

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Évaluation de la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique de composés
organiques volatils chez l'humain

par

Thomas Peyret

Département de santé environnementale et santé au travail

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maîtrise ès sciences (M.sc.)

en Santé Environnementale et Santé au Travail

décembre, 2007



Université de Montréal
Faculté des Études Supérieures

Ce mémoire :

Évaluation de la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique de composés
organiques volatils chez l'humain

Présenté par :

Thomas Peyret

a été évalué par un jury composé de personnes suivantes :

Docteur Joseph Zayed

Président rapporteur

Docteur Kannan Krishnan

Directeur de recherche

Docteure Ginette Truchon

Membre du jury

RÉSUMÉ

Dans la population humaine, les individus ont une sensibilité différente lors d'une exposition à un agent toxique. Ces différences peuvent s'expliquer en partie par des variations de la toxicocinétique (relation exposition-dose interne). Pour cette raison la variabilité interindividuelle est un déterminant majeur dans l'établissement de normes. L'objectif de la présente recherche est d'appliquer l'approche bayésienne pour évaluer la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique de l'inhalation chronique de composés organiques volatiles (COV). Pour la première fois, des simulations Monte Carlo à chaîne de Markov (MCMC) ont été menées en utilisant une simple équation algébrique, décrivant l'état stationnaire cinétique lors de l'inhalation d'alkylbenzènes. Pour une population humaine adulte, des distributions pertinentes ont été obtenues pour les paramètres physiologiques du modèle (ventilation pulmonaire, $372,9 \pm 78,7$ L/h; débit cardiaque, $436,6 \pm 80,3$; fraction hépatique du débit cardiaque, $0,28 \pm 0,05$). La variabilité interindividuelle de la concentration du sang artériel a été évaluée pour des COV par des simulations Monte Carlo (MC). Des facteurs d'incertitude sur la toxicocinétique intraespèce (UF_{ISTK}) ont été dérivés pour 20 COV. Pour la concentration artérielle à l'état stationnaire, des UF_{ISTK} allant de 1,17 (chlorométhane et chlorure de vinyle) à 1,93 (tétrachloro-éthylène) ont été obtenus. Les UF_{ISTK} du taux de métabolisme s'étalent de 1,29 (dichlorométhane) à 2,86 (1,1,1-trichloroéthane). Ces estimés sont en accord avec ceux de la littérature. Ces études ont permis de démontrer la faisabilité d'application de l'approche bayésienne dans l'évaluation de la variabilité interindividuelle à l'aide

d'équations simples décrivant l'inhalation chronique de COV aussi bien qu'avec un modèle physiologique complet, plus riche en paramètres et donc en sources d'incertitude.

Mots clés : Modélisation pharmacocinétique de population, modèles TCBP, toxicocinétique, variabilité interindividuelle, Monte Carlo à chaîne de Markov, analyse bayésienne, composés organiques volatiles.

ABSTRACT

In the human population, individuals have different sensitivities when exposed to a toxic agent. These differences may be partly explained by variations in the toxicokinetics (exposure-dose metric relationship). Therefore, interindividual variability is a major determinant in reference doses setting. The objective of this research was to apply Bayesian approach to evaluate the inter-individual variability in the toxicokinetics of volatile organic compounds (VOCs) during chronic inhalation exposure. For the first time, Markov chain Monte Carlo simulations (MCMC) have been conducted using a simple algebraic equation describing the steady-state kinetics of inhaled alkylbenzenes. For an adult population, relevant distributions were obtained for the physiological parameters of the model (pulmonary ventilation, 372.9 ± 78.7 L / h; cardiac output, 436.6 ± 80.3 ; liver perfusion as fraction of cardiac output, 0.28 ± 0.05). The interindividual variability has been evaluated on the steady-state arterial blood concentration for 20 VOCs through Monte Carlo simulation (MC), and subsequently intraspecies toxicokinetic uncertainty factors (UF_{ISTK}) were derived for the 20 VOCs. For the arterial blood concentration, the UF_{ISTK} s ranged from 1.17 (chloromethane and vinyl chloride) to 1.93 (tetrachloroethylene). The UF_{ISTK} s for the amount metabolised ranged from 1.29 (dichloromethane) to 2.86 (1,1,1-trichloroethane). These estimates were consistent with the literature. These studies demonstrate the feasibility of the assessment of inter-individual variability using MCMC approach with simple steady state equation which yield essentially the same

results as complete physiological model; with more parameters thus more sources of uncertainty.

Keywords : Pharmacokinetic population modeling, PBTK model, toxicokinetics, interindividual variability, Markov Chain Monte Carlo, Bayesian analysis, volatile organic compounds.

DÉDICACE

À *Jean Peyret, Yan Hazera*
et ma famille

Loin des yeux
mais pas du cœur.

REMERCIEMENTS

Mes premiers remerciements vont au professeur Kannan Krishnan, pour m'avoir accepté dans son équipe, pour ses précieux conseils, son encadrement, son soutien et pour tout ce qu'il m'a permis d'apprendre.

Je remercie le professeur Sami Haddad, pour m'avoir fait découvrir la modélisation physiologique, pour ces conseils, et pour m'avoir présenté le docteur Kannan Krishnan.

Je remercie le professeur Robert Tardif, Ginette Charest-Tardif et Johanne Couture pour leur collaboration et leur soutien technique à un projet de recherche connexe.

Je remercie Andy Nong, pour m'avoir initié et conseillé sur l'approche bayésienne.

Je remercie Thérèse, Ervane et Katia mes collègues de laboratoire, ainsi que Maximilien, Cyril, Caroline, Naïma, Asta, Jérôme, Nolwenn pour leur apport et leur bonne humeur. Ce fut très agréable.

Merci à tous ceux du département de santé environnementale et santé au travail. C'est une belle équipe, comme une famille.

Et je finirai par mes parents et Catherine, pour leur soutien moral.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	v
DÉDICACE	vii
REMERCIEMENTS	viii
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES FIGURES	xii
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS	xiv
CHAPITRE I	1
1. INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1. L'analyse de risque et les modèles de population	2
1.1.1. L'analyse de risque	2
1.1.2. L'établissement de normes et les facteurs d'incertitude	4
1.1.3. La variabilité interindividuelle et l'incertitude	7
1.1.4. Approches de modélisation de la variabilité interindividuelle	8
1.2. L'approche Bayésienne en modélisation	12
1.2.1. Le théorème de Bayes et l'inférence bayésienne	12
1.2.2. L'approche bayésienne en modélisation physiologique	19
1.3. Problématique : exposition chronique, modélisation et analyse du risque	28
1.4. Objectifs de la recherche	30
CHAPITRE II	32
2. Article No 1: Markov Chain Monte Carlo Simulation of biomonitoring in humans: Application to biomarkers of chronic exposure to alkyl benzenes in the environment.	32
3. Chapitre III	58
4. Article No 2: Estimation of the interindividual pharmacokinetic variability factors for volatile organic chemicals	58
5. DISCUSSION GÉNÉRALE	104
6. BIBLIOGRAPHIE	110

LISTE DES TABLEAUX

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

Tableau I : Facteurs d'incertitudes (UF) utilisés dans la dérivation de dose (et/ou concentrations) de référence.	6
--	---

2. ARTICLE I

Table 1: Parameters used for generating distributions of venous blood concentration and alveolar air concentration in humans chronically exposed to toluene, ethylbenzene and m-xylene.....	39
---	----

Table 2: Prior information for model parameters.....	42
--	----

Table 3: Population posterior estimates of the alkylbenzene model after trial 1.....	45
--	----

Table 4: Population posterior estimates of the toluene, ethylbenzene, xylene model after trial 2.....	45
---	----

3. ARTICLE II

Table I: Prior information on parameters of toluene human blood: air partition coefficient model.....	90
---	----

Table II: Input parameters of the toluene human blood: air partition coefficient model.....	91
---	----

Table III: Population characteristics of the physiological parameters used for solving the steady state model.....	92
Table IV: Metabolic parameters used in the present study.....	93
Table V: Posterior estimates for the parameters of the toluene human blood: air PC model.....	94
Table VI: Comparison of the observed data on with the predicted blood air partition coefficient obtained following Monte Carlo simulations.....	95
Table VII: Statistics of the Monte Carlo simulations on arterial blood concentration ($\mu\text{g/L}$) for several VOCs.....	96
Table VIII: Estimated interindividual variability factors for toxicokinetic (UF_{ISTK}) based on the arterial blood concentration (C_{Ass}) ($\mu\text{g/L}$) and the rate of amount metabolized (RAM) ($\mu\text{g/hr}$) at steady-state.....	97
Table IX: Sensitivity analysis of the blood: air partition coefficient parameters on the arterial blood concentration as well as the rate of amount metabolized.....	98

LISTE DES FIGURES

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

Figure 1 : Approche de simulation Monte Carlo sur un modèle toxicocinétique à base physiologique.9

Figure 2 : Illustration de la simulation Monte Carlo à chaîne de Markov.....11

Figure 3 : Représentation graphique d'un modèle hiérarchique.....20

2. ARTICLE I

Figure 1: Frequency plot of the venous blood concentrations of toluene generated for 16 (dark) and 50 (light) subjects using Monte Carlo sampling.....41

Figure 2: Conceptual representation of the human steady state PBPK model....41

Figure 3: Schematic of the linkage among the multiple VOC models at level of specific parameter. This approach for alveolar ventilation (QP) was also applied for liver blood flow (QL)42

Figure 4: Comparison of observed data on toluene (TOL), ethyl benzene (EBZ) and m-xylene (XYL) venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) and alveolar concentrations (ppm) with the predictions obtained following trial 1.....46

Figure 5: Individual predictions for venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) of toluene (TOL), ethyl benzene (EBZ) and m-xylene (XYL).....47

Figure 6: Comparison of observed data on toluene(TOL), ethyl benzene (EBZ) and m-xylene (XYL) venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) and alveolar concentrations (ppm) with the predictions obtained following sequential updating of input parameters.....	48
--	----

3. ARTICLE II

Figure 1: Figure 1: Conceptual representation of the human blood: air PC model.....	99
Figure 2: Individual predictions of toluene human blood:air partition coefficient. a) Comparison with all experimental measurements; b) Comparison without the outlier ($PB = 74.7$).....	100
Figure 3: Comparison of observed data (symbols) on toluene PB with the predictions obtained following sequential updating of input parameters of the predictive model.....	101
Figure 4: Predictions of human blood: air PCs.....	102
Figure 5: Comparison of observed data (Gargas et al, 1989) on human PB with the prediction obtained for 1,1,1,2-tetrachloroethane, tetrachloroethylene, vinyl chloride, methyl chloride, dichloromethane, and carbon tetrachloride.....	103

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

[MSP] : concentration en protéines microsorniales

ADME: absorption, distribution, métabolisme et excrétion.

[2E1] : concentration en cytochrome P450 2E1

BMC : *Benchmark concentration*

BMD : *Benchmark dose*

BOA: *Bayesian Output Analysis*

C : concentration

CA : concentration artérielle

CalEPA : agence californienne de protection de l'environnement

CALV : concentration alvéolaire

C_{inh}: concentration inhalée

CL_H : clairance hépatique

CL_{int} ou *CL_{int}*: clairance intrinsèque

CODA: *Convergence Diagnostics and Output Analysis*

COV : composés organiques volatils

CV : concentration veineuse

CYP2E1 : cytochrome P450 2E1

DCM : dichlorométhane

E : ratio d'extraction hépatique

EBZ : éthylbenzène

f_b : fraction de protéines totales impliquée dans le processus de partage

F_l : contenu en équivalent de lipides neutres (fraction)

F_p : contenu en protéines (fraction)

F_w : contenu en eau (fraction)

GST : Glutathione-S-Transférase

IPCS : *International Program on Chemical Safety*

IS : intra espèce

IVF: facteur de variabilité inter-individuelle

K_m : constante de Michaelis-Menten (constante métabolique)

K_{oa} : coefficient de partage octanol (ou huile) : air

K_{pa} : coefficient de partage protéine : air

K_{wa} : coefficient de partage eau (ou solution saline) : air

LOAEL : dose minimale entraînant un effet nocif

MC : Monte Carlo

MCMC : *Markov chain Monte Carlo*, Monte Carlo à chaîne de Markov

MF: facteur modifiant

MFO : métabolisme oxydatif

MSP : protéines microsomiales

MSSS : Ministère de la Santé et des Services Sociaux du Québec

NLEM : non linéaire à effet mixte

NOAEL : dose la plus élevée sans effet nocif observé

NONMEM : *Non Linear Mixed Effects Modeling*, modélisation non linéaire à effets mixtes

NRC : *National Research Council*, Conseil National de Recherche (Canada)

- O.S. : *Operating System*, système d'exploitation
- OEHA : *Office of Environmental Health Hazard Assessment*, Bureau d'évaluation du danger (risque) en santé environnementale
- PB : coefficient de partage sang : air
- PBPK : *Physiologically based pharmacokinetic* (comme PCPB)
- PBTK : *Physiologically based toxicokinetic* (comme TCBP)
- PC : *partition coefficient*, coefficient de partage
- PCBP : pharmacocinétique à base physiologique
- PD : pharmacodynamique
- PERC : Tétrachloro-éthylène
- PHG : *Public Health Goal*, Objectif de santé publique
- PK : pharmacocinétique
- QC : débit cardiaque
- QL : débit sanguin hépatique
- QLc : débit sanguin hépatique (fraction du débit cardiaque)
- QP : ventilation alvéolaire
- QSAR: *Quantitative Structure Activity Relationship*, relation quantitative structure-activité
- RAM : taux de quantité métabolisée
- RfC : concentration de référence
- RfD : dose de référence
- SD : *standard deviation*, écart-type
- ss : *steady state*, état stationnaire

TCA : acide trichloroacétique

TCBP : toxicocinétique à base physiologique

TCE : trichloroéthylène

TCOH : trichloroéthanol

TK : toxicocinétique

TOL : toluène

UF: facteur d'incertitude

UF_A : facteur d'incertitude inter-espèces

UF_H : facteur d'incertitude interindividuels

UF_L : facteur d'incertitude pour l'extrapolation de LOAEL à NOAEL

U.S. EPA : *United States Environmental Protection Agency*, agence américaine pour la protection de l'environnement.

V_{max} : vitesse maximale de réaction (constante métabolique)

VOC : *volatile organic compounds*, composés organiques volatils

WHO (OMS) : *World Health Organization*, Organisation Mondiale de la Santé

XYL : *m*-xylène

CHAPITRE I

1. INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1. L'analyse de risque et les modèles de population

1.1.1. L'analyse de risque

Depuis plus d'un demi-siècle, de nouvelles molécules sont synthétisées pour améliorer nos conditions de vie. Ces substances étrangères à l'organisme (xénobiotiques) sont omniprésentes dans notre environnement. Certains polluants environnementaux peuvent avoir des effets sur la santé publique allant de l'intoxication aiguë à l'intoxication chronique. Ces intoxications peuvent avoir divers effets, comme par exemple, une hausse d'incidence de tumeurs, ou encore une sensibilisation. L'analyse du risque toxicologique est un outil de gestion du risque visant à évaluer l'impact d'une exposition à un xénobiotique. Dans la gestion du risque, l'évaluation de projets, ou de sites contaminés et l'établissement de normes, en sont les principaux champs d'application (MSSS, 2002). De nombreux organismes de santé ont travaillé sur le développement de cette approche (par exemple l'agence américaine pour la protection de l'environnement (U.S. EPA), le *National Research Council* (NRC), l'organisation mondiale de la santé (OMS/WHO), le Ministère de la Santé et des Services Sociaux du Québec (MSSS) et ont produit des guides pour la pratique de l'analyse de risque (U.S. EPA, 1994 ; 2005 ; WHO, 1999 ; NRC, 1983 ; MSSS, 2002). Le MSSS (2002) définit le risque toxicologique comme « la probabilité que des effets néfastes sur la santé humaine se produisent à la suite d'une exposition à des agresseurs environnementaux d'origine chimique, physique ou biologique ».

L'analyse de risque est une approche intégrée composée généralement de quatre étapes : i) l'identification du danger, ii) la caractérisation toxicologique (études dose-réponse), iii) l'estimation de l'exposition et iv) l'estimation du risque (NRC 1983; MSSS, 2002 ; Paustenbash, 2002).

L'identification du danger consiste à identifier un agresseur environnemental, pouvant avoir un effet particulier sur la santé. Les deux étapes suivantes se déroulent généralement simultanément. Grâce à des études dose-réponse, la caractérisation toxicologique permet d'établir des normes pour l'exposition des humains à des substances toxiques (Paustenbach, 2002). L'établissement de ces normes est basé soit sur des études épidémiologiques, quand elles sont suffisamment exploitables, soit sur des études expérimentales. Ces dernières sont plus contrôlées mais reflètent moins la réalité, puisqu'elles limitent considérablement le nombre de variables. L'estimation de l'exposition consiste à évaluer l'apport d'un agent par contact avec différents media (eau, air, sol, nourriture...) (Pautenbach, 2002). La caractérisation du risque synthétise les résultats des étapes précédentes afin de déterminer la présence ou l'absence de risque pour la santé. Cette étape de l'analyse de risque mène dans certains cas à l'établissement de normes.

1.1.2. L'établissement de normes et les facteurs d'incertitude.

Des doses de référence, des valeurs limites, sont régulièrement établies par divers organismes ou agences environnementales, ou gouvernementales. Une dose de référence correspond à une dose limite (maximale) jugée sécuritaire, c'est-à-dire qui n'entraîne pas d'effets sur la santé de la majorité de la population. Selon les voies et la fréquence d'exposition ainsi que l'effet d'une substance toxique (cancérigène ou non) différentes approches permettent d'établir une limite sécuritaire. Les plus utilisées sont la dose d'exposition tolérable et la dose de référence (RfD) ou concentration de référence (RfC), dans le cas de substances inhalées. Dans le cadre du présent mémoire, l'accent sera mis sur la RfC car nous traiterons d'inhalation chronique. La RfC est basée sur une concentration sans effet évaluée lors d'études chez l'humain (épidémiologiques) ou chez l'animal. Idéalement la RfD ou la RfC doit être basée sur la NOAEL (dose la plus élevée sans effet nocif observé) sinon sur la LOAEL (dose minimale entraînant un effet nocif) ou la *benchmark dose* ou *concentration* (BMD ou BMC : dose produisant un changement prédéterminé du taux de réponse d'un effet nocif). Selon le niveau des connaissances actuelles ces valeurs peuvent être abaissées, par mesure de précaution, en appliquant des facteurs d'incertitude (UF) et/ou modifiant (MF) associés à différentes sensibilités chez l'humain (équation 1). Chaque facteur tient compte de différentes extrapolations : inter espèces (UF_A); interindividuels (UF_H humain); de doses sub-chroniques à des doses chroniques; d'une LOAEL à une NOAEL (UF_L);

entre voies d'exposition. Enfin, le facteur modifiant tient compte de la qualité des études utilisées (Kodell et Gaylor, 1999; Paustenbach, 2002; U.S. EPA, 2002).

L'équation 1 illustre le calcul d'une RfD ou d'une RfC.

$$RfD \text{ (ou RfC)} = \frac{NOAEL \text{ (ou LOAEL)}}{UFs * MF} \quad [1]$$

Le tableau I présente les facteurs d'incertitude communément utilisés (traduit de Paustenbach, 2002). Les bases d'ajustement sont utilisées en fonction du niveau de connaissance sur la toxicologie du produit évalué. Si la valeur par défaut de 10 est utilisée pour les cinq facteurs d'incertitude, la RfC ou la RfD dérivée sera 100 000 fois inférieure à la donnée initiale. Pour éviter que cette méthode soit excessivement conservatrice, le facteur de 10 utilisé par défaut pour considérer les variabilités intra-espèce a été décomposé en deux valeurs de 3.16 (c.a.d. $10^{0,5}$; $10^{0,5} \times 10^{0,5} = 10$) (Renwick, 1993; Meek et coll., 2002; U.S. EPA, 2002). Le facteur 10 considérant la variabilité inter-espèces a aussi été subdivisé en deux facteurs de $10^{0,5}$ pour tenir compte de la toxicocinétique et de la toxicodynamique (U.S. EPA, 1994). Meek et coll. (2002) et l'*International Programme on Chemical Safety* (IPCS, 1994) rapportent un facteur d'incertitude plus important pour la toxicocinétique ($10^{0,6}$ que pour la toxicodynamique ($10^{0,4}$) considérant la plus grande variabilité au niveau toxicocinétique (Renwick, 1993).

Tableau I : Facteurs d'incertitude (UF) utilisés dans la dérivation de dose (et/ou concentrations) de référence (Paustenbach, 2002).

	Intervalle	Valeur défaut recommandée	Base d'ajustement
Variabilité intra espèces	1-10	10	3,16 pour PK 3,16 pour PD
Variabilité inter espèces	1-10	Relations allométriques	3,16 pour PK 3,16 pour PD
LOAEL à NOAEL	1-10	3	Spécifique au produit
Subchronique à chronique	1-10	3	Spécifique au produit
Entre voies d'exposition	0.01-100	1	Spécifique au produit
Facteur modifiant	1-10	1	Spécifique aux données

Dorne et Renwick (2005) proposent d'établir des facteurs d'ajustement spécifique au produit chimique évalué en fonction des connaissances disponibles. Ceci se justifie, par le fait que le facteur d'ajustement toxicocinétique d'environ 3,2 ne protège pas nécessairement tous les sous-groupes de la

population humaine. En effet, dépendamment de l'enzyme métabolisant la substance considérée, la variabilité toxicocinétique n'a pas la même amplitude au sein de la population (Dorne et coll., 2002; Dorne et coll., 2003a; 2003b; Dorne, 2004).

1.1.3. La variabilité interindividuelle et l'incertitude

En toxicologie, les sous-groupes d'une population donnée peuvent être classés selon l'âge, l'ethnie, l'état physiologique, la profession, comme par exemple les travailleurs, les nouveau-nés, les enfants, les femmes enceintes, les adultes, les caucasiens, les mongoloïdes et les africains.

La variabilité fait référence aux différences des valeurs des paramètres du modèle entre les individus, (variabilité interindividuelle) ou dans le temps pour un même individu (variabilité intraindividuelle). La variabilité peut avoir pour origine des différences génétiques, les habitudes de vie, l'état physiologique, l'âge... La variabilité ne peut donc pas être réduite puisqu'elle est le reflet de différences réelles (Bernillon et Bois, 2000).

L'incertitude traduit essentiellement les limites des connaissances. Elle est associée par exemple aux erreurs de mesure, ou à la mauvaise description d'un phénomène par un modèle. Elle peut être réduite par de plus amples expériences selon d'autres protocoles et par une meilleure compréhension des phénomènes étudiés (Bernillon et Bois, 2000).

1.1.4. Approches de modélisation de la variabilité interindividuelle

L'ordre de grandeur de la variabilité interindividuelle peut être estimé de différentes manières. Les modèles pharmacocinétiques (PC ou PK) ou toxicocinétiques (TC ou TK) à base physiologique (BP ou PB) permettent de décrire la cinétique d'une substance chez un individu moyen, représentatif d'un sous-groupe spécifique de la population (U.S. EPA, 2006). Cette méthode ne rend pas compte de la variabilité des paramètres toxicocinétiques du modèle TK et par conséquent des prédictions, ni de l'incertitude associée au modèle.

En modélisation toxicocinétique à base physiologique (TCBP) les principales méthodes qui ont été utilisées pour quantifier cette variabilité sont l'approche par intervalles de probabilité, la simulation Monte Carlo (MC), la plus utilisée jusqu'à maintenant, les modèles non linéaires à effets mixtes (rares) et la simulation Monte Carlo à chaîne de Markov (MCMC).

L'approche par intervalles de probabilités consiste à faire des simulations en entrant les valeurs maximales et minimales des paramètres du modèle afin d'obtenir un intervalle de probabilité pour la dose interne (par exemple) souhaitée. Nong et Krishnan (2007) présentent une application de cette méthode pour la détermination des facteurs de variabilité interindividuelle de COV. Les intervalles de probabilité obtenus pour la concentration artérielle et le taux de métabolisme sont comparables avec les résultats obtenus dans d'autres études employant la simulation MC.

La simulation MC (Figure 1) consiste à assigner des distributions aux paramètres intrants du modèle. Par cette méthode il est possible de générer des distributions pour les doses internes d'intérêt et de déterminer le 50^{ème} et le 95^{ème} percentile de ces doses afin d'estimer la variabilité inter-individuelle pour la population étudiée.

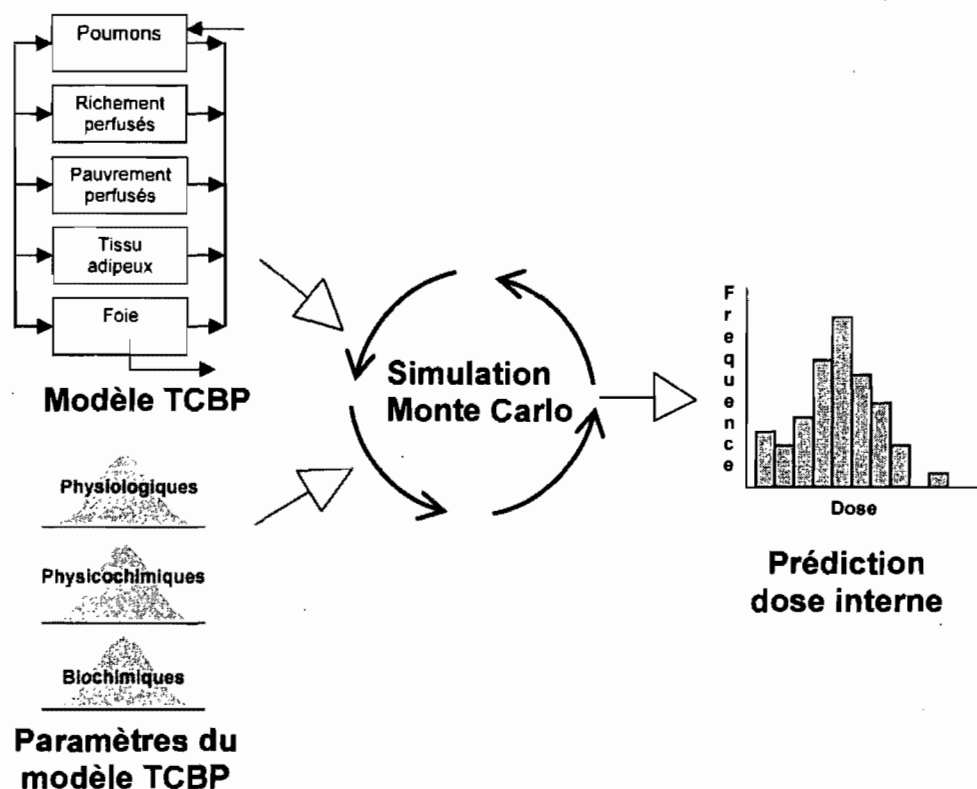


Figure 1 : Approche de simulation Monte Carlo sur un modèle toxicocinétique à base physiologique.

Les distributions assignées aux paramètres intrants du modèle varient en fonction de la nature du paramètre (Thomas et coll., 1996) et la variabilité qui leur est attribuée dépend du niveau de connaissance. L'approche MC dans

l'analyse de variabilité a permis d'évaluer l'impact de la variabilité de paramètres biochimiques et physiologiques sur des doses internes (U.S. EPA, 2006).

L'approche des modèles non linéaires à effets mixtes (NLEM), ou effets aléatoires a rarement été appliquée aux modèles TCBP (Blesch et coll., 2003). Cette approche est très utilisée dans le domaine pharmaceutique avec des modèles compartimentaux. Un modèle compartimental représente le corps comme un ensemble de compartiments souvent sans réalité physiologique ou anatomique. Les NLEM de population sont des modèles hiérarchiques (comprenant souvent deux niveaux : population et individu). Cette approche nécessite des données expérimentales riches en mesure de paramètres, c'est la raison pour laquelle elle est difficilement applicable au domaine de la toxicologie, où l'expérimentation est plus limitée, pour des raisons éthiques et économiques. A titre d'exemple, chez l'humain, l'exposition à de fortes doses de toxiques et les prélèvements d'organes, comme le foie ou le cerveau, pour fin d'analyse ne sont pas éthiquement corrects.

L'approche bayésienne (figure 2) permet de faire des simulations MCMC avec des modèles hiérarchiques. En modélisation TCBP la pertinence de cette approche a été reconnue lors de plusieurs études (voir section 1.2.2).

Brièvement cette approche est un genre de Monte Carlo (des paramètres suivent des distributions) où des données observées (expérimentales) sont traitées par des chaînes de Markov pour caractériser une distribution optimale des paramètres. Cette approche a l'avantage de générer des distributions

représentatives des données, à condition que celles-ci soient assez riches en information.

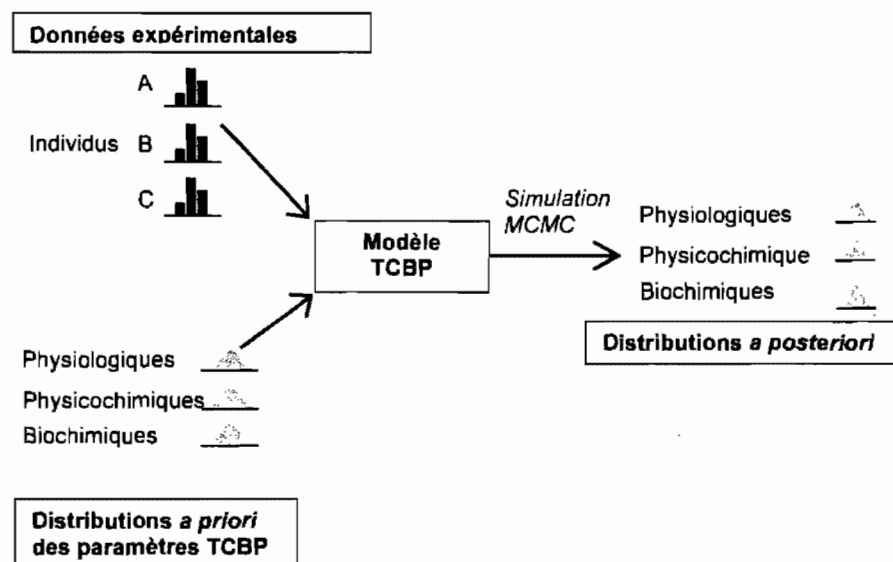


Figure 2 : Illustration de la simulation Monte Carlo à chaîne de Markov

Les deux dernières approches citées diffèrent de l'approche MC par le fait qu'elles permettent une calibration ou une optimisation des valeurs des paramètres du modèle sur des données observées alors que la simulation MC ne fait qu'un échantillonnage aléatoire sur des distributions « rigides ».

1.2. L'approche Bayésienne en modélisation

1.2.1. Le théorème de Bayes et l'inférence bayésienne

Dans cette partie seront expliqués les concepts de base de la statistique bayésienne. Pour plus de détails les livres de Gelman et coll. (2004) et Gilks et coll. (1998) contiennent une très bonne introduction à la statistique bayésienne. La section qui suit est principalement basée sur ces deux documents.

1.2.1.1. Le théorème de Bayes

L'inférence statistique consiste à tirer des conclusions au sujet de quantités non observées à partir de données numériques observées, autrement dit tirer des conclusions sur des probabilités d'évènements dans une population à partir de données échantillonnées.

L'inférence bayésienne fait référence à l'utilisation du théorème de Bayes pour caractériser des situations réelles à partir de données observées.

Plus précisément l'inférence bayésienne sur un paramètre θ ou des données non observées \tilde{y} se fait en terme de probabilités conditionnelles des valeurs observées y notées $p(\theta|y)$ ou $p(\tilde{y}|y)$.

Pour formuler des probabilités de θ en fonction de y il faut un modèle donnant une probabilité de distribution multivariée pour θ et y . La fonction de densité, ou masse ponctuelle de probabilité, multivariée peut être écrite comme le produit de deux distributions souvent appelées la distribution *a priori* $p(\theta)$ et la

distribution d'échantillonnage, ou de données $p(y|\theta)$ (Gilks et coll., 1998; Gelman et coll., 2004):

$$p(\theta, y) = p(\theta).p(y | \theta) \quad [2]$$

Le théorème de Bayes amène au calcul d'une distribution *a posteriori* (ou distribution postérieure, « *posterior distribution* ») par le biais de probabilités conditionnelles à des valeurs observées des données y :

$$p(\theta | y) = \frac{p(\theta).p(y | \theta)}{p(y)} \quad [3]$$

Où $p(\theta)$ est la distribution *a priori* de θ , $p(y | \theta)$ la distribution d'échantillonnage et $p(y)$ la distribution *a priori* de y .

$p(y) = \sum_{\theta} p(\theta)p(y | \theta)$ est la somme qui couvre toute les valeurs possibles de θ . Dans le cas ou θ est une valeur continue $p(y) = \int p(\theta).p(y | \theta)$ quand y est fixé, donc considéré comme une constante, le rapport sur $p(y)$ de l'équation [3], qui ne dépend pas de θ peut être négligé, donnant l'équation [4] de la distribution *a posteriori* non normalisée :

$$p(\theta | y) \propto p(\theta).p(y | \theta) \quad [4]$$

$p(y|\theta)$ est aussi appelée la fonction de vraisemblance (*likelihood fonction*) à travers laquelle les données y affectent la distribution *a posteriori*.

Utiliser le théorème de Bayes avec un modèle de probabilité choisi signifie que la donnée y affecte l'inférence *a posteriori* seulement à travers la fonction $p(y|\theta)$, appelée la fonction de vraisemblance quand celle-ci est regardée comme une fonction de θ , pour un y fixé (Gelman et coll., 2004).

En d'autres termes l'inférence bayésienne consiste à dire que la distribution *a posteriori* est proportionnelle au produit de la distribution *a priori* par la fonction de vraisemblance (équation 3) (Best et coll., 1995).

1.2.1.2. Monte Carlo à chaîne de Markov

La simulation MCMC est une méthode générale pour dresser des valeurs de θ à partir de distributions approximatives et pour corriger ses valeurs afin de mieux faire l'approximation des distributions postérieures $p(\theta|y)$. Des échantillons sont tirés séquentiellement des distributions fixées *a priori* à partir de la dernière valeur tirée, les suites de valeurs tirées forment une chaîne de Markov. Ainsi une chaîne de Markov est une séquence de variables aléatoires $\theta^1, \theta^2, \dots$, pour laquelle, pour tout temps t , la distribution de θ^t de tous les θ précédents dépend seulement de la plus récente valeur θ^{t-1} . À chaque étape de la simulation, la distribution approximative est améliorée en convergeant vers la distribution cible. La simulation MCMC est utilisée quand nous ne connaissons pas la distribution $p(\theta|y)$. Elle utilise des distributions transitoires $T(\theta^t | \theta^{t-1})$ qui dépendent

uniquement du tirage précédent θ^{t-1} . Sa finalité est d'arriver à une distribution stationnaire se rapprochant le plus de $p(\theta|y)$ (Gelman et coll., 2004).

Plusieurs algorithmes existent pour réaliser des simulations MCMC. Certains sont adaptés pour une catégorie de problèmes statistiques à résoudre. Deux algorithmes sont plus souvent utilisés en toxicologie : le *Gibbs sampler* (échantillonnage de Gibbs) et le *Métropolis-Hasting*. Le *Gibbs sampler* sera brièvement expliqué ci-dessous, car les simulations MCMC effectuées dans les études de ce mémoire utilisent cet algorithme.

Casella et George (1992) rapportent une explication détaillée du *Gibbs sampler*. Smith et Roberts (1993) ont réalisé une revue d'utilisations de MCMC, en expliquant également le fonctionnement du *Gibbs sampler* et ces utilisations.

Le *Gibbs sampler* est défini en sous-vecteurs de θ . Le vecteur du paramètre θ est divisé en sous-vecteurs $(\theta_1, \dots, \theta_d)$. Chaque itération des cycles du *Gibbs sampler* à travers le sous-vecteur θ_j de θ , tire chaque sous-ensemble conditionnel de la valeur de tous les autres. Il y a donc d étapes dans l'itération t . À chaque itération t , un rangement des d sous-vecteurs est choisi et, alternativement, chaque θ_j^t est échantillonné à partir de la distribution conditionnelle selon les autres composants de θ :

$$p(\theta_j | \theta_{-j}^{t-1}, y)$$

Où θ_{-j}^{t-1} représente tous les composants de θ , excepté θ_j , à leurs valeurs courantes :

$$\theta_{-j}^{t-1} = (\theta_1^t, \dots, \theta_{j-1}^t, \dots, \theta_d^{t-1})$$

Chaque sous vecteur θ_j est mis à jour en fonction de θ_j^{t-1} jusqu'à ce que la convergence soit atteinte (Gelman et coll., 2004).

1.2.1.3. Surveillance de convergence

Quand l'approche bayésienne est utilisée pour faire de l'inférence, il est très important de s'assurer que les distributions postérieures obtenues correspondent bien à la distribution stationnaire cible. En d'autres termes la convergence, vers la distribution cible, doit être atteinte pour ne pas obtenir des résultats menant à de fausses interprétations.

Il n'y a pas de méthode disponible pour prédire la longueur nécessaire d'une chaîne de Markov afin d'atteindre la distribution stationnaire cible (Brooks et Gelman, 1998). Plusieurs méthodes de diagnostics ont été développées afin de vérifier la convergence des chaînes de Markov; ces méthodes sont expliquées dans différents articles (Cowles et Carlin, 1996; Gelman et Rubin, 1996; Brooks, 1998a; 1998b; Brooks et Gelman, 1998; Brooks et Robert, 1998). Les diagnostics de convergence peuvent être classés en deux catégories : ceux qui sont basés sur les valeurs sortantes de la simulation θ_{jt} et ceux utilisant des informations supplémentaires sur la distribution cible (Brooks et Gelman, 1998). Pour ne pas surcharger inutilement le présent mémoire seules deux des

méthodes les plus utilisées seront brièvement expliquées. Cependant quatre méthodes sont fournies dans les logiciels BOA (*Bayesian Output Analysis*; Smith, 2005) et CODA (*Convergence Diagnostics and Output Analysis*; Plummer et coll., 2006)

Avant tout, il faut noter que la convergence peut simplement être évaluée visuellement en observant l'évolution de la chaîne au cours du temps. Si celle-ci semble se stabiliser on peut considérer que la chaîne a atteint son état stationnaire.

Le diagnostic de convergence le plus utilisé est celui de Gelman et Rubin (1992) corrigé par Brooks et Gelman (1998). Ce diagnostic s'applique dans le cas où plusieurs chaînes de Markov, parallèles et indépendantes, ont été simulées. Avec plusieurs séquences d'itération (chaînes) pour un paramètre, la distribution cible de ce paramètre peut être estimée de deux manières différentes : i) avec les informations entre les séquences et ii) avec les informations à l'intérieur des séquences. Les informations entre les séquences mises en commun auront une variabilité supérieure à la distribution cible car les valeurs de départ (distribution *a priori*) sont « surdispersées ». Par contre les informations à l'intérieur de chaque séquence seront moins variables que la distribution cible au début de la chaîne et en convergeant, leur variabilité va s'accroître jusqu'à atteindre la même variabilité que la distribution cible (Gelman et Rubin, 1992). Approximativement, le rapport de la variance du mélange de toutes les séquences sur la variance à l'intérieur des chaînes est égal à 1 si les chaînes ont convergé. Ce rapport \hat{R}_c est appelé facteur de réduction d'échelle

potentiel (*potential scale reduction factor*). Gelman et Rubin (1992) et Brooks et Gelman (1998) recommandent de calculer les variances sur la dernière moitié des itérations pour éliminer l'effet de « surdispersion » dû aux valeurs initiales. Plus de détails sur ce diagnostic de convergence peuvent être obtenus dans Brooks et Gelman (1998).

Le diagnostic de convergence de Geweke est approprié pour l'analyse d'une seule chaîne quand l'intérêt est la convergence de la moyenne du paramètre considéré. La chaîne est séparée en deux parties : une contenant une fraction des premières itérations et l'autre une fraction des dernières itérations. Il faut un nombre suffisant d'itérations entre les deux parties pour les considérer indépendantes. Le diagnostic propose une statistique de Z approchant une distribution normale $N(0,1)$ si la chaîne a convergé. Si les valeurs de Z tombent dans les extrêmes de $N(0,1)$ la chaîne n'aura pas alors complètement convergé (Smith, 2005).

Brooks (1998a) discute le nombre d'itérations supplémentaires nécessaires après l'atteinte de la convergence. En général si m itérations sont nécessaires pour atteindre la convergence, quelques milliers d'itérations de plus (ou bien m itérations supplémentaires) seront ajoutées pour étudier les distributions postérieures.

Brooks (1998a) rapporte aussi les deux différentes pensées sur le nombre nécessaire de chaînes de Markov : une très longue chaîne ou plusieurs moins longues. La fin d'une seule très longue chaîne serait plus proche de la distribution cible que plusieurs courtes (Geyer, 1992). Par contre Gelman et

Rubin (1992) pensent que le fait d'utiliser différentes chaînes suffisamment dispersées permet d'abord d'exploiter la variabilité de la distribution initiale et ensuite d'obtenir facilement un estimé de la variabilité d'échantillonnage sans avoir à faire de l'inférence sur la structure des séries temporelles de la simulation. Leur approche est la plus utilisée dans le domaine de la modélisation TCBP.

1.2.2. L'approche bayésienne en modélisation physiologique

1.2.2.1. Les modèles toxicocinétiques à base physiologique et l'approche bayésienne.

L'approche bayésienne a d'abord été utilisée sur des modèles pharmacocinétiques compartimentaux de population (Wakefield et coll., 1994; Best et coll., 1995; Wakefield, 1996). Les modèles hiérarchiques utilisés jusqu'à maintenant en modélisation TCBP sont développés selon le même modèle conceptuel (Bois et coll., 1996a; 1996b; Bois, 2000a, 2000b; Jonsson et coll, 2001a, 2001b; Jonsson et Johansson, 2001; Covington et coll., 2006; David et coll., 2006; Hack et coll., 2006). Ce modèle conceptuel de population ne diffère pas de celui développé pour les modèles compartimentaux. Les différences entre les modèles développés sont principalement reliées à l'information disponible sur la substance étudiée (existence de données sur l'incertitude et la variabilité). Le modèle conceptuel général est présenté à la figure 3.

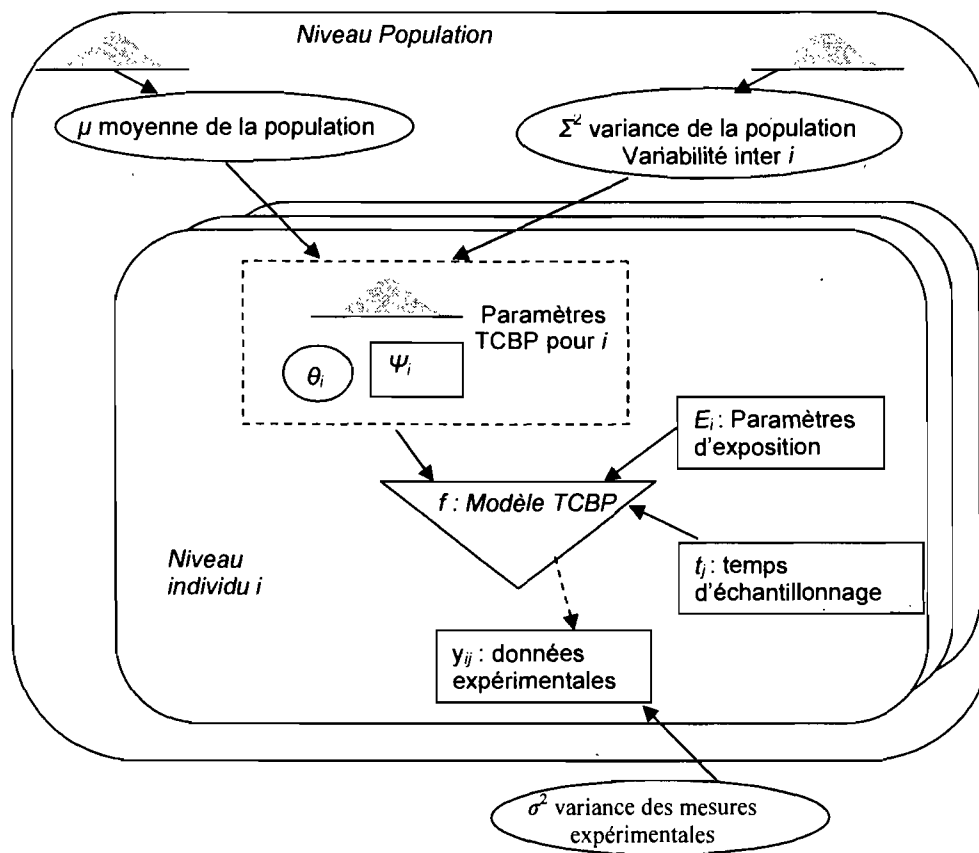


Figure 3 : Représentation graphique d'un modèle hiérarchique (adapté de Bernillon et Bois, 2000). μ : moyenne des paramètres TCBP pour la population; Σ^2 : variance des paramètres de la population; E : paramètres d'exposition; t : temps d'échantillonnage; θ : paramètres inconnus des individus; Ψ : Covariances, paramètres mesurés des individus; f : modèle TCBP; y : données toxicocinétiques expérimentales; σ^2 : variance des mesures expérimentales.

En modélisation TCBP, un modèle hiérarchique est composé de plusieurs niveaux, souvent deux, qui sont le niveau populationnel et le niveau individuel. Il peut y en avoir plus ou moins que deux : un troisième niveau (intra-individuel par exemple) peut-être ajouté; ou bien les individus peuvent être remplacés par des groupes (ce qui éliminerait l'analyse de la variabilité interindividuelle).

Le niveau individuel est celui dont les données mesurées ou évaluées sont les plus abondantes; l'objet du modèle statistique étant d'évaluer les paramètres du niveau populationnel. La moyenne μ et la variance Σ^2 des paramètres de population suivent des distributions de probabilité. En général les valeurs μ et Σ^2 des paramètres physiologiques sont distribuées normalement ou log normalement (Bois et coll., 1996a; Thomas et coll., 1996). Au niveau individuel, les paramètres θ « inconnus » du modèle TCBP suivent aussi une loi normale ou log-normale de moyenne μ et écart-type Σ . La distribution de μ est en général décrite par des hyperparamètres (M , pour la moyenne et S , pour l'écart-type correspondant à l'incertitude de μ). Σ^2 , la variance de la population, est généralement définie par une distribution inverse gamma avec pour paramètres α et β . Les Ψ correspondent aux paramètres mesurés sur les individus, par exemple le poids corporel, le coefficient de partage sang : air et la ventilation alvéolaire le plus souvent chez les volontaires humains. La fonction de vraisemblance (voir section 1.2.1) du modèle f sera calculée pour un individu i en fonction : i) du temps d'échantillonnage t_i ; ii) des paramètres d'exposition E_i (début, durée et période d'exposition, exercice physique, etc.); iii) des paramètres Ψ mesurés chez l'individu i ; iv) des paramètres θ non mesurés; v) des données observées y_{ij} et leur variance associée σ^2 .

1.2.2.2. Applications des modèles TCBP-MCMC

Pour des raisons éthiques, la mesure expérimentale de l'absorption, de la distribution et du métabolisme de substances toxiques n'est pas toujours réalisable. Les outils informatiques et statistiques disponibles actuellement offrent une alternative pour évaluer l'ADME (absorption, distribution, métabolisme et excrétion) (Bois et coll., 1996b).

Les modèles PCBP (pharmacocinétiques à base physiologique) ou TCBP permettent d'évaluer les mécanismes biologiques déterminant l'ADME des substances toxiques. Les modèles TCBP sont aussi des outils très intéressants pour l'extrapolation inter-espèces, en particulier pour prédire le comportement pharmacocinétique des agents toxiques chez l'humain (Krishnan et Andersen, 2001). La simulation MC est utile pour évaluer la variabilité de la population (Spear et Bois, 1994; Cox, 1996). Enfin, l'inférence statistique bayésienne, conjointement à la modélisation PCBP permettrait de résoudre les problèmes d'évaluation de la variabilité des systèmes biologiques dans une population (Bois et coll., 1996a; Bernillon et Bois, 2000).

La section suivante présente une revue de littérature des études publiées employant conjointement l'approche bayésienne (simulation MCMC) et la modélisation pharmacocinétique à base physiologique. Cette revue est divisée en deux parties : a) concernant les applications de simulation MCMC n'ayant pas trait à l'analyse de risque et b) contenant les articles ayant un objectif lié à l'analyse de risque. À l'exception de Gueorguieva et coll. (2006), les simulations

MCMC de toutes les recherches citées ci-dessous ont été réalisées avec le logiciel MCSim (Bois et Maszle, 1997).

a) TCBP-MCMC sans analyse de risque

La plupart des études qui ont combiné l'approche MCMC avec des modèles TCBP avaient pour objectif d'optimiser les valeurs des distributions des paramètres intrants du modèle TCBP, pour une population donnée grâce aux données expérimentales disponibles.

Dans cette optique, des applications de simulation MCMC sur des modèles TCBP ont été réalisées pour le chlorure de méthyle, le tétrachloro-éthylène, le trichloroéthylène, le diazepam, le dichlorométhane, le benzène, le toluène et le styrène (Bois et coll., 1996a; 1996b; Bois, 2000a; 2000b; Jonsson et coll., 2001a; 2001b; Jonsson et Johanson, 2001a ; 2001b; 2002; David et coll., 2006; Hack et coll., 2006; Yokley et coll., 2006; Covington et coll., 2007). Ces études sont très brièvement résumées ci-dessous.

Bois et coll. (1996a) ont été parmi les premiers à utiliser la simulation MCMC avec un modèle TCBP. La substance étudiée était le tétrachloroéthylène (PERC). L'inférence bayésienne a été conduite avec le logiciel MCSIM développé par Bois et Maszle (1997). Ces auteurs considèrent que les données utilisées ont permis une bonne prédiction du V_{max} et du K_m pour l'humain.

Bois et coll (1996b) ont réalisé le même type d'étude de modèle de population que pour le PERC avec le benzène. Le modèle prend en compte

l'incertitude et la variabilité interindividuelle mais pas la variabilité intra-individuelle; les données expérimentales ne permettant pas une telle description. Les résultats statistiques ont, entre autre, révélé le caractère significatif du métabolisme de la moelle osseuse.

Yokley et coll. (2006) ont aussi utilisé l'approche MCMC pour l'étude du modèle TCBP du benzène. La plupart des paramètres du modèle (physiologiques et physico-chimiques) ont été maintenus constants; les auteurs ayant fait l'hypothèse que la variabilité interindividuelle observée résultant principalement de la variabilité des paramètres métaboliques. Cette étude est la seule approche couplant MCMC et TCBP où seuls les paramètres du métabolisme ont été soumis à l'analyse statistique.

Pour le chlorure de méthyle, Jonsson et coll. (2001a) ont évalué les paramètres TCBP de population pour une substance non métabolisée. Pour beaucoup de paramètres, les distributions postérieures au niveau individuel sont très similaires aux informations *a priori*. Les auteurs en concluent que les données ne fournissaient pas assez d'information pour ces paramètres.

Par ailleurs, trois modèles TCBP développés pour le trichloroéthylène ont été soumis à des simulations MCMC (Bois 2000a ; 2000b ; Hack et al., 2006).

Bois (2000a) a réalisé une étude statistique d'un modèle TCBP du TCE chez la souris et l'humain. Le modèle physiologique a été développé par Abbas et Ficher (1997). Le V_{max} prédit chez l'humain dans cette étude est différent de celui prédit dans une autre étude du même auteur (Bois, 2000b). Cette différence

serait attribuable à l'utilisation de différentes données expérimentales utilisées et de différentes structures des modèles chez l'humain.

Hack et coll. (2006) ont aussi appliqué l'approche Bayésienne sur un modèle TCBP du TCE et de deux de ses métabolites, l'acide trichloroacétique (TCA) et le trichloroéthanol (TCOH). Le modèle TCBP, développé par Covington et coll. (2006), est une harmonisation des deux modèles précédemment développés pour le TCE (Clewell et coll., 2000; Fischer, 2000) chez le rat, la souris et l'humain. Les auteurs de cette étude ont utilisé l'approche bayésienne afin de calibrer les quelques 50 paramètres physiologiques et biochimiques du modèle décrivant les cinétiques du TCE et de 4 de ses métabolites (l'acide dichloroacétique, l'hydrate de chloral, le TCOH et le trichloroéthanol glucuronidé). Les auteurs de cette étude ont ainsi dégagé les paramètres les plus sensibles selon la dose interne considérée.

Gueorguieva et coll. (2006) sont les premiers à avoir publié une étude utilisant le logiciel WinBUGS (*MRC and Imperial College of Science, Technology and Medicine, Cambridge, U.K.*) pour un modèle pharmacocinétique à base physiologique. Le modèle TCBP du Diazepam a été utilisé avec des données expérimentales chez le rat et l'humain afin d'étudier l'extrapolation entre ces deux espèces.

Jonsson et coll. (2001b) ont aussi développé un modèle PCBP pour les humains exposés au dichlorométhane (DCM) pendant un exercice physique modéré à intense. L'apport majeur de cette étude est l'actualisation de la distribution du V_{\max} du DCM pour la population (adulte en bonne santé).

Le modèle développé par Marino et coll. (2006) a été utilisé par David et coll. (2006) pour le calibrer chez l'humain. Les données utilisés ont été collectées dans des études précédentes sur des volontaires exposés au DCM.

Jonsson et Johanson (2001a) ont estimé la variabilité du débit sanguin au niveau du tissu adipeux chez l'humain à partir d'un modèle TCBP d'inhalation de toluène.

Jonsson et Johanson (2002) ont utilisé pour le styrène la même approche qu'avec le toluène. L'incertitude des paramètres TCBP pour la population a été réduite.

b. Applications pour analyse de risque

Bois (2000b) a utilisé un modèle développé par Clewell et coll. (2000). Ce modèle a été utilisé pour faire des prédictions *a posteriori* de plusieurs mesures de risque de cancer.

Covington et coll. (2007) sont les derniers à avoir utilisé l'approche bayésienne avec un modèle TCBP du PERC. Le but de l'étude était de mettre à jour un « objectif de santé publique » (PHG; *public health goal*) pour le PERC. Le modèle est basé sur le modèle de Gearhart et coll. (1993) modifié pour décrire le métabolisme et l'excrétion du PERC par les reins. Les 95^{èmes} percentiles obtenus aussi bien pour la fraction métabolisée par inhalation que pour la fraction métabolisée par ingestion sont très inférieurs à ceux dérivés de l'actuel PHG. L'intervalle de confiance à 95% pour l'inhalation (0,14-2,1%) est beaucoup plus

bas que celui estimé par Bois et coll. (1996a) (15-58%) qui a utilisé des doses d'exposition plus élevées que dans l'étude de Covington et coll. (2007). Les valeurs de 95^{ème} percentiles citées ci-dessus ont été utilisées pour calculer le PHG du PERC. Le PHG résultant est de 3,2 ppb, soit plus de 55 fois la valeur de 0,054 ppb fournie par la CalEPA (Agence californienne pour la protection de l'environnement) et OEHHA (*Office of Environmental Health Hazard Assessment*). Les auteurs expliquent cette différence de calcul par l'utilisation de modèles différents et de données de faibles doses d'exposition pour l'obtention des distributions postérieures.

Dichlorométhane

Pour le DCM, l'estimation ponctuelle de l'unité totale de risque calculée dans l'étude de David et coll. (2006) ($1,18 \times 10^{-9}$) est 400 fois moins élevée que l'actuel estimé de l'agence américaine pour la protection de l'environnement (U.S. EPA) ($4,7 \times 10^{-7}$). Les auteurs expliquent qu'un facteur de 13 de ce rapport de 400 est dû à une mauvaise application de la relation allométrique pour la surface corporelle. Un autre facteur de 30 reflète des changements des estimés de la dose dus à la réestimation des paramètres métaboliques. La réestimation de ces derniers paramètres implique un accroissement 4 fois supérieur à celui de la dose estimée chez la souris et une décroissance 7 fois inférieure chez l'humain. Les distributions des unités de risque pour la population ont été évaluées par simulation MC : l'unité de risque pour la population américaine va

de 0 (20% de la population américaine ne conjuguant pas le DCM) jusqu'à une unité de risque de $2,7 \times 10^{-9}$ au 95^{ème} percentile, avec un 50^{ème} percentile de $9,33 \times 10^{-10}$, 500 fois plus bas que l'unité de risque actuelle de l'U.S. EPA.

El Masri et coll. (1999) et Jonsson et Johansson (2001b) ont utilisé l'incidence des « *cross-links* » des protéines des acides nucléiques pour l'estimation des doses internes alors que David et coll. (2006) ont utilisé la quantité de DCM métabolisé par la voie des Glutathion-S-Transférases (GST). La valeur moyenne d'unité de risque de $1,05 \times 10^{-9}$ calculée par David et coll. (2006) est plus élevée que celle d'El-Masri et coll. (1999) ($2,03 \times 10^{-10}$) et de Jonsson et Johanson (2001b) ($2,03 \times 10^{-10}$) mais reste très inférieure à la valeur de $4,7 \times 10^{-7}$ fournie par l'agence américaine de protection de l'environnement (El-Masri et coll., 1999). De tels écarts pourraient s'expliquer par les différentes doses internes utilisées ainsi que les différentes méthodes d'évaluation des paramètres métaboliques, déterminants majeurs de la cinétique du DCM.

1.3. Problématique : exposition chronique, modélisation et analyse du risque

De nombreuses classes de populations sont exposées de manière chronique à des xénobiotiques, que ce soit dans le milieu de travail ou bien dans la vie de tous les jours. Nous sommes exposés par les voies aériennes à de nombreux polluants environnementaux, notamment des COV. L'exposition

continue à de très faibles concentrations est typiquement d'intérêt dans la réglementation environnementale.

Étant donné le nombre croissant de substances commercialisées entrant dans l'environnement et notre incapacité à tester la relation dose-concentration de toutes ces substances, la modélisation TCBP constitue une alternative intéressante pour prédire les doses internes de produits chimiques en l'absence de données expérimentales.

Du point de vue de la toxicocinétique, l'exposition chronique à des substances chimiques conduit à un état d'équilibre ou stationnaire, où les concentrations demeurent constantes dans l'organisme. Ceci est dû au fait que la substance est déjà distribuée et il en est absorbé autant qu'il en est éliminé. Dans ce cas de figure, il est possible de prédire la concentration d'un xénobiotique dans les organes sans avoir à passer par des calculs de dérivées. Peu d'études ont été orientées vers le développement de modèles TCBP spécifiques à l'état cinétique stationnaire (Bogen, 1988 ; Pelekis et al., 1997 ; Chiu et White, 2006). Les modèles cinétiques à l'état stationnaire comprennent très peu de paramètres comparativement aux modèles TCBP; ces paramètres correspondent aux déterminants critiques de la dose interne considérée (c.a.d. concentration inhalée, coefficient de partage sang : air ; ventilation alvéolaire, clairance intrinsèque et débit sanguin du foie). En modélisation physiologique, pour évaluer la variabilité entre les individus d'une population il est nécessaire de connaître la variabilité des paramètres physiologiques, physicochimiques et biochimiques du modèle. La variabilité physiologique peut-être considérée

comme connue. Par contre les paramètres physicochimiques et biochimiques sont spécifiques à la substance évaluée. Des modèles mécanistiques ont été développés pour prédire les coefficients de partage tissu : air de COV en fonction de leur solubilité dans les lipides et dans l'eau. Les prédictions de ces modèles ne rendent pas compte de la variabilité interindividuelle.

La variabilité interindividuelle a déjà été étudiée en modélisation TCBP en utilisant des modèles complets, décrivant les variations de doses internes en fonction du temps. L'utilisation de modèles mécanistiques plus simples (qui ne varient pas en fonction du temps) dans des analyses statistiques de population permettrait d'éviter des erreurs de prédiction dues à une mauvaise connaissance des distributions. En effet, moins nous utilisons de paramètres distribués dans un modèle, plus l'incertitude sur nos prédictions sera faible.

1.4. Objectifs de la recherche

Les objectifs de cette recherche sont d'appliquer la simulation MCMC afin d'évaluer la variabilité interindividuelle reliée à l'inhalation chronique de COV. Cela sera réalisé en utilisant un modèle TCBP décrivant l'état cinétique stationnaire. Pour ce faire, la variabilité interindividuelle des paramètres physiologiques du modèle sera évaluée par une approche bayésienne (article 1).

Ensuite, la variabilité interindividuelle de la concentration artérielle à l'état stationnaire et les facteurs d'incertitude seront évalués (article 2). Au niveau des paramètres spécifiques à la substance, un modèle probabiliste pour le coefficient

de partage sang : air sera développé en utilisant l'approche bayésienne sur des données expérimentales dudit coefficient pour le toluène chez l'humain.

CHAPITRE II

2. Article No 1: Markov Chain Monte Carlo Simulation of biomonitoring in humans: Application to biomarkers of chronic exposure to alkyl benzenes in the environment.

Note: L'article qui suit a été soumis entièrement mis en page (c.a.d. prêt à publier). Par soucis d'une certaine harmonie dans le format du présent mémoire la mise en page de cet article a été modifiée sans toutefois déplacer les tableaux et figures ainsi que leurs légendes associées.

**Article1 (sous Presse : “Proceedings of the 2008 Spring Simulation
Multiconference. 17th International Conference on Health Sciences
Simulation”)**

**Markov Chain Monte Carlo Simulation of biomonitoring in humans:
Application to biomarkers of chronic exposure to alkyl benzenes in
the environment**

Thomas Peyret¹ and Kannan Krishnan¹

**¹: Département de santé environnementale et santé au travail,
Université de Montréal**



Keywords: Markov chain Monte Carlo, PBPK modeling, Alkyl benzenes, Bayesian analysis, Steady-state pharmacokinetics.

Abstract

Bayesian approaches are relevant for characterizing the population distribution of pharmacokinetic determinants as well as the exposure biomarkers of chemicals in the environment. The objective of this study was to conduct Bayesian analysis of the blood and alveolar air concentrations of alkyl benzenes (toluene, *m*-xylene and ethylbenzene) in humans chronically exposed to these chemicals in air. At steady-state, the blood and alveolar concentrations of alkyl benzenes are influenced by alveolar ventilation rate (QP), blood: air partition coefficient (PB), liver blood flow (QL) and intrinsic clearance (CL_{int}). The prior information on these input parameters was obtained from the literature. The mean and variability of steady-state blood concentrations observed in a human volunteer study ($n=4$) was used as a basis to create a distribution (normal) from which samples ($n = 16$ and $n = 50$) were drawn using Monte Carlo approach. After Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simulation with $n = 16$ (trial 1) and $n = 50$ (trial 2), posterior estimates of model parameters were obtained. The second updating of model parameters (trial 2) did not have an impact on the outcome. In general, the calculated steady-state biomarker concentrations compared well with the individual and population values. Overall, this study has demonstrated the feasibility of conducting MCMC simulations of human biomonitoring data, particularly during data-poor situations.

Introduction

Chronic inhalation exposure to volatile organic chemicals (VOCs) leads to the onset of steady-state, at which the exposure biomarkers, namely blood and tissue concentrations of the parent chemical are constant. Steady-state is typically attained for all VOCs during the continuous lifetime exposure scenario upon which all human health risk assessments are based. The steady-state blood concentration, a frequently used exposure biomarker as well as the dose metric for risk assessments, might vary among individuals as a function of the population variability of critical determinants such as physiological parameters, metabolism constants and partition coefficients. The knowledge of the population variability of these critical determinants would facilitate the characterization of the magnitude of variability of biomarkers at steady-state in humans [U.S. EPA, 2006]. In this regard, the application of Bayesian statistical approach with physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling is relevant because it facilitates the characterization of both variability and uncertainty of pharmacokinetic determinants and tissue dose of chemicals [Bernillon and Bois, 2000]. Several studies have successfully combined PBPK modeling and Bayesian statistical analysis to estimate chemical concentrations in humans for exposure and risk assessment applications [e.g. Bois et al., 1996; Bois, 2000a,b; Jonsson and Johanson, 2001a,b; Jonsson et al., 2001a,b; Yokley et al., 2006; Tan et al. 2007]. However, for exposure assessment applications with VOCs in the environment, the available data may relate to biomarker concentrations at steady-state which can be related to exposure concentrations

using simple algebraic expressions instead of full fledged PBPK models [Andersen, 1981; Bogen, 1988.; Pelekis et al., 1997; Csanady and Filser, 2001, Chiu and White 2006]. Markov Chain Monte Carlo (MCMC) simulation approaches have never been applied with steady-state algorithms to characterize the population distribution of exposure biomarkers of VOCs during chronic exposures. Therefore, this study implemented MCMC analysis for modeling population distributions of steady-state blood and alveolar concentrations of some VOCs (toluene, m-xylene, ethylbenzene) in humans.

Methods

Overall methodology

For each VOC, two datasets on steady-state venous blood concentration (CVss) and alveolar air concentration (CALV) were generated by Monte Carlo sampling on the basis of limited, existing data on venous blood concentration in exposed humans [Tardif et al., 1997]. The resulting datasets were used to perform MCMC simulations on the PBPK model parameters during chronic exposures (i.e., at steady-state).

Two trials were performed to verify the sequential updating of model parameter values. In trial 1, MCMC simulations were conducted to update the population PBPK parameters on the basis of the first dataset ($n = 16$) as well as prior information about the PBPK parameters obtained from the literature. In trial

2, a second updating of the model parameters was performed using a dataset on CV_{ss} and CALV (n = 50) along with the posterior distributions obtained during the first trial as prior information. To compare the impact of the updating process on the internal dose in populations chronically exposed to VOCs, the resulting posterior distributions of model parameters from the two trials were used as input for Monte Carlo simulations to generate population distributions of venous blood and alveolar air concentrations.

Computation of biomarkers during chronic exposures

The algebraic description for computing venous blood concentration was written on the basis of existing steady-state solutions [Andersen, 1981; Bogen, 1988; Pelekis et al., 1997; Csanady and Filser, 2001; Chiu and White, 2006]:

$$CV_{ss} = \frac{C_{inh} \times QP \times (1 - QL_c \times E)}{\frac{QP}{PB} + QL \times E} \quad (1)$$

In this model QL was computed as $QL_c \times QC$ where QC is the cardiac output (L/hr) and QL_c is the liver blood flow (fraction of cardiac output). The hepatic extraction ratio (E) was calculated in terms of intrinsic clearance CL_{int} (L/hr) as follows: $E = CL_{int} / (QL + CL_{int})$. CALV was then calculated dividing the above equation by PB . In total, five parameters are required for solving these

equations, namely alveolar ventilation rate, QP , cardiac output QC , blood:air partition coefficient PB , hepatic blood flow QL and intrinsic clearance CL_{int} .

Data generation

For 4 human volunteers exposed separately to VOCs (17.26 ppm TOL, 32.17 ppm EBZ and 32.9 ppm XYL) during 7 hours, Tardif et al. [1997] reported near-steady-state venous blood concentrations at 6.5 hr post-exposure (201.7 ± 37.5 $\mu\text{g/L}$ for toluene, 499.75 ± 133.10 $\mu\text{g/L}$ for ethylbenzene and 433 ± 78.54 $\mu\text{g/L}$ for *m*-xylene). These data were used as a basis to create a normal distribution of venous blood concentration at steady state (CV_{ss}). Simultaneously, a dataset for alveolar concentrations ($CALV$) of TOL, EBZ and XYL was generated, drawing values from distribution of blood:air partition coefficient (PB) and CV_{ss} . The following equation was used to compute the alveolar concentration from venous blood concentration at steady state [Pelekis et al. 1997]:

$$CALV = \frac{CV_{ss}}{1 - QLc * E} \times \frac{1}{PB} \quad (2)$$

To generate the datasets, the distribution of venous blood concentration was assumed to be normal [Thomas et al., 1996] with the same coefficient of variability as the experimental data. Point estimates were assigned to QLc and E on the basis of Tardif et al. [1997] so as to avoid an overpropagation of error; in

this regard, it is reasonable to assume that the inter-individual variability in CVss reflects variability in the input parameters including E and QL_c . Table 1 presents the numerical values of the parameters used for generating datasets for the VOCs investigated in this study.

Table 1. Parameters used for generating distributions of venous blood concentration and alveolar air concentration in humans chronically exposed to toluene, ethylbenzene and *m*-xylene.

Parameters	Abreviation	Mean	SD
Venous conc. ($\mu\text{g/L}$)	CV_{TOL}	201.7	37.51
	CV_{EBZ}	499.75	133.10
	CV_{XYL}	433	78.54
Liver blood flow (L/hr)	QL	108.55	
Extraction ratio ^a	E_{TOL}	0.61	
	E_{EBZ}	0.49	
	E_{XYL}	0.82	
Blood : air partitions	PB_{TOL}	15.6	1.72
	PB_{EBZ}	28	3.08
	PB_{XYL}	26.4	2.90
Inhaled concentration (ppm)	$C_{\text{inh}_{\text{TOL}}}$	17.23	
	$C_{\text{inh}_{\text{EBZ}}}$	32.17	
	$C_{\text{inh}_{\text{XYL}}}$	32.9	

^aThe extraction ratio was calculated following ($E = (V_{\text{max}}/K_m)/(QL + V_{\text{max}}/K_m)$) with V_{max} and K_m values obtained from Tardif et al. (1997).

A normal distribution [Thomas et al., 1996] with mean 15.6 and 11% variation [Tardif et al. 2002] was assigned to toluene blood:air partition coefficient. The same coefficient of variation was assumed for ethylbenzene ($PB_{\text{EBZ}} = 28 \pm 3.08$) and *m*-xylene PB ($PB_{\text{XYL}} = 26.4 \pm 2.9$).

Two datasets ($n = 16$ and $n = 50$) were generated from two separate Monte Carlo simulations of n iterations (Crystal Ball 7 for EXCEL[®], Decisioneering, Denver, CO) in which each iteration was considered as a volunteer. As an example, the frequency distributions of the generated datasets for toluene are presented in Figure 1.

Statistical model and prior distributions

The hierarchical population model used in this study was based on previously developed MCMC-PBPK models [e.g. Bois et al., 1996; Bernillon and Bois, 2000; Jonsson et al., 2001a,b; Jonsson and Johanson 2002] (Figure 2). The statistical model essentially corresponded to three separate models (one for each chemical) connected by common μ and Σ for the physiological parameters at the population level (Figure 3). The prior information of the population distributions of model parameters are listed in Table 2. At the individual level, the PBPK model f describes both venous and alveolar concentrations for the observed data y of each subject i for given exposure conditions E_i and unknown individual parameters θ_i . θ_i followed normal distribution, with mean μ and standard deviation Σ truncated at ± 3 standard deviations to avoid unrealistic values [Bois, 2000a,b].

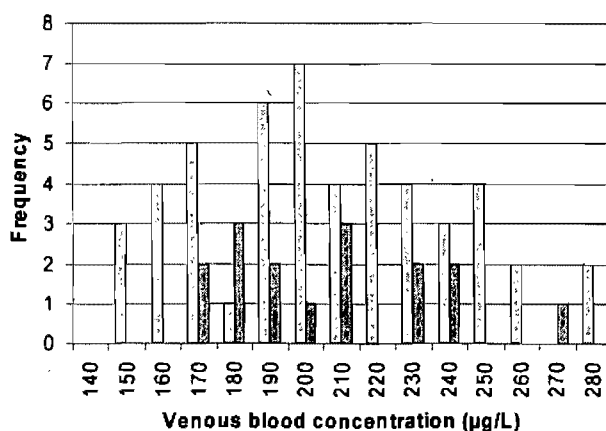


Figure 1. Frequency plot of the venous blood concentrations of toluene generated for 16 (dark) and 50 (light) subjects using Monte Carlo sampling.

At the population level, a normal distribution was assigned to the population mean μ with mean and variability characteristics taken from the literature [Thomas et al., 1996; Tardif et al., 1997].

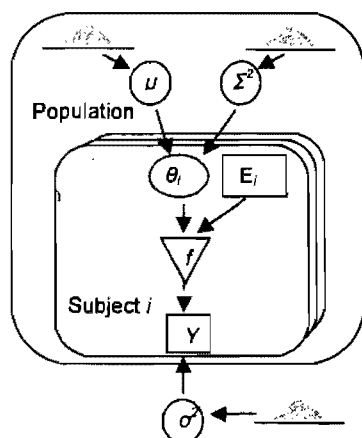


Figure 2. Conceptual representation of the human steady state PBPK model . μ : population mean; Σ : interindividual variability; θ unknown parameters; Ψ : individual parameters; E : exposure conditions; y observed data for the subject i ; σ^2 : variance of the data. f PBPK algorithms for steady state venous and alveolar concentrations.

Interindividual variability Σ followed a normal distribution with mean equal to the standard deviation of μ which was set to 10% around the mean. The standard

deviation of Σ corresponds to the intra-individual variability. σ is the error term associated with the observed data, and it followed *a priori* normal distribution with mean value 10% of the observed data and 10% uncertainty.

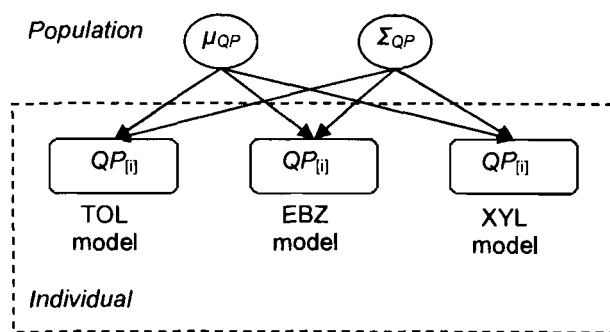


Figure 3. Schematic of the linkage among the multiple VOC models at level of specific parameter. This approach for alveolar ventilation (QP) was also applied for liver blood flow (QL).

The observed data can be defined by the following equation:

$$y_i \sim N(f(E_i, \Psi_i), \sigma) \quad (3)$$

Table 2. Prior information for model parameters.

Parameter	Population mean	Interindividual variability	Uncertainty (%)	Truncation interval (± 3 SD)
QP (L/hr)	417.49	83.5	10	167-668
QC (L/hr)	417.49	83.5	10	167-668
QLc (fraction of QC)	0.26	0.057	10	0.09-0.43
PB_{TOL}	15.6	1.72	10	10.45-20.75
PB_{EBZ}	28	3.08	10	18.76-37.24
PB_{XYL}	26.4	2.9	10	17.69-35.11
$CLint_{TOL}$ (L/hr)	170.8	85.4	10	0-426.9
$CLint_{EBZ}$ (L/hr)	102.8	51.4	10	0-1223.1
$CLint_{XYL}$ (L/hr)	489.2	244.6	10	0-256.9

Values used for the prior distributions are listed in Table 2. QP and QL were calculated for a 70 kg human based on Tardif et al. (1997). Hepatic clearance (CLH) was calculated as follows:

$$QL * CL_{int} / (QL + CL_{int}) \quad (4)$$

where $CL_{int} = V_{max}/Km$ and the maximal velocity V_{max} (mg/hr) was calculated as $V_{max}C$ (mg/hr/kg) x body weight (kg)^{0.7}. Starting values for individual parameters were generated by sampling from the prior distributions of population parameters.

Simulations

Monte Carlo Simulations were performed with *Cristal Ball 7* (Decisioneering, Denver, CO) to obtain the CV and CALV predictions for the population.

Markov Chain Monte Carlo were run on *WinBUGS* 1.4 (MRC and Imperial College of Science, Technology and Medicine, Cambridge, U.K). Markov chain Monte Carlo simulations were carried on five independent Markov chains. Convergence was monitored with the Brook, Gelman and Rubin convergence statistics [Gelman and Rubin, 1992; Brooks and Gelman, 1998] within *WinBUGS*. Markov chains were considered stationary when the R value stayed between 1 and 1.1. Once convergence was observed after m iterations the simulation was

continued m more iterations. Output from each 10th iteration of the last half of the MCMC sampling was used for statistical analysis.

Results

After trial 1, model fitted well the data (figure 4). Convergence was reached for all the parameters after 40000 iterations. The predictions at the individual level were different from the prior values. For toluene model individual predictions of: QPs ranged from 332.7 ± 60.9 to 427.6 ± 79.3 L/hr; QC ranged from 385.4 ± 85.7 to 467.6 ± 76 L/hr; QLc ranged from 0.253 ± 0.054 to 0.297 ± 0.049 QC; CL_{int} ranged from 195.1 ± 74.8 to 261.4 ± 65.5 L/hr; PB ranged from 13.63 ± 0.64 to 18.08 ± 0.68 . For ethylbenzene model individual predictions of: QPs ranged from 250.7 ± 42.2 to 428.0 ± 70 L/hr; QC ranged from 399.0 ± 83.1 to 500.2 ± 71.3 L/hr; QLc ranged from 0.255 ± 0.053 to 0.317 ± 0.05 QC; CL_{int} ranged from 147.1 ± 45.1 to 196.9 ± 34.6 L/hr; PB ranged from 25.43 ± 1.02 to 34.3 ± 1.05 . For xylene model individual predictions of: QPs ranged from 328.3 ± 66.5 to 431.5 ± 79.4 L/hr; QC ranged from 383.1 ± 74.3 to 480.1 ± 74.2 L/hr; QLc ranged from 0.249 ± 0.046 to 0.322 ± 0.043 QC; CL_{int} ranged from 449.3 ± 249.5 to 659.0 ± 210.9 L/hr; PB ranged from 21.64 ± 1.07 to 29.95 ± 1.33 .

Population posterior distributions of trial 1 are summarized in table 3. The numerical values of the population distributions were quite similar to the priors. For all the PBPK parameters, the uncertainty remained around the 10% of the prior value.

Table 3. Population posterior estimates of the alkylbenzene model after trial 1.

Parameter	Mean	Interindividual variability	Uncertainty (%)
<i>QP</i> (L/hr)	372.90	78.67	10.48%
<i>QC</i> (L/hr)	436.60	80.27	9.90%
<i>QLc</i> (L/hr)	0.28	0.05	10.62%
<i>PB_{TOL}</i>	16.22	1.72	8.93%
<i>PB_{EBZ}</i>	29.19	2.94	9.71%
<i>PB_{XYL}</i>	26.30	2.86	9.11%
<i>CLint_{TOL}</i> (L/hr)	233.20	80.90	10.28%
<i>CLint_{EBZ}</i> (L/hr)	172.40	48.64	10.05%
<i>CLint_{XYL}</i> (L/hr)	553.30	238.30	9.26%

Table 4. Population posterior estimates of the TEX model after trial 2

Parameter	Mean	Interindividual variability	Uncertainty (%)
<i>QP</i> (L/hr)	372.50	82.04	8.4%
<i>QC</i> (L/hr)	423.70	78.36	8.1%
<i>QLc</i> (L/hr)	0.28	0.04	10.7%
<i>PB_{TOL}</i>	16.00	1.71	7.0%
<i>PB_{EBZ}</i>	29.73	2.83	7.8%
<i>PB_{XYL}</i>	26.42	3.11	6.2%
<i>CLint_{TOL}</i> (L/hr)	238.00	68.04	13.2%
<i>CLint_{EBZ}</i> (L/hr)	185.00	42.31	10.7%
<i>CLint_{XYL}</i> (L/hr)	527.40	215.20	10.1%

For alveolar ventilation rate, the population mean (372.9 L/hr) decreased and interindividual variability (78.67 L/hr) stayed close to the prior values leading to a slight increase in the variability of this parameter. Cardiac output for the population (436.60 ± 80.27 L/hr) had lower variability (18% coefficient of variation) than its prior information. The fractional flow to liver (0.28 ± 0.05 *QC*) had higher population mean and lower interindividual variability after trial 1 MCMC simulations.

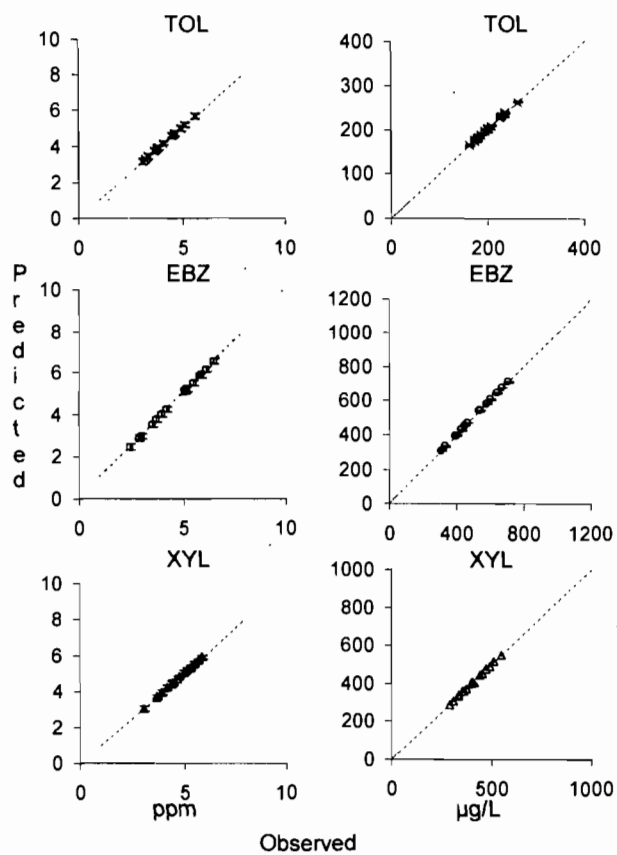


Figure 4. Comparison of observed data on toluene (TOL), ethyl benzene (EBZ) and *m*-xylene (XYL) venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) and alveolar concentrations (ppm) with the predictions obtained following trial 1.

The interindividual variability of PB was equal to the prior information (11 percent coefficient of variation) for all alkyl benzenes except a 1 percent decrease for EBZ. The population mean PB value increased for toluene (16.2) and ethylbenzene (29.2). For *m*-ylene, the population PB value, was the same as its prior.

The posterior mean values of intrinsic clearance at the population level were 36, 68 and 13 percent higher than the prior for TOL, EBZ and XYL. However, the interindividual variability of TOL, EBZ and XYL decreased to 35, 43 and 28 % C.V., respectively. Thus the population distribution of the intrinsic

clearance of XYL showed less changes from its priors compared to TOL and EBZ.

After trial 2 the posterior distributions for the population level were not different from their priors (Table 4). The model fitted adequately the 50 observed values (Figure 5). The individual predictions of all the PBPK parameters were different from the prior distributions (not shown).

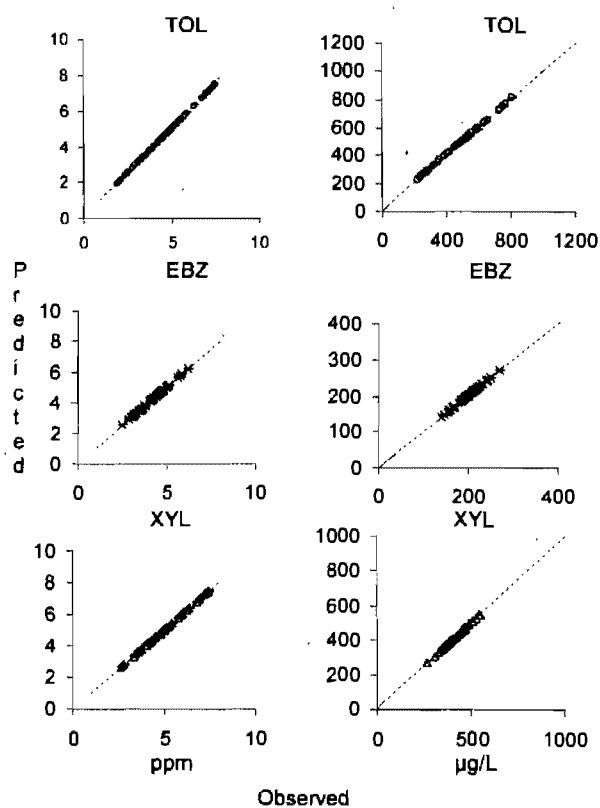


Figure 5. Individual predictions for venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) of toluene (TOL), ethyl benzene (EBZ) and *m*-xylene (XYL).

Figure 6 illustrates the distributions of venous blood concentrations using all the posterior estimates (Trial 1 and 2) of the PBPK input parameters. In all cases, the posterior estimates yielded a distribution which included the observed

data. This figure also suggests that no significant information was gained from trial 2 compared to trial 1.

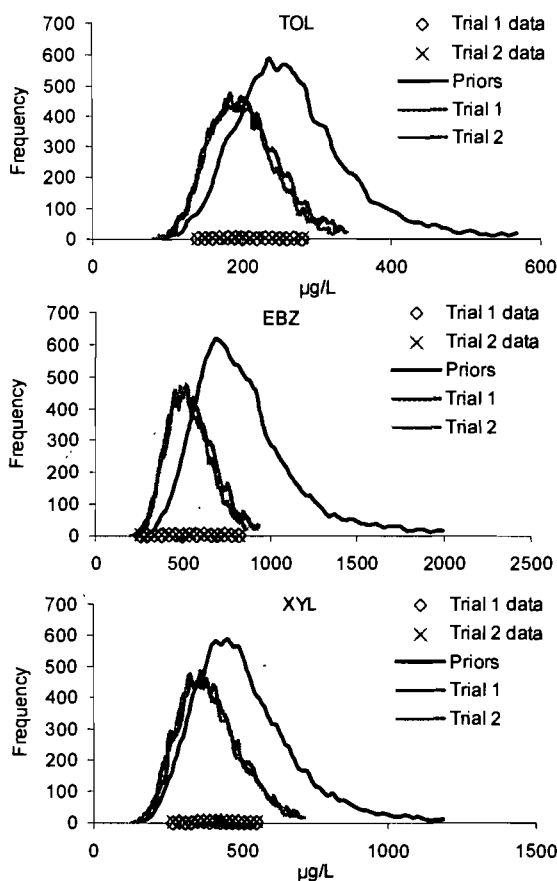


Figure 6. Comparison of observed data on toluene (TOL), ethyl benzene (EBZ) and m-xylene (XYL) venous blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) and alveolar concentrations (ppm) with the predictions obtained following sequential updating of input parameters.

Discussion

Several studies have applied MCMC simulations along with PBPK models to evaluate interindividual variability of PBPK parameters (e.g. metabolic rate, partition coefficients or tissue perfusion) (e.g. [Bois et al., 1996; Jonsson et al.,

2001a,b; Jonsson and Johanson, 2001a,b; Yokley et al., 2006; Covington et al., 2007]). The previous studies demonstrated the relevance of applying MCMC simulation with PBPK models to evaluate the interindividual variability of both the parameters as well as the dose metrics of relevance to exposure and risk assessment. The chronic inhalation exposure to VOCs in the environment leads to the onset of steady-state. It is therefore not necessary to use full PBPK model to predict dose metrics of VOCs since the input-output difference of concentration is constant over time. Steady state kinetics of VOCs, at low exposure concentrations, has already been studied by a number of investigators (e.g. [Andersen, 1981; Bogen, 1988; Pelekis, et al., 1997; Csanady and Filser 2001; Chiu and White 2006]).

The innovative feature of the present study relates to the fact that MCMC simulations are applied to a steady-state algorithm to characterize the population variability of input parameters and exposure biomarkers. Furthermore, this is also the first study investigating the feasibility of conducting MCMC simulations of steady-state kinetics with WinBUGS software as well as the unique use of a Monte Carlo sampling method for generating subject-specific data in data-poor situations.

After Trial 1, the parameters for both population and individual levels were different from their prior distributions, indicating that useful information was gained from the new kinetic data [Jonsson et al., 2001b]. Trial 2 posterior distributions, however, were not different from the priors implying that no

improvement or additional information was gained between the $n = 16$ and the $n = 50$ datasets.

For TOL, EBZ and XYL, the posterior distributions of PB were different from their prior information at the individual level but the population distributions did not widely change after MCMC analysis. Perhaps the numerical values of the prior information [Tardif et al., 2002] were precise enough to describe the observed data. Also the data used may not have contained enough additional information that is sufficiently sensitive to update the uncertainty and variability of PB .

In the present study, the ratio of alveolar ventilation to cardiac output remained between the 0.8 and 1.2, thus the resulting posterior distributions of QP and QC are physiologically reliable and can be used as input for detailed probabilistic analysis. It should be noted that the posterior distributions of QP and QL are in concordance with the published literature [e.g. Tardif et al. 1997, Bois, 2000a].

The increase of the posterior intrinsic clearances for TOL and EBZ was due to the discrepancy between the observed values and the model prediction. With the prior information, the model overestimated the concentration of TOL and EBZ at steady-state. It might be that the kinetic equilibrium in blood was not reached for EBZ and TOL the 6.5 hr time-point, which is unlikely to be the case. However the consequences of using concentrations different from steady-state can possibly lead to over-estimation of intrinsic clearance.

After trial 2, the resulting posterior distributions for the input parameters were not markedly different from the corresponding priors, indicating that the $n = 50$ dataset did not bring more information than the $n = 16$. Since both datasets were generated using the same sampling assumptions, presumably the posterior distributions were also quite similar. It is not known whether the use of a different experimental data set would have led to different or dispersed posterior distributions.

Theoretically, the trial 2 dataset could have brought more information on input parameters because of its higher number of samples but it was not the case in this study. In other words, in the present study, it was not particularly beneficial to generate a data set containing more than 16 subjects or repeat the trial with another set of generated subjects. However, this approach helped us ensure the confidence and relevance associated with the posteriors of the first trial.

It is relevant to note that the statistical analysis of the large sample size pharmacokinetic data is time-consuming. For example, convergence was not reached with the 50 subjects' dataset simulation, which might be due to the fact that prior distribution for this simulation was estimated with a sample with less variability thus it wasn't possible to give initial values enough over-dispersed in order to reduce the simulation time [Gelman and Rubin; 1992; Brooks, 1998].

Considering the Monte Carlo sampling method used for data generation, the alveolar air concentration of alkyl benzenes was calculated on the basis of known steady-state relationship with the venous blood concentration. The experimental alveolar concentration was not always well predicted by this ratio [Jonsson and

Johanson, 2001a], when the exposure does not attain steady-state. The exceptional model fits showed in Figures 4 and 5 (except for EBZ) can be due to the fact that the alveolar air concentration data used was generated with the same modeling algorithm used to perform the Bayesian analysis (i.e. this avoid model misspecification). However, the venous blood and alveolar air concentrations predictions at the individual level obtained with the model weren't as accurate as the generated data.

The Monte Carlo method employed to generate data sets for Bayesian analysis made use of only mean and standard deviation of 4 experimental measurements. Such an approach for data generation could be useful for implementing Bayesian approaches in data-poor situations (e.g. when only mean and standard deviation values are available), but care must be taken about the population representativity of the generated dataset. In this regard, one limitation of the present study, as several others in this area, relates to the fact that the parameter distributions are generally representative of an adult and not necessarily the entire population including sensitive sub-groups (infants, elderly, pregnant women, lactating women, ethnic group...). Therefore care must be taken when deciding when and how the posterior distributions for the PBPK parameter are used to make population-level predictions [U.S. EPA, 2006].

Overall, this is the first study applying the MCMC simulations method to analyse interindividual variability in biomarkers with a steady-state algorithm. In effect, this study confirms the feasibility of conducting MCMC simulations with a simple two-compartmental model describing the uptake and metabolism of VOCs during

chronic exposures in humans. The advantage of using an algebraic description of steady state over full-fledged PBPK models relates to the use of less parameters and less computer time to estimate the biomarker concentration and dose metrics of relevance to risk-assessment [Pelekis et al., 1997]. Furthermore, Bayesian analysis with steady-state algorithms can be conducted per Markov chain Monte Carlo methods using Gibbs sampling in WinBUGS, as demonstrated in this study (contrary to the frequently used software MCSim [Bois and Mazole, 1997] designed for Linux O.S.). Additionally, this study has used a sampling approach for MCMC modeling during data-poor situations, characterized by fewer human data. The posterior distributions of the input parameters obtained in this study are potentially be useful in interpreting or predicting the biomarker data in adult populations chronically exposed to the alkyl benzenes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The modeling research work described in this article was undertaken with support from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada. The authors thank Katia Sokoloff for her assistance during the preparation of this manuscript.

References

- Andersen, M. E. 1981. A physiologically based toxicokinetic description of the metabolism of inhaled gases and vapors: analysis at steady state. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60:509-526.
- Bernillon, P., and Bois, F. Y. 2000. Statistical issues in toxicokinetic modeling: a bayesian perspective. *Environ. Health. Perspect.* 108 Suppl 5:883-893.
- Bogen, K. T. 1988. Pharmacokinetics for regulatory risk analysis: the case of trichloroethylene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 8:447-466.
- Bois, F. Y., Gelman, A., Jiang, J., Maszle, D. R., Zeise, L., and Alexeef, G. 1996. Population toxicokinetics of tetrachloroethylene. *Arch. Toxicol.* 70 (6):347-355.
- Bois, F. Y. 2000a. Statistical analysis of Clewell et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ. Health. Perspect.* 108 Suppl 2:307-316
- Bois, F. Y. 2000b. Statistical analysis of Fisher et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ. Health. Perspect.* 108 Suppl 2:275-282.
- Bois, F. Y., and Maszle, D. R. 1997. MCSim a Monte Carlo simulation program. *J. Stat. Sci.* 2 (9): <http://www.stat.ucla.edu/journals/jss/v02/i09>
- Brooks, S. P., and Gelman, A. 1998. Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *J. Comput. Graph. Stat.* 7:434-455.
- Chiu, W. A. and White, P. 2006: Steady-state solutions to PBPK models and their applications to risk assessment I: Route-to-route extrapolation of volatile chemicals. *Risk Anal.* 26 (3):769-780.
- Covington, T. R., Gentry, P. R., Van Landingham, C. B., Andersen, M. E., Kester, J. E. and Clewell, H. J. 2007. The use of Markov chain Monte Carlo uncertainty

analysis to support a Public Health Goal for perchloroethylene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47 (1):1-18.

Csanady, G. A., and Filser, J. G. 2001. The relevance of physical activity for the kinetics of inhaled gaseous substances. *Arch. Toxicol.* 74: 663-672.

Gelman, A., and Rubin, D. B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat. Sci.* 7 (4):457-472.

Jonsson, F., and Johanson, G. 2001a. Bayesian estimation of variability in adipose tissue blood flow in man by physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure to toluene. *Toxicology.* 157 (3):177-193.

Jonsson, F., and Johanson, G. 2001b. A Bayesian analysis of the influence of GSTT1 polymorphism on the cancer risk estimate for dichloromethane. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 174 (2):99-112.

Jonsson, F., Bois, F. Y., and Johanson, G. 2001a. Assessing the reliability of PBPK models using data from methyl chloride-exposed, non-conjugating human subjects. *Arch. Toxicol.* 75 (4):189-199.

Jonsson, F., Bois, F., and Johanson, G. 2001b. Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure of humans to dichloromethane during moderate to heavy exercise. *Toxicol. Sci.* 59 (2):209-218.

Jonsson, F., and Johanson, G. 2002. Physiologically based modeling of the inhalation kinetics of styrene in humans using a bayesian population approach. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 179 (1):35-49.

Pelekis, M., Krewski, D., and Krishnan, K. 1997. Physiologically based algebraic expressions for predicting steady-state toxicokinetics of inhaled vapors. *Toxicol. Methods*. 7:205-225.

Tan, Y. M., Liao, K. H., Clewell, H. J. 3rd. 2007. Reverse dosimetry: interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 17(7):591-603.

Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., and Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol. Appl. Pharmacol*. 144 (1):120-134.

Tardif, R., Droz, P. O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G., and Truchon, G. 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicol. Lett*. 134 (1-3):155-163.

Thomas, R. S., Bigelow, P. L., Keefe, T. J., and Yang, R. S. 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J*. 57 (1):23-32.

U.S. Environmental Protection Agency (EPA). 2006. Approaches for the Application of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Models and Supporting Data in Risk Assessment. External Review Report. <http://epa.gov/ncea>

Yokley, K., Tran, H. T., Pekari, K., Rappaport, S., Riihimaki, V., Rothman, N., Waidyanatha, S., and Schlosser, P. M. 2006. Physiologically-based

pharmacokinetic modeling of benzene in humans: a Bayesian approach. *Risk Anal.* 26 (4):925-943.

Biography

Thomas Peyret is a Master's degree student at Département de santé environnementale et santé au travail at Université de Montréal. His thesis work relates to the development of pharmacokinetic and statistical modeling approaches for dealing with interindividual variability in pharmacokinetic determinants in view of interpreting human biomonitoring data for volatile organic chemicals.

Kannan Krishnan Ph.D., Fellow A.T.S. is professor of Occupational and Environmental Health at Université de Montréal where he is also Director of Centre interuniversitaire de recherche en toxicologie (CIRTOX). His research interests are in the areas of computational toxicology, risk assessment methods and PBPK modeling.

3. Chapitre III

4. Article No 2: Estimation of the interindividual pharmacokinetic variability factors for volatile organic chemicals

(To be submitted to *Journal of Toxicology and Environmental Health (A)*)

**ESTIMATION OF THE INTERINDIVIDUAL PHARMACOKINETIC VARIABILITY
FACTORS FOR VOLATILE ORGANIC CHEMICALS**

THOMAS PEYRET AND KANNAN KRISHNAN

Département de santé environnementale et santé au travail,
Université de Montréal, C.P. 6128, Succ. Centre-ville
Montréal, Québec, Canada, H3C 3J7

Keywords: intraspecies uncertainty factor, interindividual variability, toxicokinetics steady-state, VOCs, blood: air partition coefficient

Address for correspondence: Kannan Krishnan, Faculté de médecine, Département de santé environnementale et santé au travail, Université de Montréal, 2375 Côte Ste. Catherine, Local # 4105, Montréal, Québec, Canada, H3T 1A8, Tel: (514) 343-6581, Fax: (514) 343-2200

Abstract

Reference concentrations (RfC) of air borne contaminants are derived from toxicity threshold values along with uncertainty factors (UF) to reflect the extent of lack of knowledge and mechanistic data. An alternative for using the value of 10 as the uncertainty factor is to use a chemical-specific intraspecies (IS) UF on the basis of available information for the toxicokinetic (TK) and toxicodynamic components. During chronic inhalation of volatile organic compounds (VOCs), the arterial blood concentration at steady state is determined by its critical determinants, namely blood: air partition coefficient (PB), intrinsic clearance (CL_{int}) alveolar ventilation (QP), cardiac output (QC) and the fraction of QC flowing through the liver (QL_c). The objectives of this study were to: (i) develop population distributions of the mechanistic determinants of PB on the basis of Markov chain Monte Carlo (MCMC) simulation, and (ii) integrate the above data along with distributions of other input parameters within a steady-state algorithm to estimate the interindividual toxicokinetic uncertainty factor (UF_{ISTK}) associated with chronic inhalation exposure to 20 VOCs. The population distributions obtained for the blood fractions of lipid (0.004 ± 0.099), water (0.82 ± 0.05) and protein (0.1735 ± 0.0107) content were biologically relevant. The resulting arterial blood concentration UF_{ISTK} of the 20 VOCs ranged from 1.17 (methyl chloride and vinyl chloride) to 1.93 (tetrachloroethylene). The UF_{ISTK} associated with the rate of amount metabolised ranged from 1.29 (dichloromethane) to 2.86 (1,1,1-trichloroethane). Those UF_{ISTK} estimates were consistent with the literature. This study demonstrated the feasibility of evaluating UF_{ISTK} with MCMC-based

distributions of input parameters of an algebraic expression for arterial blood concentration at steady state.

Introduction

Reference concentrations (RfC) of air borne contaminants are derived from toxicity benchmark values such as the no-observed adverse effect level (NOAEL), lowest observed adverse effect level (LOAEL) or benchmark concentration (BMC) along with uncertainty factors to reflect the extent of lack of knowledge and mechanistic data. The default value for intraspecies uncertainty factor, or more appropriately the intraspecies variability factor (IVF), is 10 (USEPA, 1994). Alternatively, a chemical-specific adjustment factor (CSAF) may be used on the basis of available information (WHO 2005) for the toxicokinetic and toxicodynamic components. Based on the study of Renwick and Lazarus (1998), Health Canada uses 3.16 (i.e., $10^{0.5}$) as the value for the intra-species variability factor related to the toxicokinetic component.

The magnitude of the toxicokinetic component of the intraspecies variability factor (UF_{ISTK}) can be evaluated with physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models (Clewel et al., 2002). However, the RfC derivation is based on continuous lifetime human exposure to volatile organic chemicals (VOCs), implying that a PBPK algorithm for steady-state is sufficient to evaluate UF_{ISTK} (Nong and Krishnan, 2007). The default measure of internal dose that is used in RfC derivation is the arterial blood concentration (C_{ss}) of the inhaled parent chemical (US EPA 1994, 2002). The C_{ss} might vary from one individual to another, when they are exposed to the same atmospheric concentration of chemicals, as a function of the population variability of the critical determinants of

steady-state, (i.e. alveolar ventilation rate, QP ; fraction of liver blood flow, QL_c ; cardiac output, QC ; blood: air partition coefficient, PB ; and intrinsic clearance, CL_{int}) (Andersen, 1981; Bogen, 1988.; Pelekis et al., 1997; Csanady and Filser, 2001, Chiu and White, 2006).

It is logical then to use a steady-state algorithm for estimating the UF_{ISTK} for VOCs (Nong and Krishnan, 2007). However, the probability distributions of the input parameters are required in order to assess the extent of population distribution of internal dose (e.g. Portier and Kaplan, 1989; Cox, 1996; Sweeney et al., 2001; Gentry et al., 2002; Lipscomb et al., 2003a). An emerging approach in this regard is the integration of Markov chain Monte Carlo (MCMC) simulation with PBPK modeling (e.g. Bois et al., 1996a; Bois et al., 1996b; Bois, 2000a; 2000b; Jonsson and Johanson, 2001; 2002; 2003). All the published studies, however, attempted the use of MCMC with complete PBPK models requiring the evaluation and refinement of about 20 input parameters. However, in reality, for estimating the internal dose in humans exposed to VOCs chronically, or alternatively for estimating UF_{ISTK} , a steady-state algorithm is sufficient which only requires fewer parameters than the full-fledged PBPK model (Andersen, 1981; Bogen, 1988.; Pelekis et al., 1997; Csanady and Filser, 2001, Chiu and White, 2006). We recently updated the distributions of physiological parameters (i.e., QP , QC , QL_c) required for solving the steady-state algorithm, for three VOCs (toluene, ethylbenzene, *m*-xylene) (Peyret and Krishnan, in press). To evaluate the interindividual variability of the internal dose of other inhaled VOCs,

then we only need distributions for the chemical-specific parameters (i.e. CL_{int} and PB). The interindividual variability of CL_{int} can be described on the basis of variability of protein content (Lipscomb et al. 2003a). However, distributions of the mechanistic determinants of blood:air partition coefficient (PB) are not available, even though experimental data on individual variability of PB have been collected for a VOC (toluene) (Pierce et al., 1996). These limited data in turn can be analysed by MCMC approach to characterise the population variability of the mechanistic determinants (content of neutral lipid, phospholipid and binding proteins) of PB , but this has never been attempted so far.

The objectives of this study therefore were to: (i) develop population distributions of the mechanistic determinants of PB on the basis of MCMC simulation, and (ii) integrate the above data along with distributions of other input parameters within a steady-state algorithm to estimate UF_{ISTK} associated with chronic inhalation exposure to several VOCs.

Methods

Development of statistical model for human Blood: air partition coefficient

The statistical model for human blood: air partition coefficient (PC) was developed initially on the basis of experimental data for toluene. The algorithm used in this study for computing blood: air PC (Equation 1), was based on chemical lipophilicity, tissue composition and protein binding as described previously (Poulin et al., 1999; Béliveau and Krishnan, 2000; Béliveau et al., 2005).

$$PB = K_{oa} \times F_l + K_{wa} \times F_w + f_b \times K_{pa} \times F_p \quad (1)$$

where PB = blood: air partition coefficient; K_{oa} = octanol (or oil): air partition coefficient; K_{wa} = water (or saline): air partition coefficient; K_{pa} = protein: air partition coefficient; F_l = blood content of neutral lipid equivalents (weight/weight); F_w = content of water equivalents in blood (weight/weight); F_p = protein content of blood (weight/weight); f_b = fraction of total protein involved in the partitioning process.

This algorithm was included in a two level normal hierarchical model (Figure 1) to account for interindividual variability. The statistical model was developed based on previous MCMC-PBPK modeling approaches (e.g. Bois et al., 1996a; Bernillon and Bois, 2000; Jonsson et al., 2001). At the individual level, the likelihood term (Equation 2) was given by the normal measurement model

(Bois, 2000a). y_i corresponds to the measurement of toluene blood: air partition coefficient for the subject i .

$$Y \sim N(f(\theta, P), \sigma) \quad (2)$$

The PB measurements were a function f of individual parameters of unknown values θ (e.g., blood composition and protein: air PC) and known values P (oil and water: air PC). The function f is the mechanistic algorithm for blood: air PC. The residual error σ of the model corresponds essentially to model misspecification and random error in model parameters (Bois, 2000b).

At the population level, θ was defined as being normally distributed with mean μ (i.e. population average, normal distribution with parameters mean M and standard deviation S) as well as standard deviation Σ (corresponding to interindividual variability), which are both affected by prior uncertainty. Protein: air partition coefficient, however, was represented only on one level (population average μ).

Prior distributions and parameterization

Prior distributions

The prior distributions used for MCMC simulations in the biologically based algorithm for blood: air PC are listed in Table I. Bayesian analysis was carried on blood composition parameters (i.e. F_l , F_w , F_p) and protein: air PC (K_{pa}). *A priori* normal distribution with 10 % uncertainty (associated with experimental

measurement) was assigned to those parameters. Mean value M used for human tissue composition was obtained in the literature (Béliveau et al., 2005). For K_{pa} , a semi-informative prior was assigned with a mean value M arbitrarily set to 50 and 200 percent uncertainty (S). This prior distribution was considered semi-informative because its shape might be known as normal. f_b , the fraction of total protein involved in partitioning process was set to 0.5 for toluene according to Béliveau et al. (2005) study.

The residual error of the model, σ was set to 11% of mean PB value for toluene, this value corresponding to the coefficient of variation for toluene human PB reported by Tardif et al. (2002). The values of other parameters (K_{oa} and K_{wa}) used in the present analysis are listed in Table II. The standard deviations (SD) of K_{oa} and K_{sa} were calculated from their standard errors (Gargas et al., 1989) based on sample size ($n=3$).

Markov chain Monte Carlo (MCMC) and Monte Carlo simulations

The MCMC modeling of blood: air PC was conducted using WinBUGS 1.4. (MRC and Imperial College of Science, Technology and Medicine, Cambridge, U.K.). This software allows Markov chain simulation modeling using the Gibbs sampler algorithm.

Five independent Markov chains, using different random initial values were run for the statistical analysis. Convergence was graphically monitored using Gelman and Rubin (1992) statistical method, as modified by Brooks and Gelman

(1998). Markov Chain convergence was assumed to be attained when the R value was between 1 and 1.1. Every 10th iteration of the second half of the Markov chains was kept for statistical analysis of the posterior distributions of the parameters.

Posterior estimates of blood composition and protein: air partition coefficients were used in 10000 Monte Carlo iterations to provide a probabilistic simulation of toluene blood: air PC for an adult population. The experimental data used in this Bayesian analysis corresponded to *in vivo* measurements of toluene blood: air partition coefficients from 26 human volunteers (20-62 years old) (Pierce et al., 1996). For volunteers with repeated *PB* measurements (5 volunteers), the average value was used for the statistical analysis. The mean and standard deviation used in the distributions corresponded to the population mean and interindividual variability values, respectively.

Predicting distribution of human blood: air partition coefficients for 20 VOCs

Twenty VOCs were studied (1,1,1,2-Tetrachloroethane, 1,1,1-trichloroethane, 1,1,2,2-Tetrachloroethane, 1,1,2-trichloroethane, 1,1-dichloroethane, 1,2-dichloroethane, benzene, carbon tetrachloride, chloroethane, chloroform, methyl chloride, cis-1,2-dichloroethylene, trans-1,2-dichloroethylene, dichloromethane, hexachloroethane, toluene, *m*-xylene, tetrachloroethylene, trichloroethylene, vinyl chloride). Monte Carlo simulations were applied on the human blood: air PC model (Equation 1) to predict the human blood: air PC

distribution for these VOCs. For this purpose distributions were assigned to the fraction of blood component (i.e. F_l , F_w , F_p). The other parameters (i.e. K_{oa} , K_{wa} , K_{pa} and f_b) were set as constants. f_b was set equal to zero for 1,1,1,2-tetrachloroethane and hexachloroethane because their geometric volume was above 300 \AA^3 (Béliveau et al., 2005). The data on the variability of the content of neutral lipids, phospholipids, and water in human blood were obtained from the previous MCMC simulation. The data on oil: air and saline: air (or water: air) PCs at 37°C for the VOCs investigated in the present study were obtained from Gargas *et al.* (1989) study. K_{pa} values were derived according to Béliveau et al., (2005), which involves the calculation of the difference between experimental PB values and those predicted based on the consideration of lipid and water solubility of individual VOCs (Poulin and Krishnan, 1996a; 1996b; Poulin et al., 1999; Béliveau and Krishnan 2000a; 2000b). During Monte Carlo simulations, values of the sum of F_l , F_w and F_p exceeding the 0.99-1.01 range were discarded to avoid biochemical mass balance errors.

Estimation of UF_{ISTK} for inhalation exposure to VOCs

The distributions of the parameters (i.e. QP , QC , QLC , PB) obtained in our previous study (Peyret and Krishnan, in press) along with enzyme content distributions obtained from the literature (Lipscomb et al., 2003b; Béliveau et al., 2005) were used as input parameters for Monte Carlo simulations in a steady state algorithm for the inhalation of VOCs. Arterial blood concentration (C_{Ass})

and the rate of amount metabolized (RAM) were used as dose metrics for the estimation of UF_{ISTK} for the 20 VOCs.

PBPK algorithm for steady state

The algebraic expressions for steady-state, derived from PBPK models previously (Pelekis et al., 1997, Nong and Krishnan, 2007) were used in this study. Liver blood flow (QL) was computed as $QL_c \times QC$. Thus the model for arterial blood concentration at steady state had 5 input parameters (equation 3), contrary to the 17 parameters in a full-fledged PBPK model:

$$C_{Ass} = \frac{C_{inh}}{\frac{1}{PB} + \frac{1}{QP} \times \left(\frac{1}{\frac{1}{(QL_c \times QC)} + \frac{1}{CL_{int}}} \right)} \quad (3)$$

where QP = alveolar ventilation rate, QC = cardiac output, QL_c = liver blood flow rate as fraction of cardiac output, PB = blood:air partition coefficient and CL_{int} = intrinsic clearance.

To account for variability in human metabolism as well as to aid in the extrapolation of animal data to humans, the intrinsic clearance was expressed as a function of chemical-specific (V_{max} , K_m) and species-specific ($[MSP]$, $[2E1]$)

parameters. Accordingly, CL_{int} was calculated as follows (Wilkinson and Shand, 1975; Béliveau et al., 2005).

$$CL_{int} = \frac{V_{max}}{K_m} \times [2E1] \times [MSP] \times V_l \quad (4)$$

where V_{max} = enzyme content-normalized maximum velocity (mg/hr/pmol CYP2E1); K_m = affinity constant of substrate to CYP2E1; $[MSP]$ = concentration of microsomal protein (mg/g liver); V_l = liver volume (g, considering liver) and $[2E1]$ = cytochrome P450 2E1 concentration in microsomal proteins (pmol/mg MSP).

The rate of amount metabolized was calculated as follows (Krishnan and Andersen, 2007):

$$RAM = \frac{QL \times CL_{int}}{QL + CL_{int}} \times C_{Ass} \quad (5)$$

Parameterization of the steady-state algorithm for an adult population

Physiological parameters

Distributions of fractional liver blood flow (QL_c), cardiac output (QC) and alveolar ventilation rate (QP) (Table III) correspond to posterior estimates obtained in our previous study for an adult population (Peyret and Krishnan, in

press). A lognormal distribution was assigned to QP and QC (Thomas et al., 1996). A normal distribution was assigned to QLc (Thomas et al., 1996; Portier and Kaplan, 1989). Distributions of QLc , QC and QP were truncated to ± 3 standard deviations (SD) (Thomas et al., 1996).

The mean, standard deviation, minimum and maximum values as well as distribution shape (lognormal) of $[MSP]$ and $[2E1]$ (Table I) were obtained from Lipscomb et al. (2003a). A liver volume of 1820 mL was used for solving Equation 4 (Brown et al., 1997).

Chemical specific parameters

The numerical values of human blood: air PC distributions (i.e. mean, standard deviation, minimum and maximum) for 17 VOCs were obtained from MC simulations in this study. For the toluene, we used the posterior distributions of human blood: air PC obtained in article 1. A normal distribution was assumed for blood: air PCs (Thomas et al., 1996). Intrinsic clearance (CL_{int}) normalized to enzyme content was calculated after dividing the V_{max} (enzyme content-normalized) by the K_m as reported in Béliveau et al. (2005). Metabolic constants (i.e. V_{max} and K_m) were obtained from the literature for rat (Gargas et al., 1988; Haddad et al., 2001; Haddad et al., 2000) and human (Laparé et al., 1995; Thomas et al., 1996). Enzyme content-normalized V_{max} was calculated dividing the hepatic content of CYP2E1, assuming that liver and CYP2E1 are the major determinants of the metabolic clearance for the VOCs investigated in this study (Béliveau et al., 2005). From experimental rat V_{max} , the enzyme content-

normalized V_{\max} were obtained using the following data: 80 pmol [2E1]/mg MSP, 60 mg [MSP]/g liver and 10 g liver per animal (Béliveau et al., 2005). To derive enzyme content-normalized V_{\max} from experimental human V_{\max} , the human adult [2E1], [MSP] and liver weight used were 54.61 pmol/mg MSP, 57.07 mg/ g liver and 1820 g, respectively (Lipscomb et al., 2003b; Brown et al., 1997). The enzyme-normalized V_{\max} and K_m values are presented in Table IV.

The steady-state algebraic expressions were parameterized for 20 VOCs and Monte Carlo simulations were carried out using Crystal Ball 7. Ten thousand simulations were performed for a chronic exposure scenario (1 ppm) to provide population distributions of CAss and RAM. Sensitivity analyses on CAss were carried on all 20 VOCs. The sensitivity ratios were calculated as follows:

$$\Delta C_{Ass} / \Delta PK$$

where ΔC_{Ass} is the variation of CAss resulting from a change in the value of the PK parameter and ΔPK is the variation of the PK parameter (i.e. 10 percent of the default parameter value).

Interindividual variability factors of arterial blood concentration (CAss-UF_{ISTK}) of VOCs were calculated as IVF = 95%CAss / 50%CAss where 95% and 50% represent the 95th and 50th percentiles of the Monte Carlo estimates. The RAM-UF_{ISTK} was also calculated in a similar fashion.

Results

Bayesian analysis of the toluene human blood: air PC algorithm

The initial Markov Chain Monte Carlo analysis, amounting to 30000 iterations, took 187 seconds on a 2.19-GHz personal computer running under Windows XP operating system. For all parameters, convergence of the 5 chains was reached after roughly 15000 iterations. Every 10th of the 15000 last iterations of the 5 independent chains were kept to generate the reported posterior results.

Figure 2 represents the predictions of the statistical model for toluene *PB* at the individual level. The model fits the data adequately (predicted = 0.87 x observed, $R^2 = 0.83$) (Figure 2a). The correlation between observed and predicted values was further improved (predicted = 0.97 x observed, $R^2 = 0.98$, figure 2b) discarding the one volunteer with *PB* = 74.7 (ID # 13 from Pierce et al., 1996) from the analysis.

The population level posterior distributions of lipid, water, and protein contents along with protein:air PCs are presented in table V. The mean blood composition values did not differ from prior information for all components. However interindividual variability was much wider for the posterior distribution of the lipid fraction (0.0099); however, it was lower for water and protein content (0.0517 and 0.0107, respectively). Uncertainty surrounding the parameters decreased considerably (i.e., from 10% *a priori* down to *a posteriori* values of 0.25, 2.82 and 0.62 %, respectively for F_l , F_w and F_p). The distributions of F_l , F_w and F_p were graphically monitored on WinBUGS and the data appeared to

suggest normal rather than lognormal shape. Accordingly, a lognormal shape was assigned to these parameters for the Monte Carlo simulations of blood: air PC. The posterior estimate of the toluene protein:air PC (106.2 ± 18.35) is in accordance with the value obtained according to the method of Béliveau et al. (2005) (109.5).

Figure 3 represents the prior vs posterior distribution of toluene PB at the population level. Those distributions were obtained from two Monte Carlo simulations (10000 iterations) using the prior and posterior population mean and interindividual variability values along with distribution shapes presented in Tables II and III. The distributions used for F_l , F_w , F_p , K_{oa} , K_{wa} and K_{pa} were truncated at ± 3 SD. Population posterior distribution of toluene PB was equal to 14.23 ± 4.73 with 12.93 and 24.38 as 50th and 95th percentiles, respectively. The prior distribution of toluene blood:air PC for the population was equal to 14.18 ± 5.49 with 13.41 and 24.31 as 50th and 95th percentile values, respectively.

Distributions of human blood:air partition coefficients

Table VI summarizes the statistics of the Monte Carlo simulations of the human blood:air PCs along with experimental data for several VOCs (Gargas et al., 1989). The predictions of human blood:air PCs (Table VI and figures 4 and 5) encompassed all the measured data.

The predicted distributions of human PB were very wide for some VOCs. The coefficient of variation associated with the predictions ranged from 0.04 (methyl chloride) to 1.3 (hexachloroethane) with a median of 0.28. Figure 4

shows 6 examples (namely 1,1,1,2-tetrachloroethane, carbon tetrachloride, dichloromethane, vinyl chloride, methyl chloride, tetrachloroethylene) of the distributions resulting of Monte Carlo simulations on the human blood: air partition coefficient.

Estimation of UF_{TK}

Table VII presents the 50th and 95th percentiles predicted for the CAss of the 20 VOCs. The resulting CAss- UF_{ISTK} of the 20 VOCs ranged from 1.17 (methyl chloride and vinyl chloride) to 1.93 (tetrachloroethylene) (Table VIII). The RAM- UF_{ISTK} ranged from 1.29 (dichloromethane) to 2.86 (1,1,1-trichloroethane) (Table VIII).

The sensitivity ratios of the PK parameters for CAss are reported in Table IX. These results indicate that the relative impact of the input parameters on UF_{ISTK} varies from one chemical to another limiting the generalizability of the magnitude and determinant of UF_{ISTK} .

Discussion

The interindividual variability in internal dose of VOCs during chronic inhalation exposures is due to the net effect of inter-subject variation in key determinants of steady-state pharmacokinetics, namely, alveolar ventilation rate (QP), fraction of liver blood flow (QL_c), cardiac output (QC), blood:air partition coefficient (PB), and intrinsic clearance (CL_{int}). The steady-state pharmacokinetic algorithm and its use in evaluating the UF_{ISTK} have been described in the literature (Andersen, 1981; Bogen, 1988.; Pelekis et al., 1997; Csanady and Filser, 2001, Chiu and White 2006). However, the present study for the first time, demonstrated the estimation of UF_{ISTK} on the basis of Monte Carlo simulation of the steady-state algorithm, and in this regard it also used the MCMC approach for characterizing the distributions of the mechanistic determinants of PB .

Neither the interindividual variability of mechanistic determinants of partitioning into blood nor the characteristics of statistical distribution of PB has been systematically investigated. In this regard, Pierce et al. (1996) determined PB of toluene in several individuals and reported that it varied between 10.8 and 74.7. Pelekis *et al.* (1995), on the other hand, used the known low and high ends of the tissue composition data in a human PBPK model to predict the range of tissue dose of dichloromethane. However, these authors did not investigate the interindividual variability of blood:air partition coefficient.

The statistical-mechanistic model developed in the present study gave reasonably good predictions of the human blood: air partition coefficient for toluene both at individual and population levels. The population level prediction of toluene PB (14.07 ± 4.52) was in accordance with the point estimate (15.6) used frequently in human toluene PBPK models (Laparé et al., 1993; Tardif et al., 1995; Tardif et al., 1997; Tardif et al., 2002; Ali and Tardif, 1999; Haddad et al., 2001). But it was not representative of the mean values of the experiments of Pierce *et al.* (1996) (21), Jonsson and Johansson (2001) (18.3) as well as Dills et al. (1994) (19) even though these values are comprised within the distribution of PB values determined in the present study.

The distribution of toluene PB in human population showed less variability after Bayesian update (i.e., coefficient of variation = 0.32 for posterior and 0.38 for prior distribution). The parameters related to protein binding (F_p , K_{pa} , f_b) are the more sensitive for toluene PB (not shown), and accordingly the prior distributions did not fit the extremely high value obtained in humans (74.7 (Pierce et al. 1996)) but the posterior estimates did. Clearly, the highest PB value measured using human blood (74.7) by Pierce et al. (1996) exceeds the 10% variation commonly used for Monte Carlo simulations (Thomas et al., 1996; Tardif et al., 2002) indicating that more robust estimates of blood composition are required for estimating and supporting the variability estimates of PB specified in PBPK models.

The mean value of the posterior estimates of blood composition parameters (F_i , F_w , F_p) did not differ from the prior information. However, interindividual variability has changed *posteriori*. The population variation associated with the neutral lipid-equivalent was drastically enhanced whereas that of the other blood constituents showed less than 10 per cent posterior variability. The similarity of the mean values between prior and posterior blood composition could confirm the biological relevance of the estimates. Ryan and Mills (1997) reported 0.24-0.38% of lipid (triglycerides, phospholipids, cholesterol and cholesterol ester) in human plasma; this value is within the 0.4% used by Poulin et al. (1999) in their studies. Dills et al. (1994) reported total blood lipid content of 0.0027%, as mean, with 0.001% and 0.01% as minimum and maximum. The interindividual variability estimated in the present study was much larger, but such observations of enormous variability in the quantity of cholesterol and triglycerides in human plasma have been reported in the literature (e.g. Mahle et al. 2007). For several VOCs, the protein binding/partitioning component was the major determinant of *PB*, consistent with previous observations of Lam et al. (1990), who reported a high concentration of hydrophobic chemicals (namely *n*-hexane, toluene, chloroform, methyl isobutyl ketone and diethyl ether) in plasma protein precipitate (ppt) and in hemoglobin (Hb). However, a quantitative comparison of the protein (Hb and ppt): air PC from Lam et al. data is difficult due to experimental limitations but qualitatively their data concur with the present study in that protein binding is an important determinant of human *PB* for lipophilic VOCs.

The MCMC analysis conducted in the present study yielded posterior distributions of parameters of varying ranges for the various VOCs including enormous variability of PB for some VOCs. In all cases, however, the predicted range encompassed all the experimental data of Gargas et al., (1989). For some chemicals, the predicted PB variability was due to the variability of the lipid content for which the posterior estimate had a coefficient of variation of 1.2 and a much lower median value (0.0017) compared to the prior (0.004). This was confirmed by calculating PB for the 20 VOCs using the high and low value (mean \pm 3 standard deviations) of F_i .

The information on the distributions of PB generated in the present study were used to estimate the distributions of internal dose in humans chronically exposed to VOCs and thereby the magnitude of UF_{ISTK} . A chemical-specific UF_{ISTK} can be estimated on the basis of knowledge about the kinetic behaviour of the chemical or its kinetic determinants (Renwick, and Lazarus, 1998). PBPK models are useful in this regard (e.g. US. EPA, 1994; Jonsson and Johansson, 2001; Sweeney et al., 2001; Clewell et al., 2002; David et al., 2006). However, the present study used a simpler steady-state algorithm that uses few input parameters (i.e. QP , QL , PB , and CL_{int}) but yields the same results as the PBPK model for chronic exposure scenarios. Nong and Krishnan (2007) have recently estimated the UF_{ISTK} for benzene, methyl chloride and chloroform using a steady-state algorithm combined with a probability bounds (P-bounds) or a Monte Carlo approach. They obtained UF_{ISTK} within the factor of 3.2, in accordance with other

published reports (Portier and Kaplan, 1989; Allen et al., 1996; Bois et al., 1996a; Thomas et al., 1996; Delic et al., 2000). The CAss-UF_{ISTK} obtained in the present study for benzene (1.45), carbon tetrachloride (1.70) and chloroform (1.43) are slightly higher than those reported by Nong and Krishnan (2007) performing a Monte Carlo simulation (benzene = 1.15, carbon tetrachloride = 1.25 and chloroform = 1.21). The same trend was observed for RAM-UF_{ISTK}, i.e., the values obtained in the present study (benzene = 1.40, carbon tetrachloride = 1.91 and chloroform = 1.32) were higher than those reported by Nong and Krishnan (2007) (benzene = 1.26, carbon tetrachloride = 1.49 and chloroform = 1.26). Even though the mean values of *PB* were similar in the two studies, the interindividual variability based on MCMC simulation gave rise to a wider range of predicted RAM and CAss. Even though the variability of internal dose measures obtained in this study was greater than that projected by previous studies (based on presumed 10% variability of *PB* and presumed distributions of CLint), the magnitude of UF_{ISTK} was still within the default value of 3.16. This study, more importantly, has simulated for the first time the steady-state internal dose of VOCs, using a simple algorithm, for which parameters were obtained using MCMC approach combined with current knowledge on the mechanistic determinants. Extension of this approach to other subgroups of population will allow a more comprehensive evaluation of the magnitude of chemical-specific UF_{ISTK} for health risk assessment of VOCs.

References

- Ali, N., Tardif, R., 1999. Toxicokinetic modeling of the combined exposure to toluene and N-hexane in rats and humans. *J Occup Health* 41, 95-103.
- Allen, B. C., Covington, T. R., Clewell, H. J., 1996. Investigation of the impact of pharmacokinetic variability and uncertainty on risks predicted with a pharmacokinetic model for chloroform. *Toxicology*. 111, 289-303.
- Andersen, M. E., 1981. A physiologically based toxicokinetic description of the metabolism of inhaled gases and vapors: analysis at steady state. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 60, 509-526.
- Béliveau, M., Krishnan, K., 2000a. Concentration dependency of rat blood:air partition coefficients of some volatile organic chemicals. *J. Toxicol. Environ. Health A* 60, 377-389.
- Béliveau, M., Krishnan, K., 2000b. Estimation of rat blood: air partition coefficients of volatile organic chemicals using reconstituted mixtures of blood components. *Toxicol. Lett.* 116, 183-188.
- Béliveau, M., Lipscomb, J., Tardif, R., Krishnan, K., 2005. Quantitative structure-property relationships for interspecies extrapolation of the inhalation pharmacokinetics of organic chemicals. *Chem. Res. Toxicol.* 18, 475-485.
- Bernillon, P., Bois, F. Y., 2000. Statistical issues in toxicokinetic modeling: a bayesian perspective. *Environ Health Perspect.* 108 Suppl 5, 883-893.
- Bogen, K. T., 1988. Pharmacokinetics for regulatory risk analysis: the case of trichloroethylene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 8, 447-466.

- Bois, F. Y. 2000a. Statistical analysis of Fisher et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect.* 108 Suppl 2, 275-282.
- Bois, F. Y., 2000b. Statistical analysis of Clewell et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect.* 108 Suppl 2, 307-316.
- Bois, F. Y., Jackson, E. T., Pekari, K., Smith, M. T., 1996a. Population toxicokinetics of benzene. *Environ Health Perspect.* 104 (Suppl 6), 1405-1411.
- Bois, F. Y., Gelman, A., Jiang, J., Maszle, D. R., Zeise, L., Alexeef, G., 1996b. Population toxicokinetics of tetrachloroethylene. *Arch. Toxicol.* 70, 347-355.
- Brooks, S. P., Gelman, A., 1998. Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *J. Comput. Graph. Stat.* 7, 434-455.
- Brown, R. P., Delp, M. D., Lindstedt, S. L., Rhomberg, L. R., Beliles, R. P., 1997. Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health.* 13, 407-484.
- Chiu, W. A., White, P., 2006. Steady-state solutions to PBPK models and their applications to risk assessment I: Route-to-route extrapolation of volatile chemicals. *Risk Anal.* 26, 769-780.
- Clewell, H. J., 3rd, Andersen, M. E., Barton, H. A., 2002. A consistent approach for the application of pharmacokinetic modeling in cancer and noncancer risk assessment. *Environ Health Perspect.* 110, 85-93.
- Cox, L. A., Jr., 1996. Reassessing benzene risks using internal doses and Monte-Carlo uncertainty analysis. *Environ Health Perspect.* 104 Suppl 6, 1413-1429.

- Csanady, G. A., Filser, J. G., 2001. The relevance of physical activity for the kinetics of inhaled gaseous substances. *Arch. Toxicol.* 74, 663-672.
- David, R. M., Clewell, H. J., Gentry, P. R., Covington, T. R., Morgott, D. A., Marino, D. J., 2006. Revised assessment of cancer risk to dichloromethane II. Application of probabilistic methods to cancer risk determinations. *Regul Toxicol Pharmacol.* 45, 55-65.
- Delic, J. I., Lilly, P. D., MacDonald, A. J., Loizou, G. D., 2000. The utility of PBPK in the safety assessment of chloroform and carbon tetrachloride. *Regul Toxicol Pharmacol.* 32, 144-155.
- Dills, R. L., Ackerlund, W. S., Kalman, D. A., Morgan M. S., 1994. Interindividual variability in blood/air partitioning of volatile organic compounds and correlation with blood chemistry. *J. Exposure. Anal. Environ. Epidemiol.* 3, 471-490.
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., Andersen, M. E., 1989. Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicol Appl Pharmacol.* 98, 87-99.
- Gargas, M. L., Seybold, P. G., Andersen, M. E., 1988. Modeling the tissue solubilities and metabolic rate constant (V_{max}) of halogenated methanes, ethanes, and ethylenes. *Toxicol. Lett.* 43, 235-256.
- Gelman, A., Rubin, D. B., 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Stat. Sci.* 7 (4), 457-472.
- Gentry, P. R., Hack, C. E., Haber, L., Maier, A., Clewell III., H. J., 2002. An approach for the quantitative consideration of genetic polymorphism data in

chemical risk assessment: examples with warfarin and parathion. *Toxicol. Sci.* 70, 120–139.

Haddad, S., Beliveau, M., Tardif, R., Krishnan, K., 2001. A PBPK modeling-based approach to account for interactions in the health risk assessment of chemical mixtures. *Toxicol Sci.* 63, 125-131.

Haddad, S., Charest-Tardif, G., Krishnan, K., 2000. Physiologically based modeling of the maximal effect of metabolic interactions on the kinetics of components of complex chemical mixtures. *J Toxicol Environ Health A.* 61, 209-223.

Jonsson, F., Bois, F., Johanson, G., 2001. Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure of humans to dichloromethane during moderate to heavy exercise. *Toxicol. Sci.* 59, 209–218.

Jonsson, F., Johanson, G., 2001. Bayesian estimation of variability in adipose tissue blood flow in man by physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure to toluene. *Toxicology* 157, 177-193.

Jonsson, F., Johanson, G., 2002. Physiologically based modeling of the inhalation kinetics of styrene in humans using a bayesian population approach. *Toxicol Appl Pharmacol.* 179, 35-49.

Jonsson, F., Johanson, G., 2003. The Bayesian population approach to physiological toxicokinetic-toxicodynamic models--an example using the MCSim software. *Toxicol Lett.* 138, 143-150.

Krishnan, K., Andersen, M. E., 2007. Physiologically based Pharmacokinetic modeling in toxicology, in Principles and methods of toxicology, A.W. Hayes, Editor. 2007, Taylor and Francis: Boca Raton. pp. 231-292.

Lam, C.-W Galen, T. J, Boyd, J. F., Pierson, D. L., 1990. Mechanism of transport and distribution of organic solvents in blood. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 104, 117-129.

Laparé, S., Tardif, R., Brodeur, J., 1993. Effect of various exposure scenarios on the biological monitoring of organic solvents. I. Toluene and xylene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 64, 569-580.

Laparé, S., Tardif, R., Brodeur, J., 1995. Effect of various exposure scenarios on the biological monitoring of organic solvents in alveolar air. II. 1,1,1-Trichloroethane and trichloroethylene. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 67, 375-394.

Lipscomb, J. C., Teuschler, L. K., Swartout, J., Popken, D., Cox, T., Kedderis, G.L., 2003a. The impact of cytochrome P450 2E1-dependent metabolic variance on a risk-relevant pharmacokinetic outcome in humans. *Risk Anal.* 23, 1221-1238.

Lipscomb, J. C., Teuschler, L. K., Swartout, J. C., Striley C. A. F., Snawder, J. E., 2003b. Variance of microsomal protein and cytochrome P450 2E1 and 3A forms in adult human liver. *Toxicology Mechanism and Methods.* 13, 45-51.

Mahle, D. A, Gearhart, J. M., Grigsby, C. C., Mattie, D. R., Barton, H. A., Lipscomb, J. C., Cook, R. S., 2007. Age-dependent partition coefficients for a

mixture of volatile organic solvents in Sprague-Dawley rats and humans. *J. Toxicol Environ. Health Part A*. 70, 1745-1751.

Nong, A., Krishnan, K., 2007. Estimation of interindividual pharmacokinetic variability factor for inhaled volatile organic chemicals using a probability-bounds approach. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 48, 93-101.

Pelekis, M., Krewski, D., Krishnan, K., 1997. Physiologically based algebraic expressions for predicting steady-state toxicokinetics of inhaled vapors. *Toxicol. Meth.* 7, 205-225.

Pelekis, M., Poulin, P., Krishnan, K., 1995. An approach for incorporating tissue composition data into physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol. Ind. Health*. 11, 511-522.

Peyret, T., Krishnan, K. (in press: "Proceedings of the 2008 Spring Simulation Multiconference. 17th International Conference on Health Sciences Simulation). Bayesian analysis of human PBPK model for Volatile organic chemicals at steady-state.

Pierce, C. H., Dills, R. L., Morgan, M. S., Nothstein, G. L., Shen, D. D., Kalman, D. A., 1996. Interindividual differences in 2H8-toluene toxicokinetics assessed by semiempirical physiologically based model. *Toxicol Appl Pharmacol.* 139, 49-61.

Portier, C. J., Kaplan, N. L., 1989. Variability of safe dose estimates when using complicated models of the carcinogenic process. A case study: methylene chloride. *Fundam Appl Toxicol.* 13, 533-544.

Poulin, P., Béliveau, M., Krishnan, K., 1999. Mechanistic animal-replacement approaches for predicting pharmacokinetics of organic chemicals. In: Salem H ,

Katz SA , editors. Toxicity assessments alternatives: Methods, issues, opportunities. Totowa, NJ: Humana Press, Inc., pp. 115-139.

Poulin, P., Krishnan, K., 1996a. A tissue composition-based algorithm for predicting tissue:air partition coefficients of organic chemicals. *Toxicol Appl Pharmacol.* 136, 126-130.

Poulin, P., Krishnan, K., 1996b. A mechanistic algorithm for predicting blood:air partition coefficients of organic chemicals with the consideration of reversible binding in hemoglobin. *Toxicol Appl Pharmacol.* 136, 131-137.

Renwick, A. G., Lazarus, N. R., 1998. Human variability and noncancer risk assessment- An analysis of the default uncertainty factor. *Regul Toxicol Pharmacol.* 27, 3-20.

Ryan, J. J., Mills, P., 1997. Lipid extraction from blood and biological samples and concentration of dioxin-like compounds. *Chemosphere.* 34, 999-1009.

Sweeney, L. M., Tyler, T. R., Kirman, C. R., Corley, R. A., Reitz, R. H., Paustenbach, D. J., Holson, J. F., Whorton, M. D., Thompson, K. M., Gargas, M. L., 2001. Proposed occupational exposure limits for select ethylene glycol ethers using models and Monte Carlo simulations. *Toxicol Sci.* 62, 124-139.

Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., Krishnan, K., 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 144, 120-134.

Tardif, R., Droz, P. O., Charest-Tardif, G., Pierrehumbert, G., Truchon, G., 2002. Impact of human variability on the biological monitoring of exposure to toluene: I. Physiologically based toxicokinetic modelling. *Toxicol Lett.* 134, 155-163.

Tardif, R., Laparé, S., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., Krishnan, K., 1995. Physiologically based modeling of a mixture of toluene and xylene in humans. *Risk Anal.* 15, 335-342.

Thomas, R. S., Bigelow, P. L., Keefe, T. J., Yang, R. S., 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 57, 23-32.

U.S. EPA., 1994. Methods for Derivation of Inhalation Reference Concentrations and Application of Inhalation Dosimetry. Environmental Protection Agency, Office of Health and Environmental Assessment. EPA/600/8-90/066F. Washington, DC.

U.S. EPA., 2002. A Review of the Reference Dose and Reference Concentration Processes. U.S. Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum, Washington, DC, EPA/630/P-02/002F.

Wilkinson, G. R., Shand, D. G., 1975. Commentary: a physiological approach to hepatic drug clearance. *Clin. Pharmacol. Ther.* 18, 377-390.

World Health Organization (WHO), 2005. Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration-response assessment. WHO, Geneva.

Tables

Table I: Prior information on parameters of toluene human blood: air partition coefficient model.

Parameter	Population	Interindividual	Uncertainty ^a	Distribution
	Mean	variability		shape ^b
F_l	0.00425	0.000425	10%	N
F_w	0.8217	0.08217	10%	N
F_p	0.1743	0.01743	10%	N
k_{pa}	50	- ^c	200%	N

^a Percentage of interindividual variability

^b Distribution Shape: N = normal

^c This parameter is not subject to interindividual variability

Table II: Input parameters of the toluene human blood: air partition coefficient model.

Parameter	Abbreviation	Mean	Standard deviation	Shape ^a
Water : air partition	k_{wa}	1.75	0.23 ^b	N
Oil : air partition	k_{oa}	1056	66 ^b	N
Fraction of total protein	f_p	0.5	- ^c	-

^a Distribution Shape: N = normal;

^b : Standard deviations were derived from published data on k_{wa} and k_{oa} ; standard error was calculated assuming $n = 3$ (Gargas et al., 1989)

^c: parameter was set as constant

Table III: Population characteristics of the physiological parameters used for solving the steady state model.

Parameter	unit	mean	SD	min	max	shape
$[MSP]^a$	mg/g liver	57.07	23.09	27	108	L
$[2E1]^a$	pmol/mg MSP	54.61	27.15	11.00	130.00	L
QP^b	L/hr	372.90	78.67	136.89	608.91	L
QC^b	L/hr	436.6	80.27	195.79	677.41	L
QLc^b	L/hr	0.28	0.051	0.126	0.435	N
VL^c	g	1820				

^a: Distribution values from Lispcomb et al. (2003)

^b: Mean and standard deviations from our previous study, min and max values were calculated as mean \pm 3SD.

^c: Brown et al. (1997)

Table IV: Metabolic parameters used in the present study.

Chemical	Vmax ^a	Km ^b
Hexachloroethane ^c	1.47 x 10 ⁻⁵	0.8
1,1,1,2-Tetrachloroethane ^c	4.79 x 10 ⁻⁵	0.92
1,1,2,2-Tetrachloroethane ^c	8.84 x 10 ⁻⁵	0.8
1,1,1-Trichloroethane ^d	1.79 x 10 ⁻⁶	5.75
1,1,2-Trichloroethane ^c	5.67 x 10 ⁻⁵	0.78
1,1-Dichloroethane ^c	5.52 x 10 ⁻⁵	0.2
1,2-Dichloroethane ^c	2.32 x 10 ⁻⁵	0.25
Chloroethane ^c	2.95 x 10 ⁻⁵	0.1
Carbon tetrachloride ^c	2.95 x 10 ⁻⁶	0.25
Chloroform ^c	5.16 x 10 ⁻⁵	0.25
Dichloromethane ^c	2.95 x 10 ⁻⁵	0.4
Chloromethane ^c	3.68 x 10 ⁻⁵	1
Tetrachloroethylene ^e	1.40 x 10 ⁻⁶	0.3
Trichloroethylene ^c	8.10 x 10 ⁻⁵	0.25
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethylene ^c	2.21 x 10 ⁻⁵	0.5
<i>Trans</i> -1,2-Dichloroethylene ^c	2.21 x 10 ⁻⁵	0.1
Vinyl chloride ^c	1.84 x 10 ⁻⁵	0.1
Benzene ^f	6.33 x 10 ⁻⁶	0.35
Toluene ^g	2.47 x 10 ⁻⁵	0.55
<i>m</i> -xylene ^h	4.78 x 10 ⁻⁵	0.45

^a: Maximum velocity normalized to enzyme content (mg/hr/pmol CYP2E1)

^b: Michaelis Menten constant (mg/L)

^c: Gargas et al. (1988)

^d: Laparé et al. (1995)

^e: Haddad et al. (2000)

^f: Thomas et al. (1996)

^g: Tardif et al. (1997)

^h: Haddad et al. (2001)

Table V: Posterior estimates for the parameters of the toluene human blood: air partition coefficient model.

Parameter	Population	Interindividual	Uncertainty	Shape ^a
	Mean	variability		
F_l	0.0045	0.0099	0.25%	L
F_w	0.8198	0.0517	2.82%	L
F_p	0.1735	0.0107	0.60%	L
k_{pa}	106.2	- ^b	17.28%	L

^a Distribution Shape: L = Lognormal

^b This parameter is not subject to interindividual variability

Table VI: Comparisons of the observed data with the predicted blood air partition coefficient obtained following Monte Carlo simulations.

Chemicals	Model predictions ^a					Experimental data ^b	
	Mean	SD ^b	CV ^c	[50%-95%]	[Min-Max]	Mean	SD ^b
Hexachloroethane	18.78	24.42	1.30	[9.48-69.64]	[0.64-170.86]	52.4	2.42
1,1,1,2-Tetrachloroethane	12.67	13.06	1.03	[7.70-39.84]	[2.91-94.04]	30.2	2.25
1,1,2,2-Tetrachloroethane	110.8	31.01	0.28	[99.96-174.7]	[77.54-306.2]	116	10.39
1,1,1-Trichloroethane	2.29	1.43	0.63	[1.74-5.28]	[1.17-11.21]	2.53	0.23
1,1,2-Trichloroethane	34.26	8.61	0.25	[31.21-52.01]	[25.56-88.20]	35.7	0.69
1,1-Dichloroethane	4.79	0.90	0.19	[4.48-6.64]	[3.85-10.42]	4.94	0.42
1,2-Dichloroethane	19.23	1.76	0.09	[18.69-22.85]	[16.81-30.44]	19.5	1.21
Chloroethane	2.66	0.20	0.08	[2.62-3.06]	[2.28-3.94]	2.69	0.35
Carbon Tetrachloride	2.42	1.82	0.75	[1.73-6.22]	[0.97-13.75]	2.73	0.40
Chloroform	6.53	1.94	0.30	[5.81-10.58]	[4.83-18.63]	6.85	0.88
Dichloromethane	8.85	0.62	0.07	[8.66-10.13]	[7.96-12.81]	8.94	0.23
Methyl Chloride	2.48	0.10	0.04	[2.47-2.65]	[2.17-2.88]	2.48	0.40
Tetrachloroethylene	8.53	10.39	1.22	[4.57-30.16]	[0.81-73.23]	10.3	1.91
Trichloroethylene	7.65	2.70	0.35	[6.70-13.21]	[4.89-24.60]	8.11	0.29
cis-1,2-Dichloroethylene	9.63	1.37	0.14	[9.22-12.42]	[7.73-18.39]	9.85	1.21
trans-1,2-Dichloroethylene	5.90	0.89	0.15	[5.64-7.70]	[4.61-11.58]	6.04	0.66
Vinyl chloride	1.14	0.12	0.11	[1.11-1.39]	[0.95-1.92]	1.16	0.14
Benzene	7.81	2.26	0.29	[7.00-12.48]	[5.61-21.91]	8.19	0.17
<i>m</i> -xylene	29.81	15.80	0.53	[24.01-62.79]	[15.59-128.2]	32.5	2.77

^a: SD: Standard deviation calculated from standard error (SE) following $SD = SE \times \sqrt{n}$ based on $n = 3$; CV: Coefficient of variation; 50%: 50th percentile; 95%: 95th percentile; Min: minimum; Max: maximum.

^b: Measurements of human blood: air partition coefficient obtained from Gargas et al. (1989).

Table VII: Statistics of the Monte Carlo simulations of steady-state arterial blood concentrations ($\mu\text{g/L}$) of several VOCs.

Chemical	Arterial concentration at steady state ($\mu\text{g/L}$)				
	Mean	SD	COV	Min	Max
1,1,1,2-Tetrachloroethane	29.18	8.46	0.29	10.40	89.33
1,1,1-Trichloroethane	15.45	5.86	0.38	6.35	41.63
1,1,2,2-Tetrachloroethane	27.05	8.36	0.31	9.01	83.72
1,1,2-Trichloroethane	21.73	6.23	0.29	7.89	56.67
1,1-Dichloroethane	8.25	1.59	0.19	3.54	16.57
1,2-Dichloroethane	13.93	3.60	0.26	5.22	33.15
Benzene	12.85	2.92	0.23	5.49	27.70
Carbon tetrachloride	14.43	5.28	0.37	5.07	43.08
Chloroethane	3.94	0.56	0.14	2.07	5.96
Chloroform	11.58	2.52	0.22	4.93	27.09
Chloromethane	3.49	0.39	0.11	2.10	4.77
<i>cis</i> -1,2-Dichloroethylene	13.39	2.97	0.22	5.73	31.08
<i>trans</i> -1,2-Dichloroethylene	8.83	1.77	0.20	3.82	19.47
Dichloromethane	10.19	2.14	0.21	4.39	19.93
Hexachloroethane	67.74	24.16	0.36	20.55	258.77
<i>m</i> -Xylene	15.69	4.45	0.28	5.66	42.76
Tetrachloroethylene	48.38	23.67	0.49	5.12	232.35
Toluene	14.24	3.71	0.26	5.71	36.15
Trichloroethylene	12.96	3.07	0.24	5.18	29.78
Vinyl chloride	2.22	0.23	0.11	1.42	3.16

SD: Standard deviation calculated from standard error (SE) following $SD = SE \times \sqrt{n}$ based on $n = 3$; CV: Coefficient of variation; 50%: 50th percentile; 95%: 95th percentile; Min: minimum; Max: maximum.

Table VIII: Estimated interindividual variability factors for toxicokinetic (UF_{ISTK}) based on the arterial blood concentration (C_{Ass}) ($\mu\text{g/L}$) and the rate of amount metabolized (RAM) ($\mu\text{g/hr}$) at steady-state.

Toxicokinetic endpoint Chemical	C _{Ass}			RAM		
	50%	95%	UF_{ISTK}	50%	95%	UF_{ISTK}
Hexachloroethane	51.40	95.80	1.86	2557.4	3735.9	1.46
1,1,1,2-Tetrachloroethane	23.73	39.69	1.67	1846.4	2631.1	1.43
1,1,2,2-Tetrachloroethane	25.68	42.90	1.67	2411.4	3327.5	1.38
1,1,1-Trichloroethane	14.49	25.63	1.77	20.52	58.60	2.86
1,1,2-Trichloroethane	20.76	33.22	1.60	1762.6	2376.1	1.35
1,1-Dichloroethane	8.12	11.05	1.36	861.28	1129.6	1.31
1,2-Dichloroethane	13.48	20.58	1.53	1211.6	1603.2	1.32
Chloroethane	3.91	4.87	1.24	417.93	542.31	1.30
Carbon tetrachloride	13.90	23.50	1.69	506.50	956.54	1.89
Chloroform	11.32	16.11	1.42	1165.3	1543.5	1.32
Dichloromethane	10.00	14.01	1.40	844.29	1092.3	1.29
Chloromethane	3.49	4.10	1.17	234.84	317.28	1.35
Tetrachloroethylene	46.33	89.28	1.93	853.51	1626.1	1.91
Trichloroethylene	12.59	18.49	1.47	1356.7	1814.2	1.34
cis-1,2-Dichloroethylene	13.07	18.59	1.42	938.09	1229.4	1.31
Dichloroethylene (trans 1,2-)	8.68	11.95	1.38	898.04	1167.8	1.30
Vinyl chloride	2.20	2.62	1.19	225.75	307.52	1.36
Benzene	12.45	18.13	1.46	593.84	828.49	1.40
Toluene	13.71	20.90	1.52	995.73	1347.4	1.35
<i>m</i> -xylene	15.06	23.91	1.59	1395.9	1891.3	1.35

C_{Ass}: arterial blood concentration at steady state; RAM: rate of metabolism; ; 50%: 50th

percentile; 95%: 95th percentile; UF_{ISTK} : intraspecies toxicokinetic uncertainty factor.

Table IX: Sensitivity analysis of the blood: air partition coefficient parameters on the arterial blood concentration at steady state as well as the rate of amount metabolized.

TK endpoint parameter	Arterial concentration (C _{ass})				Rate of amount metabolized (RAM)			
	K _{wa}	K _{oa}	K _{pa}	CL _{int}	K _{wa}	K _{oa}	K _{pa}	CL _{int}
1,1,1,2-Tetrachloroethane	0.04	0.17	0.00	-0.21	0.04	0.17	0.00	0.06
1,1,1-Trichloroethane	0.24	0.51	0.23	-0.01	0.24	0.51	0.23	0.97
1,1,2,2-Tetrachloroethane	0.00	0.01	0.02	-0.14	0.00	0.01	0.02	0.00
1,1,2-Trichloroethane	0.03	0.02	0.05	-0.19	0.03	0.02	0.05	0.02
1,1-Dichloroethane	0.16	0.07	0.17	-0.04	0.16	0.07	0.17	0.03
1,2-Dichloroethane	0.07	0.01	0.07	-0.14	0.07	0.01	0.07	0.03
Benzene	0.12	0.11	0.21	-0.28	0.12	0.11	0.21	0.23
Carbon tetrachloride	0.08	0.46	0.21	-0.15	0.08	0.46	0.21	0.47
Chloroethane	0.18	0.04	0.32	-0.03	0.18	0.04	0.32	0.03
Chloroform	0.13	0.08	0.11	-0.06	0.13	0.08	0.11	0.03
Chloromethane	0.19	0.01	0.45	-0.12	0.19	0.01	0.45	0.23
cis-1,2-Dichloroethylene	0.08	0.04	0.18	-0.21	0.08	0.04	0.18	0.09
Dichloromethane	0.16	0.02	0.12	-0.14	0.16	0.02	0.12	0.06
Hexachloroethane	0.01	0.20	0.00	-0.38	0.01	0.20	0.00	0.11
m-xylene	0.00	0.04	0.05	-0.14	0.00	0.04	0.05	0.02
Tetrachloroethylene	0.04	0.56	0.01	-0.29	0.04	0.56	0.01	0.49
Toluene	0.02	0.07	0.13	-0.23	0.02	0.07	0.13	0.07
trans-1,2-Dichloroethylene	0.07	0.05	0.23	-0.05	0.07	0.05	0.23	0.03
Trichloroethylene	0.02	0.09	0.17	-0.04	0.02	0.09	0.17	0.02
Vinyl chloride	0.22	0.07	0.44	-0.02	0.22	0.07	0.44	0.07

K: partition coefficient; w: water (or saline); o: oil (or octanol); p: protein; a: air; CL_{int}: Enzyme content-normalized intrinsic clearance.

Figures

1

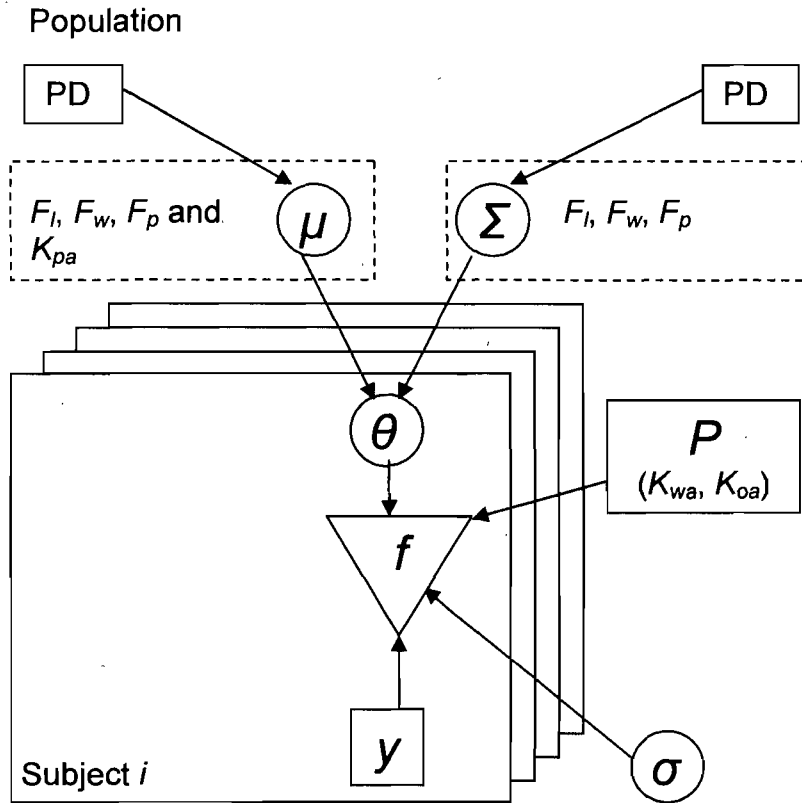


Figure 1: Conceptual representation of the human blood: air PC model. *PD*, prior distribution; μ , population mean value of the parameter; Σ , standard deviation of the parameter in the population (interindividual variability); θ , unknown parameters (F_l, F_w, F_p and K_{pa}); f , human blood: air PC algorithm; y , experimental *PB* data; P , known parameters (K_{wa} and K_{oa} , not subject to MCMC updating); σ , standard deviation of the data.

2

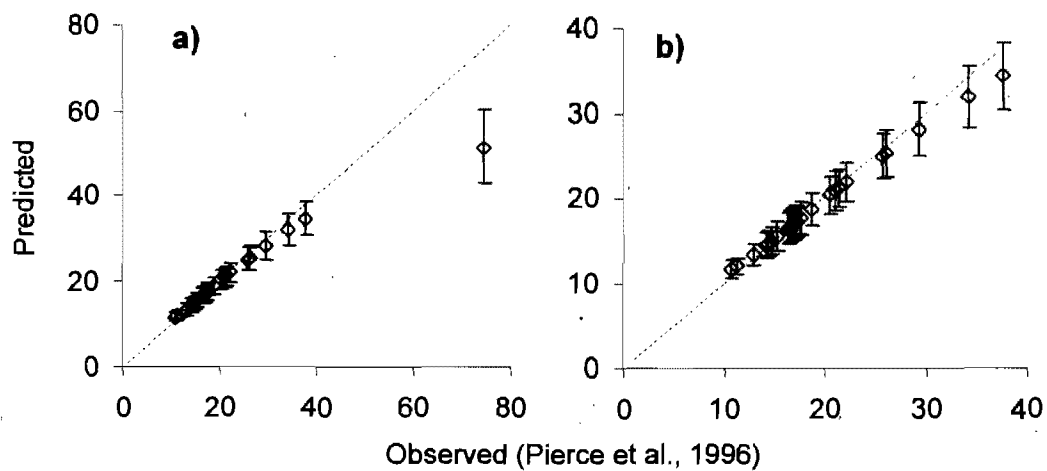


Figure 2: Individual predictions of toluene human blood: air partition coefficient. a) Comparison with all experimental measurements; b) Comparison without the outlier ($PB = 74.7$). Dashed line illustrates the optimal fit.

3

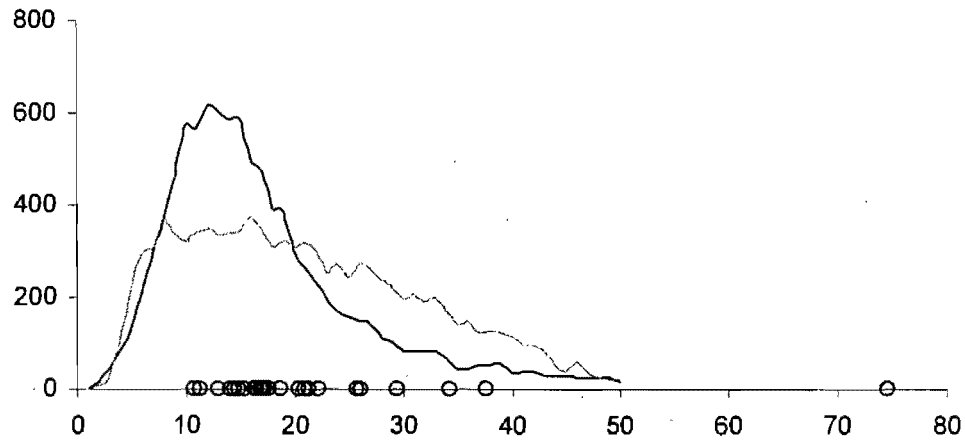


Figure 3: Comparison of observed data (symbols) on toluene *PB* with the predictions obtained following sequential updating of input parameters of the predictive model (Prior (---); Posterior (—)).

4

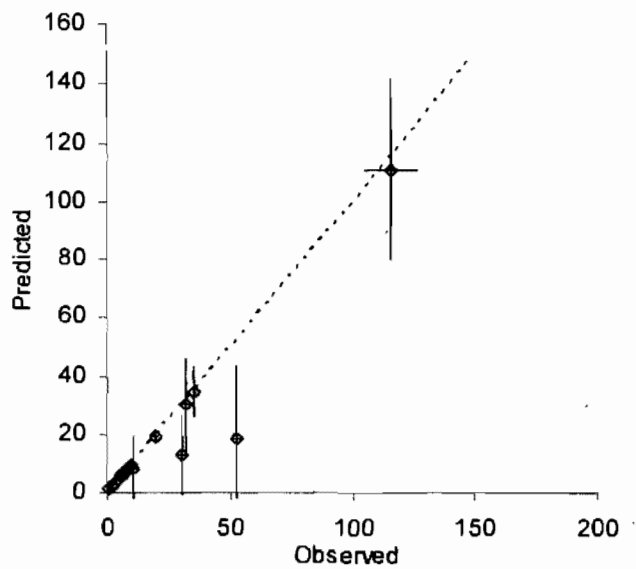


Figure 4: Predictions of human blood: air PCs. Dashed line refers to the optimal fit.

5

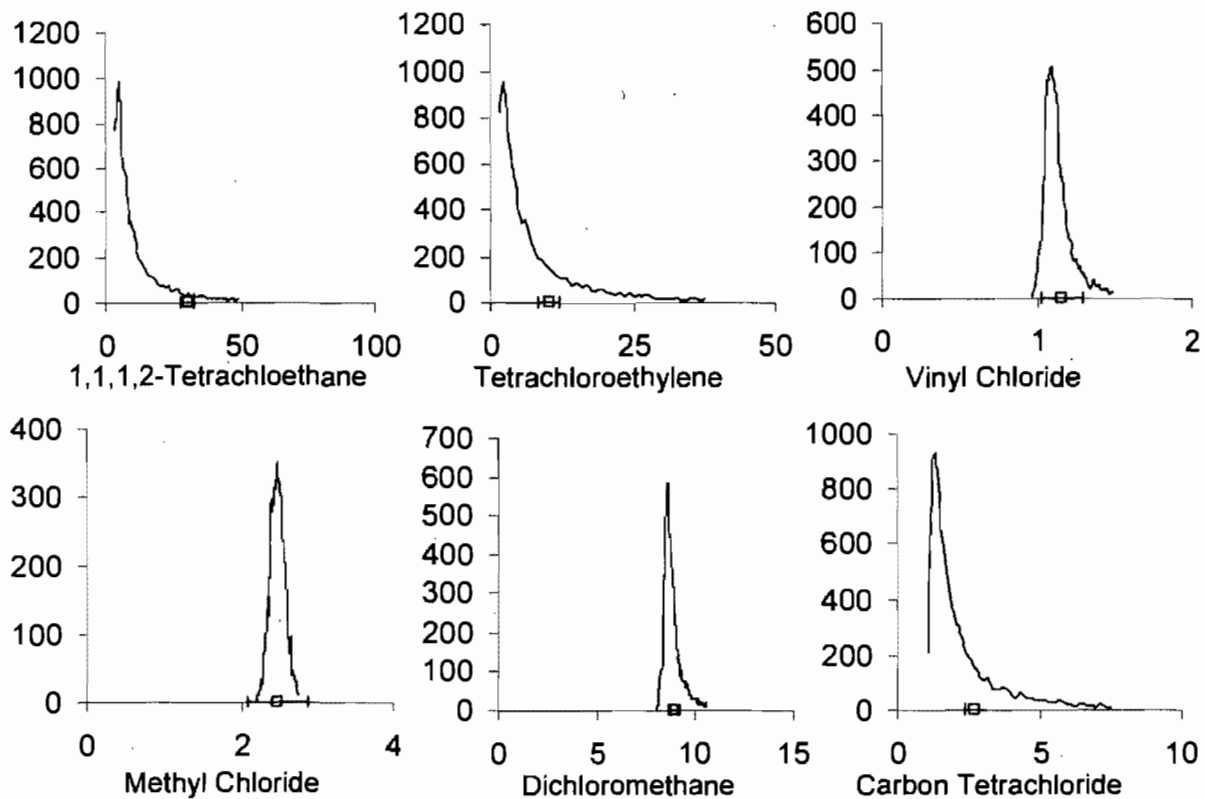


Figure 5: Comparison of observed data (Gargas et al, 1989) on human PB with the prediction obtained for 1,1,1,2-tetrachloroethane, tetrachloroethylene, vinyl chloride, methyl chloride, dichloromethane, and carbon tetrachloride.

CHAPITRE IV

5. DISCUSSION GÉNÉRALE

La variabilité interindividuelle fait partie des déterminants critiques dans l'établissement de doses/concentrations de référence. Pour des raisons éthiques et économiques, cette variabilité ne peut pas toujours être étudiée expérimentalement. Il n'est en effet pas éthiquement possible de faire des expériences sur des sous-groupes de la population humaine comme par exemple les enfants, les nouveau-nés, les femmes enceintes. De plus, les expériences de laboratoire, ou les études de terrain, en toxicologie humaine ou animale sont très onéreuses. C'est pour ces raisons que s'est développée la modélisation et, depuis quelques années, la modélisation à base physiologique. Progressivement l'utilisation de modèles toxicocinétiques à base physiologique comme approche alternative s'est répandue dans l'évaluation de la dose-réponse d'un toxique (Krishnan et Andersen, 2001; Krishnan et Johanson, 2005; U.S. EPA, 2006).

Le développement de modèles dans le but d'étudier la toxicocinétique au sein de la population peut s'avérer une lourde tâche dépendamment de l'approche utilisée. Dans le domaine pharmaceutique, les modèles pharmacocinétiques compartimentaux sont très employés. Ils permettent de déterminer principalement le volume de distribution, la clairance et la demi-vie du produit étudié. Toujours dans ce domaine, des modèles pharmacocinétiques de population ont été développés sous la forme de modèles hiérarchiques dit non linéaires à effets mixtes. Ces modèles ont été développés généralement avec le

logiciel NONMEM (*Non Linear Mixed Effects Modeling*, ICON Development Solutions, Ellicott City, MD, USA, <http://www.icondevsolutions.com/nonmem.htm>) (Bonate, 2005). Ce genre de modèle demande de riches bases de données sur la cinétique d'un produit, ce qui est rare dans le domaine de la toxicologie. Aussi il est compliqué de « paramétriser » un modèle TCBP de population avec NONMEM. À notre connaissance, cela a été effectué une fois avec un médicament (Blesch et coll., 2003). C'est pourquoi l'approche bayésienne a été plus attirante pour la communauté de la modélisation TCBP.

Jusqu'à présent aucune simulation de population n'avait été entreprise en combinant l'approche MCMC avec une simple équation décrivant l'état stationnaire d'une substance. Notre étude (article No 1) a permis de démontrer la faisabilité d'une telle démarche. Les distributions de population des paramètres physiologiques sont biologiquement vraisemblables et reflètent la population échantillonnée (des humains adultes). Dans cet article, les données cinétiques utilisées pour l'analyse statistique ont été générées simplement à partir d'une moyenne et d'un écart-type de mesures expérimentales (Tardif et coll., 1997). Les données générées reflétaient l'expérience car les paramètres de population reflétaient la moyenne de poids corporel des volontaires. De plus la moyenne de concentration artérielle reflétait celle observée (par dérivation du sang veineux). Cette méthode de génération de données, rapide et économique, peut se révéler une alternative intéressante applicable à des situations urgentes d'évaluation de risque toxique.

Le coefficient de partage sang : air est un déterminant critique de l'absorption de composés organiques volatiles (COV) par inhalation. Différentes approches ont été développées pour prédire ce coefficient (Poulin et coll., 1999; Béliveau et Krishnan, 2003). Les prédictions de modèles QSAR (relation quantitative structure-activité) ou mécanistiques ne fournissent qu'une seule valeur. Dans le cas des COV, les prédictions du coefficient de partage sang : air ne sont pas toujours valables, surtout chez le rat où plusieurs COV se lient aux protéines sanguines (Béliveau et Krishnan, 2003). La prise en compte de la liaison des COV aux protéines sanguines a permis d'améliorer les prédictions du coefficient de partage sang : air chez le rat (Poulin et Krishnan, 1996; Béliveau et Krishnan, 2000). Cet algorithme mécanistique a aussi permis de réaliser des extrapolations inter-espèces (Béliveau et coll., 2005). Cependant le coefficient de partage sang : air est particulièrement difficile à prédire parce que les mécanismes de transport des COV par les protéines sanguines sont mal connus (Mahle et coll., 2007). Cependant les informations de la littérature (Lam et coll., 1990) ne permettent pas de vérifier si ce calcul est pertinent pour les autres composés organiques volatils. Néanmoins, au niveau qualitatif, le rôle important de la liaison aux protéines dans la valeur du coefficient de partage est confirmé. Ceci donne des ouvertures de recherche sur la liaison des COV aux protéines et sur le transport de ces molécules dans le sang. Le partage des COV dans le sang est difficilement explicable par autre chose que la solubilité dans l'eau et les lipides et la liaison (hydrogène) aux protéines. Néanmoins, les simulations MCMC nous ont permis pour la première fois d'évaluer la variabilité

interindividuelle des fractions lipidiques, aqueuses et protéiniques du sang à partir de mesures expérimentales du coefficient de partage sang : air du toluène (Pierce et coll., 1996). Les résultats de cette analyse statistique semblent plausibles, le contenu en eau et en protéines étant faiblement variable entre les individus alors que la fraction lipidique (cholestérol par exemple) peut varier plus fortement dans la population. Il serait intéressant de réaliser la même étude avec d'autres mesures de coefficient de partage afin de comparer les distributions de population obtenues pour le contenu sanguin. Les prédictions du coefficient de partage sang : air chez l'humain obtenues pour les 20 COV englobent les données expérimentales. Les valeurs moyennes des prédictions sont parfois sous-estimées, néanmoins une grande variabilité, englobant la valeur expérimentale, est généralement associée à ces prédictions. L'impact de l'utilisation de cette variabilité dans une évaluation de la variabilité interindividuelle d'une dose interne dépend de la sensibilité de ce paramètre sur la dose interne considérée. Par exemple, le coefficient de partage sang : air du chlorure de méthyle a un fort impact sur la concentration artérielle de ce produit.

Les distributions des paramètres TCBP obtenues pour une population adulte ont été utilisées pour calculer des facteurs de variabilité (ou d'incertitude) toxicocinétique interindividuelle. Les facteurs prédits convergent avec les données de la littérature. Cette étude a permis de vérifier la faisabilité d'utiliser des distributions de population générées d'une part à partir d'une situation pauvre en données toxicocinétiques (une moyenne et un écart-type de concentration veineuse de 3 COV) et d'autre part en utilisant une expression

algébrique au lieu d'un modèle TCBP pour les COVs, qui comprend généralement une vingtaine de paramètres.

De plus, la concentration artérielle, utilisée comme dose interne dans le second article, est un biomarqueur de l'exposition aux composés organiques volatils. En surveillance biologique, les modèles TCBP sont utilisés soit pour évaluer la dose interne correspondant à une dose de référence, ou à l'inverse, pour extrapoler une dose d'exposition selon une dose interne donnée (IPCS, 2001 ; Tan et al., 2007). L'approche probabiliste développée dans l'article No 2 pourrait être utilisée en surveillance biologique afin d'obtenir une distribution de dose interne (à la place d'une valeur) pour une concentration de référence (RfC) donnée à partir d'un modèle limité aux déterminants critiques de l'exposition chronique. Il serait très intéressant d'appliquer cette méthode dans ce but à l'avenir, d'autant plus que grâce aux efforts du *Canadian Health Measures Survey* (CHMS, 2007) de nombreuses données de surveillance biologique de la population canadienne seront disponibles, notamment pour la concentration de COV dans le sang. L'ajout de ces données à celles déjà rendues disponibles par le programme NHANES (CDC, 2007) est un outil très intéressant pour développer des approches de modélisation de populations dans le domaine de la surveillance biologique.

La limitation de l'optimisation des paramètres de modèles de population sur des données expérimentales (comme nous l'avons fait dans ce mémoire) est que les distributions résultantes reflètent l'échantillon étudié. Or, en général, cet échantillon est composé d'adultes mâles caucasiens. La collecte de données sur

des sous-groupes de populations ayant différentes sensibilités reste nécessaire pour améliorer l'évaluation de facteur de variabilité pour dériver des doses de référence. Cependant certains sous-groupes comme les enfants, les nouveau-nés, les fœtus resteront impossibles à étudier pour des raisons évidentes d'éthique.

Les modèles TCBP sont des outils mécanistiques très puissants, et ont démontré leur utilité mais ils restent à améliorer. La calibration des modèles TCBP par des méthodes statistiques est une solution qu'il faut conserver. En effet, utiliser des paramètres ou présenter des résultats sous la forme d'une seule valeur peut être trompeur (Bois, 2000a). Une valeur moyenne de population ne reflète pas la variabilité et peut mésestimer les populations sensibles.

En perspective de recherche, il serait intéressant de développer des modèles QSAR probabilistes pour prédire les coefficients de partage octanol : air, eau : air et protéine : air. De nombreuses substances nouvelles sont à évaluer dans l'urgence. De tels modèles permettraient de faire une première estimation des coefficients de partage tissu : sang en l'absence de données expérimentales, ainsi que d'estimer une variabilité pour les prédictions. Une approche intégrée combinant des modèles TCBP de population à des modèles QSAR (pour les paramètres spécifiques à la substance comme les paramètres métaboliques et les coefficients de partage) est une approche intéressante dans l'évaluation de risque des milliers de polluants environnementaux qui doivent être réglementés.

6. BIBLIOGRAPHIE

- Abbas, R., et Fisher, J. W. 1997. A physiologically based pharmacokinetic model for trichloroethylene and its metabolites, chloral hydrate, trichloroacetate, dichloroacetate, trichloroethanol, and trichloroethanol glucuronide in B6C3F1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 147: 15-30.
- Béliveau, M., et Krishnan, K. 2000. Concentration dependency of rat blood: air partition coefficient of some volatile organic chemicals. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A*. 60: 377-389.
- Béliveau, M., et Krishnan, K. 2003. *In Silico* approaches for developing physiologically based pharmacokinetic (PBPK) models, in *Alternative toxicological methods*, H. Salem and S.A. Katz, Editors. 2003, CRC Press: Boca Raton, Fla. p. 479-532.
- Beliveau, M., Lipscomb, J., Tardif, R., et Krishnan, K. 2005. Quantitative structure-property relationships for interspecies extrapolation of the inhalation pharmacokinetics of organic chemicals. *Chem Res Toxicol*. 18 (3): 475-485.
- Bernillon, P., et Bois, F. Y. 2000. Statistical issues in toxicokinetic modeling: a bayesian perspective. *Environ Health Perspect*. 108 Suppl 5: 883-893.
- Best, N. G., Tan, K. K., Gilks, W. R., et Spiegelhalter, D. J. 1995. Estimation of population pharmacokinetics using the Gibbs sampler. *J Pharmacokinet Biopharm*. 23 (4): 407-435.

- Blesch, K. S., Gieschke, R., Tsukamoto, Y., Reigner, B. G., Burger, H. U., et Steimer, J. L. 2003. Clinical pharmacokinetic/pharmacodynamic and physiologically based pharmacokinetic modeling in new drug development: the capecitabine experience. *Invest New Drugs*. 21 (2): 195-223.
- Bogen, K. T. 1988. Pharmacokinetics for regulatory risk analysis: the case of trichloroethylene. *Regul Toxicol Pharmacol*. 8 (4): 447-466.
- Bois, F. Y. 1999. Analysis of PBPK models for risk characterization. *Ann N Y Acad Sci*. 895: 317-337.
- Bois, F. Y. 2000a. Statistical analysis of Fisher et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect*. 108 Suppl 2: 275-282.
- Bois, F. Y. 2000b. Statistical analysis of Clewell et al. PBPK model of trichloroethylene kinetics. *Environ Health Perspect*. 108 Suppl 2: 307-316.
- Bois, F. Y., Gelman, A., Jiang, J., Maszle, D. R., Zeise, L., et Alexeef, G. 1996b. Population toxicokinetics of tetrachloroethylene. *Arch Toxicol*. 70 (6): 347-55
- Bois, F. Y., Jackson, E. T., Pekari, K., et Smith, M. T. 1996a. Population toxicokinetics of benzene. *Environ Health Perspect*. 104 Suppl 6: 1405-1411.
- Bois, F.Y., et Maszle, D.R. 1997. MCSim: a Monte Carlo simulation program. *J. Stat. Software* [serial on the web] 2:1-60 (available on-line at <http://www.jstatsoft.org/v02/i09/>).

- Bonate, P. L. 2005. Recommended reading in population pharmacokinetic pharmacodynamic. *AAPS J.* 7(2): E363–373.
- Brooks, S. P. 1998a. Markov chain Monte Carlo method and its application. *Statistician.* 47 part1: 69-100.
- Brooks, S. P. 1998b. Quantitative convergence assessment for Markov chain Monte Carlo via cusums. *Stat Comput* 8: 267-274.
- Brooks, S. P., et Gelman, A. 1998. Alternative methods for monitoring convergence of iterative simulations. *Journal of Computational and Graphical Statistics.* 7: 434-455.
- Brooks, S. P., et Roberts, G. O. 1998. Convergence assessment techniques for Markov chain Monte Carlo. *Stat Comput.* 8 : 319-335.
- Casella, G., et George, E. I, 1992. Explaining the Gibbs Sampler. *Am Stat.* 46(3): 167-174.
- Canadian Health Measures Survey (CHMS). 2007. Consulté le 12-09-2007.
http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/contaminants/health-measures-sante_e.html
- Centers for disease control and prevention (CDC). 2007. National health and nutrition examination survey (NHANES). Consulté le 09-09-2007.
<http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>
- Chiu, W. A., et White, P. 2006. Steady-state solutions to PBPK models and their applications to risk assessment I: Route-to-route extrapolation of volatile chemicals. *Risk Anal.* 26 (3): 769-780.
- Clewell, H. J. III, Gentry, P. R, Covington, T. R., et Gearhart, J. M. 2000. Development of a physiologically based pharmacokinetic model of

- trichloroethylene and its metabolites for use in risk assessment. *Environ Health Perspect.* 108 (suppl 2): 283-305.
- Covington, T. R., Clewell, H. J., et Fisher, J.W. 2006. Development of a physiologically-based pharmacokinetic model of trichloroethylene and its metabolites for use in risk assessment. Human Effectiveness Directorate, Biosciences and Protection Division, Wright-Patterson, AFB, OH, AFRL-HE-WP-TR-2006-0049. Disponible en ligne: stinet.dtic.mil.
- Covington, T. R., Gentry, P. R., Van Landingham, C. B., Andersen, M. E., Kester, J. E., et Clewell, H. J. 2007. The use of Markov chain Monte Carlo uncertainty analysis to support a Public Health Goal for perchloroethylene. *Regul Toxicol Pharmacol.* 47 (1): 1-18.
- Cowles, M. K., et Carlin, B. P. 1996. Markov Chain Monte Carlo Convergence Diagnostics: A Comparative Review. *J Am Stat Assoc.*, 91(434): 883-904.
- Cox, L. A., Jr. 1996. Reassessing benzene risks using internal doses and Monte-Carlo uncertainty analysis. *Environ Health Perspect.* 104 Suppl 6: 1413-1429.
- David, R. M., Clewell, H. J., Gentry, P. R., Covington, T. R., Morgott, D. A. et Marino, D. J. 2006. Revised assessment of cancer risk to dichloromethane II. Application of probabilistic methods to cancer risk determinations. *Regul Toxicol Pharmacol.* 45 (1): 55-65.
- Dorne, J. L. C. M. 2004. Impact of inter-individual differences in drug metabolism and pharmacokinetics on safety evaluation. *Fundam Clin Pharmacol.* 18(6): 609-620.

- Dorne, J. L. C. M., et Renwick, A.G. 2005. The refinement of uncertainty/safety factors in risk assessment by the incorporation of data on toxicokinetic variability in humans. *Toxicol. Sci.* 86: 20-26.
- Dorne, J. L. C. M, Walton, K., et Renwick, A. G. 2003a. Human variability in CYP3A4 metabolism and CYP3A4-related uncertainty factors for risk assessment. *Food Chem Toxicol.* 41(2): 201-224.
- Dorne, J. L. C. M, Walton, K., et Renwick, A. G. 2003b. Polymorphic CYP2C19 and N-acetylation: human variability in kinetics and pathway-related uncertainty factors. *Food Chem Toxicol.* 41(2): 225-245.
- Dorne, J. L. C. M, Walton, K., Slob, W., et Renwick, A. G. 2002. Human variability in polymorphic CYP2D6 metabolism: is the kinetic default uncertainty factor adequate? *Food Chem Toxicol.* :1633-1656.
- El-Masri, H. A., Bell, D. A., et Portier, C. J. 1999. Effects of glutathione transferase theta polymorphism on the risk estimates of dichloromethane to humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 158 (3): 221-230.
- Fisher, J. W. 2000. Physiologically based pharmacokinetic models for trichloroethylene and its oxidative metabolites. *Environ. Health Perspect.* 108: 265–273.
- Gearhart, J. M., Mahle, D. A., Greene, R. J., Seckel, C. S., Flemming, C. D., Fisher, J. W., et Clewell, H. J., 3rd. 1993. Variability of physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model parameters and their effects on PBPK model predictions in a risk assessment for perchloroethylene (PCE). *Toxicol Lett.* 68 (1-2): 131-144.

- Gelman, A., Carlin, J. B., Stern, H. S., et Rubin, D. B. 2004. Bayesian data analysis. Chapman & Hall/CRC. 668 p.
- Gelman, A., et Rubin, D. B. 1996. Markov chain Monte Carlo methods in biostatistics. *Stat Methods Med Res.* 5 (4): 339-355
- Gelman, A., et Rubin, D. B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical Science.* 7 (4): 457-472.
- Geyer, C. J. 1992. Practical Markov chain Monte Carlo. *Stat. Sci.* 7: 473-511.
- Gilks, W. R., Richardson, S. et Spiegelhalter, D. J. 1998. Markov chain Monte Carlo in practice. Chapman & Hall. 486 p.
- Gueorguieva, I., Aarons, L., et Rowland, M. 2006. Diazepam Pharmacokinetics from Preclinical to Phase I Using a Bayesian Population Physiologically Based Pharmacokinetic Model with Informative Prior Distributions in Winbugs. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 33(5): 571-594.
- Hack, C. E., Chiu, W. A., Jay Zhao, Q., et Clewell, H. J. 2006. Bayesian population analysis of a harmonized physiologically based pharmacokinetic model of trichloroethylene and its metabolites. *Regul Toxicol Pharmacol.* 46 (1): 63-83.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). 1994. Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health based exposure limits. *Environmental Health Criteria*, Vol. 170. World Health Organization, Geneva.

- International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2001. Biomarkers in risk assessment: validity and validation. Environmental Health Criteria, Vol. 222. World Health Organization, Geneva.
- Jonsson, F., Bois, F. Y., et Johanson, G. 2001a. Assessing the reliability of PBPK models using data from methylchloride-exposed, non-conjugating human subjects. Arch Toxicol. 75(4): 189-199.
- Jonsson, F., Bois, F., et Johanson, G. 2001b. Physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure of humans to dichloromethane during moderate to heavy exercise. Toxicol Sci. 59(2): 209-218.
- Jonsson, F., et Johanson, G. 2001a. Bayesian estimation of variability in adipose tissue blood flow in man by physiologically based pharmacokinetic modeling of inhalation exposure to toluene. Toxicology. 157(3): 177-193.
- Jonsson, F., et Johanson, G. 2001b. A Bayesian analysis of the influence of GSTT1 polymorphism on the cancer risk estimate for dichloromethane. Toxicol Appl Pharmacol. 174 (2): 99-112.
- Jonsson, F., et Johanson, G. 2002. Physiologically based modeling of the inhalation kinetics of styrene in humans using a bayesian population approach. Toxicol Appl Pharmacol. 179 (1): 35-49.
- Kodell, R. L., et Gaylor, D. W. 1999. Combining uncertainty factors in deriving human exposure levels of noncarcinogenic toxicants. Ann N Y Acad Sci. 895: 188-195.

- Krishnan, K., et Andersen, M.E. 2001. Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology. Dans: Hayes AW ed. Principles and methods of toxicology. Philadelphia, PA: Taylor & Francis. pp. 193-241.
- Krishnan, K., et Johanson, G. 2005. Physiologically-based pharmacokinetic and toxicokinetic models in cancer risk assessment. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 23 (1): 31-53.
- Lam, C-W., Galen, T. J., Boyd, J.F., et Pierson, D.L. 1990. Mechanism of transport and distribution of organic solvents in blood. *Toxicol Appl Pharmacol.* 104 (1): 117-129.
- Mahle, D. A., Gearhart, J. M., Grigsby, C. C., Mattie, D. R., Barton, H. A., Lipscomb, J. C., et Cook, R. S. 2007. Age-dependent partition coefficients for a mixture of volatile organic solvents in Sprague-Dawley rats and humans. *J Toxicol Environ Health A.* 70 (20): 1745-1751
- Marino, D. J., Clewell, H. J., Gentry, P. R., Covington, T. R., Hack, C. E., David, R. M., et Morgott, D. A. 2006. Revised assessment of cancer risk to dichloromethane: part I Bayesian PBPK and dose-response modeling in mice. *Regul Toxicol Pharmacol.* 45 (1): 44-54.
- Meek, M. E., Renwick, A., Dourson, M., Lake, B., Naumann, B. D., et Vu, V. 2002. Guidelines for application of chemical-specific adjustment factors in dose/concentration–response assessment. *Toxicology.* 181-182: 115-120.
- Ministère de la Santé et des Services Sociaux (MSSS). 2002. Principes directeurs d'évaluation du risque toxicologique pour la santé humaine de nature environnementale. (disponible en ligne

<http://msssa4.msss.gouv.qc.ca/fr/document/publication.nsf/fb143c75e0c27b69852566aa0064b01c/1f67c55fd19ef27085256c380075a643?OpenDocument>).

- Nong, A., et Krishnan, K. 2007. Estimation of interindividual pharmacokinetic variability factor for inhaled volatile organic chemicals using a probability-bounds approach. *Regul Toxicol Pharmacol.* 48 (1): 93-101.
- NRC (National Research Council). 1983. *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process.* National Academy Press, Washington, DC.
- Paustenbach, D. J. 2002. *Human and ecological risk assessment theory and practice.* New York: J. Wiley. 1556 p.
- Pelekis, M., Krewski, D., et Krishnan, K. 1997. Physiologically based algebraic expressions for predicting steady-state toxicokinetics of inhaled vapors. *Toxicology methods.* 7: 205-225.
- Pierce, C. H., Dills, R. L., Morgan, M. S., Nothstein, G. L., Shen, D. D., et Kalman, D. A. 1996. Interindividual differences in 2H8-toluene toxicokinetics assessed by semiempirical physiologically based model. *Toxicol Appl Pharmacol.* 139 (1): 49-61.
- Plummer M., Best N., Cowles K., et Vines k. (2006). {CODA}: Convergence Diagnosis and Output Analysis for {MCMC}. *R News* 6 (1): 7-11 (Disponible en ligne: <http://CRAN.R-project.org/doc/Rnews/>).
- Poulin, P., Béliveau, M., et Krishnan, K. 1999. Mechanistic animal replacement approaches for predicting pharmacokinetics of organic chemicals. dans

- Toxicity assessment alternatives : methods, issues, opportunities. Salem, H. et Katz, S.A. eds, Humana Press. Totowa, NJ. pp. 115-139.
- Poulin, P., et Krishnan, K. 1996. A mechanistic algorithm for predicting blood:air partition coefficients of organic chemicals with the consideration of reversible binding in hemoglobin. *Toxicol Appl Pharmacol.* 136 (1): 131-137.
- Renwick, A. G. 1993. Data-derived safety factors for the evaluation of food additives and environmental contaminants. *Food Addit Contam.* 10: 275-305.
- Smith, B. J. 2005. Bayesian Output Analysis Program (BOA), Version 1.1.5 [online]. The University of Iowa. Disponible en ligne : <http://www.public-health.uiowa.edu/boa> [consulté le 23 mars 2005].
- Smith, A. F. M., et Roberts, G. O. 1993. Bayesian Computation Via the Gibbs Sampler and Related Markov-Chain Monte-Carlo Methods. *Journal of the Royal Statistical Society Series B-Methodological.* 55 (1): 3-23.
- Spear, R. C., et Bois, F. Y. 1994. Parameter variability and the interpretation of physiologically based pharmacokinetic modeling results. *Environ Health Perspect.* 102 Suppl 11: 61-66.
- Tan, Y-M, Liao, K. H., et Clewell, H.J. 2007. Reverse dosimetry : interpreting trihalomethanes biomonitoring data using physiologically based pharmacokinetic modeling. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 17: 591-603.

- Tardif, R., Charest-Tardif, G., Brodeur, J., et Krishnan, K. 1997. Physiologically based pharmacokinetic modeling of a ternary mixture of alkyl benzenes in rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol.* 144 (1): 120-134.
- Thomas, R. S., Bigelow, P. L., Keefe, T. J., et Yang, R. S. 1996. Variability in biological exposure indices using physiologically based pharmacokinetic modeling and Monte Carlo simulation. *Am Ind Hyg Assoc J.* 57 (1): 23-32.
- US Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 1994. Methods for derivation of inhalation reference concentrations and application of inhalation dosimetry. U.S. EPA, Washington, DC, EPA/600/8-90/066F. (disponible en ligne : <http://epa.gov/ncea>).
- US Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 2002. A review of the reference dose and reference concentration processes. Washington, DC. EPA/630/P-02/002F. (disponible en ligne : <http://epa.gov/ncea>).
- US Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 2005. Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. Washington, DC. EPA/630/P-03/001F (disponible en ligne : <http://cfpub.epa.gov/ncea/cfm/nceapubtopics.cfm?ActType=PublicationTopics>).
- US Environmental Protection Agency (U.S. EPA). 2006. Approaches for the Application of Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Models and Supporting Data in Risk Assessment Washington, DC. EPA/600/R-05/043F (disponible en ligne : <http://epa.gov/ncea>).

- Wakefield, J. C. 1996. The Bayesian Analysis of Population Pharmacokinetic Models. *J Am Stat Assoc.* 91 (433): 62-75.
- Wakefield, J. C., Smith, A. F. M., Racinepoon, A., et Gelfand, A. E. 1994. Bayesian-Analysis of Linear and Nonlinear Population-Models by Using the Gibbs Sampler. *Applied Statistics-Journal of the Royal Statistical Society Series C.* 43 (1): 201-221.
- World Health Organisation (WHO). 1999. Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals. Disponible en ligne : <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc210.htm>.
- Yokley, K., Tran, H. T., Pekari, K., Rappaport, S., Riihimaki, V., Rothman, N., Waidyanatha, S., et Schlosser, P. M. 2006. Physiologically-based pharmacokinetic modeling of benzene in humans: a Bayesian approach. *Risk Anal.* 26 (4): 925-43

