmes d'équations différentielles à résoudre et ainsi augmente les risques de sur-paramétrisation et de non-identifiabilité des paramètres (dans un cadre d'ajustement à des données). La manipulation mathématique de ces modèles de grande dimension est donc souvent problématique et pourrait bénéficier des techniques d'agrégation.

Organiser les connaissances

Actuellement, plusieurs groupes de recherche travaillent sur des projets rassemblant diverses sources de connaissance sur l'homme (anatomie, physiologie, génétique, etc.) afin de fournir des outils permettant de simuler virtuellement un être humain ou d'y prédire le comportement de substances. On peut citer, par exemple, le « Virtual Human Program » ou le « Physiome Project ». Ces projets ambitieux nécessitent le développement de modèles biologiquement fondés permettant de rassembler, organiser et expliquer les diverses sources de données. Les modèles PBPK sont des outils qui s'intègrent parfaitement dans ces projets.

SUMMARY

PHYSIOLOGICAL MODELLING IN TOXICOLOGY

Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) models are used to describe the biodistribution (administration, distribution, metabolism and excretion) of substances in the body. However, fitting a PBPK model to experimental data can be difficult because of model complexity, the large number of parameters and the amount of toxicokinetic data available (typically, few and sparse). To overcome these difficulties, we propose developing two experimental protocols to parameterize PBPK models: the gathering of data on the spatio-temporal distribution of a substance in the body by imaging techniques, and the use of a non-toxic tracer (or probe) for toxicokinetic studies. These two protocols should provide complementary information for the model parameters.

For the first protocol, we applied image analysis to the development of a PBPK model for a contrast agent, Vistarem®. Through modelling of the experimental data obtained with magnetic resonance imaging, we characterized the whole-body vascularization, and the vascularization of a grafted tumour. Moreover, we statistically evaluated the effects of an antiangiogenic treatment.

We also introduced the use of probes in toxicokinetic studies. We developed exposure scenarios to a chemical and to a probe for humans. With simulated data, we showed that it is possible to reduce the toxic exposure dose (by a factor of 4 in our example) while maintaining accuracy in parameter estimates, if the toxic exposure is completed with an exposure to a probe. The main disadvantage of this protocol is the complexity of the data analysis (two PBPK model calibrations should be performed). To reduce this complexity, we proposed applying lumping methods. Such methods aim at reducing differential equation systems. With simple examples, we showed their usefulness for toxico/pharmacokinetic models.

Each protocol developed here includes a supplementary substance. Our work shows that the use of this substance reinforces knowledge on the anatomy and physiology of the subject studied. This results in a better determination of the action of the substance of interest.

RÉFÉRENCES

[1] Brochot C. (2004). « Paramétrisation des modèles physiologiques toxico/pharmacocinétiques ». Thèse de doctorat, Paris, Université Paris VI, soutenue le 19 octobre 2004.

[2] Micallef S. and Bois F. Y. (2004). « Applications des modèles physiologiques à l'analyse de données de toxicocinétique ». *Journal de la Société Française de Statistique*, 45(3): 15-32.

[3] Micallef S., Brochot C. and Bois F. Y. (2005). « L'analyse statistique bayésienne de données toxicocinétiques ». *Environnement, Risques & Santé*, 4(1): 21-34.

[4] Brochot C., Bessoud B., Balvay D., Cuenod C.A., Siauve N. and Bois F. Y. (2006). "Evaluation of antiangiogenic treatment effects on tumors' microcirculation by Bayesian physiological pharmacokinetic modeling and magnetic resonance imaging". *Magnetic Resonance Imaging*, 24(8): 1059-1067.

[5] Brochot C. and Bois F. Y. (2005). "Use of a chemical probe to increase safety for human volunteers in toxicokinetic studies". *Risk Analysis*, 25(6): 1559-1571.

[6] Brochot C., Tóth J. and Bois F. Y. (2005). "Lumping in pharmacokinetics". *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, 32(5-6): 719-736.