



Development of a Physiologically Based Toxicokinetic Model for Human Exposure Risk Assessment of Methylene Diphenyl Diisocyanate(MDI)

Sajjad Mozaffari, M.Sc., Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Majid Bayatian, Assistant professor, Department of Occupational Health Engineering, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Nan-Hung Hsieh, Postdoctoral Research Associate, Department of Veterinary Integrative Biosciences, College of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, USA.

Monireh Khadem, Assistant professor, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Amir Abbasi Garmaroudi, M.Sc., Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Khosro Ashrafi, Department of Environmental Engineering, Faculty of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran

✉ **Seyed Jamaledin Shahtaheri**, (*Corresponding author), Professor, Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran AND Center for Water Quality Research, Institute for Environmental Research, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. shahtaheri@tums.ac.ir

Abstract

Background and aims: Introduction: This study aims to develop a physiologically based toxicokinetic (PBTK) model for human systemic exposure assessment of methylene diisocyanate (MDI) and prediction of its urinary metabolites, given the lack of a developed model.

Methods: A PBTK model was constructed with parameter uncertainty and variability to assess potential exposure to MDI. The model was calibrated using Bayesian analysis via the Markov chain Monte Carlo approach. Exposure reconstruction or reverse dosimetry was performed as an occupational exposure risk assessment through time-kinetic urinary elimination of methylenedianiline (MDA), the biomarker of MDI, in those exposed to unknown exposure scenarios.

Results: The amount of MDA excretion peaked approximately 15 hours after the start of exposure. Simulation results of reverse dosimetry for both exposed persons to the unknown concentration of MDI revealed experienced more systemic exposure than NOAEL (NOAEL = 0.2 ug/l). The exposure concentration (\pm SD) was 1.58 (\pm 0.856) and 1.005 (\pm 0.705) ug/l for person A and B, respectively. Comparison of predicted results with experimental data shows the model can estimate kinetic elimination closely to experimental data ($R^2 = 0.9$).

Conclusion: The developed model can estimate the internal dose of body tissues and understand the risk of occupational exposures by comparing the simulation of biological monitoring with acceptable limit values and determining the potential of external exposure.

Conflicts of interest: None

Funding: Tehran University of Medical Sciences to support this research; (Project no.: 50578-99-3-99), with ethical code of IR.TUMS.SPH.REC.1399.221.

Keywords

PBTK model

Exposure risk assessment

Methylene diisocyanate

(MDI)

Bayesian inference

Received: 2021/12/13

Revised: 2023/01/24

Accepted: 2023/04/4

INTRODUCTION

Methylene diphenyl diisocyanate (MDI) is an aromatic diisocyanate with three common isomers, varying by the positions of the isocyanate groups around the rings: 2,2'-MDI, 2,4'-MDI, and 4,4'-MDI. The 4,4' isomer, also known as 4,4'-diphenylmethane diisocyanate or pure MDI, is the most widely used. The main application of MDI-4,4 isomer in the world is the production of rigid polyurethane foams. It is also used in casting, wood production, and elastomers such as adhesives, paints, coatings, thermal insulation, sandwich panels, pipe insulation, and refrigeration. The increasing use of isocyanates in many industries results in potential exposure to them, which can cause irritation and sensitivity in the skin and respiratory system.

Aerosols of MDI deposited in the alveolar epithelial lining fluids (surfactant) react with nucleophiles such as glutathione (GSH), peptides, and proteins. The latter may also be transcarbamoylated via adducted glutathione (MDI-SG). If the nucleophilic capacity of this layer is overwhelmed, surfactant becomes increasingly dysfunctional and cell membrane deterioration and cytotoxicity occur. The resultant reaction products are phagocytosed by alveolar macrophages which rely on the surfactant pool of GSH to provide precursors for de novo GSH synthesis to protect themselves from oxidative injury under stressed conditions. The availability of GSH is essential to safeguard their membrane integrity and homeostasis for optimal cell functioning. If impaired, their ability to execute phagocytosis and microbial clearance and control the respiratory burst become compromised. The role of GSH in controlling lung inflammation, redox-sensitive transcription factors, and necroptosis has been dealt with in detail elsewhere.

Physiologically based toxicokinetics (PBTK) modeling is a mathematical approach for predicting the absorption, distribution, metabolism, and excretion (ADME) of a toxic substance or its metabolites in humans and other animal species. Each of the ADME processes is described by a set of ordinary differential equations (ODEs) based on physiological clearance in different organs. The response of these equations depends on physiological parameters (such as pulmonary ventilation, cardiac output, flow rate, blood, body weight, tissue volume, tissue blood flow), physicochemical (molecular weight, octanol-water partition coefficient), biochemical (blood partition coefficient: air, tissue: blood), and exposure characteristics. By comparing the predicted internal dose by the PBTK model with acceptable exposure limit values obtained based on NOAEL and LOAEL, the potential of exposure risk to cause damage can be determined.

Due to a lack of information on the prediction of internal dose for MDI and its metabolite and the absence of a suitable computational model for MDI dosimetry in risk assessment applications, this study was designed to develop a physiologically based pharmacokinetic model based on toxicokinetics for exposure risk assessment of methylene diisocyanate (MDI).

METHODS AND MATERIALS

This study was broken down into three interrelated steps: Physiological Based Toxicokinetic (PBTK) modeling, solving and calibration of parameters (statistical modeling), and risk assessment. The first step was developed to assess potential operator exposure to MDI particles. A hierarchical statistical model as a second step was composed to validate TK parameters

Table 1. Prior and posterior distribution for non-informative parameters

| Parameters | Abbreviation | Prior | Shape | Posterior Mean | SD | Q95 th |
|-----------------------------------|---------------|------------------------------|--------------|----------------|-------|-------------------|
| | | Mean (SD), min, max | | | | |
| Hepatic clearance | Cl-metabolism | 0-1 | Uniform | 0.220 | 0.180 | 0.600 |
| Permeation from air to mucus | Pa: m | 0-1 | Uniform | 0.719 | 0.190 | 0.970 |
| MDA-fraction | MDA-frac | 0-0.1 | Uniform | 0.001 | 0.000 | 0.003 |
| Bodyweight | BW | 70 (21), 60, 80 | Trunc-Normal | 70.03 | 5.668 | 78.96 |
| Ratio of blood to plasma | Rbp | 0-1 | Uniform | 0.439 | 0.278 | 0.915 |
| Respiratory deposition efficiency | DE | 0.079 (0.0158), 0.038, 0.153 | Trunc-Normal | 0.079 | 0.016 | 0.106 |
| Gut absorption coefficient | k-gutabs | 0-1 | Uniform | 0.498 | 0.286 | 0.948 |
| Max velocity of reaction | Vmaxc | 0-1 | Uniform | 0.535 | 0.286 | 0.960 |
| Michaelis-Menten constant | Km | 1 | - | - | - | - |
| Fraction unbound plasma | Fub | 0-0.2 | Uniform | 0.100 | 0.058 | 0.190 |
| MDA elimination coefficient | k-elim-MDA | 0-1 | Uniform | 0.538 | 0.229 | 0.940 |

using the Markov Chain Monte Carlo (MCMC) technique. The reverse dosimetry via human urinary time kinetic elimination data was performed as a final step.

PBTK modeling: PBTK modeling: MDI absorption into the systemic circulation resulting from inhalation and mucosal uptake are described in Equations 1 and 2, respectively. These equations were adopted from Linakis et al. (1).

$$\frac{dA_{Inh}}{dt} = (Q_{alv} \times (C_{inh} - C_{alv})) - K_{URT} \times \left(C_{inh} - \frac{C_{muc}}{P_{m:air}} \right) \quad (1)$$

$$\frac{dA_{muc}}{dt} = K_{URT} \times \left(C_{inh} - \frac{C_{muc}}{P_{m:air}} \right) - (K_{URT} \times \left(\frac{C_{muc}}{P_{m:air}} - C_{alv} \right)) \quad (2)$$

Where Q_{alv} is the alveolar airflow, C_{inh} is the air concentration ("dose"), C_{alv} is the concentration in the "alveolar" compartment, K_{URT} is clearance from the air to the upper respiratory tract, scaled by alveolar blood flow rate and bodyweight 0.75, C_{muc} is the concentration of chemical trapped in the mucus/URT, and $P_{m:air}$ is the mucus: air partition coefficient. "A" in these equations represents the MDI amount. Due to the high reactivity of MDI particles and the high glutathione content of respiratory airways, it was assumed in this study that MDI particles are absorbed as soon as they deposit on the wall. Therefore, the term of $C_{muc}/(P_{m:air})$ was assumed to be equal to Deposition Efficiency (DE) \times MDI Dose.

Poulin and Theil's (2000) algorithm (2) under steady-state conditions was used to calculate tissue: plasma partition coefficient. Then its elimination was estimated using a one-compartment PBTK model according to Equation (5). The MDI is distributed in the model's compartments through the received blood. The blood containing MDI enters the main artery (Equation 7) from the pulmonary artery and is distributed into all tissues using Equation (3). A liver compartment in this model, plus the gastrointestinal blood flow, receives spleen blood and performs hepatic metabolism on the received blood flow (Equation 4). In addition to hepatic metabolism, hydrolysis of MDI to 4,4'-methylene aniline (MDA) was applied as a fraction of all internal doses of MDI in venous blood (Equation 6).

$$d/dt (C_{tissue}) = \frac{Q_{tissue} \times (C_{art} - (R_{bp}/(K_{p_gut} \times f_{ub}/f_{ut}) \times C_{tissue}))}{V_{tissue}} \quad (3)$$

$$\frac{d}{dt} (C_{liver}) = \left(\frac{Q_{liv} \times C_{art} + \frac{(Q_{gut} \times R_{bp})}{(K_{p_gut} \times \frac{f_{ub}}{f_{ut}})} \times C_{gut} + \frac{(Q_{spl} \times R_{bp})}{(K_{p_spl} \times \frac{f_{ub}}{f_{ut}})} \times C_{spl}}{(Q_{liv} + Q_{gut} + Q_{spl}) \times \frac{R_{bp}}{(K_{p_liv} \times \frac{f_{ub}}{f_{ut}})} \times C_{liver}} \times C_{liver} - \left(\frac{C_{lmet}}{K_{pliver} \times \frac{f_{ub}}{f_{ut}}} \times C_{liver} \right) \times R_{bp} - \frac{V_{max} \times \frac{C_{liv}}{K_{pliv}}}{K_m + \frac{C_{liv}}{K_{pliv}}} \right) / V_{liver} \quad (4)$$



$$\frac{d}{dt} C_{compartment} = \frac{MDA_{fraction}}{V_{distribution}} \times \text{internal dose of MDI} - K_{elimination} \times C_{compartment} \quad (5)$$

$$\frac{d}{dt} (C_{ven}) = \left(\left(Q_{cardiac} + \frac{(Q_{liv} + Q_{gut} + Q_{spl}) \times C_{liver}}{K_{pliver}} + \sum_{i=1}^n Q_{tissue\ i} \times \frac{C_{tissue\ i}}{K_{ptissue\ i}} \right) \times \frac{R_{bp}}{f_{ub}/f_{ut}} - Q_{cardiac} \times C_{ven} \right) / V_{ven} \quad (6)$$

$$\frac{d}{dt} (C_{art}) = Q_{alv} \times \frac{C_{muc}}{P_{m:air}} - dt(mucus) - (Q_{alv} \times C_{alv} + Q_{cardiac}(C_{art} - C_{ven}))/V_{art} \quad (7)$$

In these equations, Q represents blood flow (L/h), V represents tissue volume (L), K_p represents tissue partition coefficient, C represents the concentration of MDI (ug/l), f_{ub} is the fraction unbound plasma, f_{ut} is the fraction unbound tissue, C_{lmet} is hepatic metabolism (L/h/kg), R_{bp} is the ratio of blood to plasma, V_{max} and K_m are the reaction rate (ug/h) and the Michaelis-Menten constant (ug/l) in metabolism, respectively (2).

Solving and calibration of parameters: After determining the kinetics and structure of the model, differential equations of compartments were coded into MCSim under R as a modeling program for Bayesian inference via MCMC simulation (3). In this study, the Metropolis Hasting algorithm was applied to estimate the posterior distribution using experimental data and the prior distribution (4). The Gelman-Rubin test (5) was applied for convergence diagnostic confirmation by running four independent Markov chains with various random seeds and calculating potential scale reduction factors (\hat{r}) for all parameters.

The prior distribution shape of the parameters in this study was uniform. Large intervals were set to reflect minimal prior knowledge and a high degree of uncertainty in the true values and to minimize selection bias (4). The prior distribution of exposure concentration, percentage of air MDI penetration into mucus ($P_{a:m}$), hepatic clearance (C_{lmet}), maximum kinetics (V_{max}), fraction unbound plasma (f_{up}), Ratio of blood to plasma (R_{bp}), gastrointestinal absorption coefficient (K_{gutabs}), MDI particle deposition efficiency in the airway (DE), MDI hydrolysis rate ($MDA_{fraction}$) and MDA removal rate ($K_{elimination}$) were uniformly assigned to uniform and allowed statistical inference to determine the optimum value of the parameters.

Bayesian inference using a numerical method, MCMC sampling was applied to calibrate the PBTK model using prior distribution and experimental data. It was measured based on Bayes' theorem:

$$P(X|M) \propto P(M|X) \times P(X) \quad (8)$$

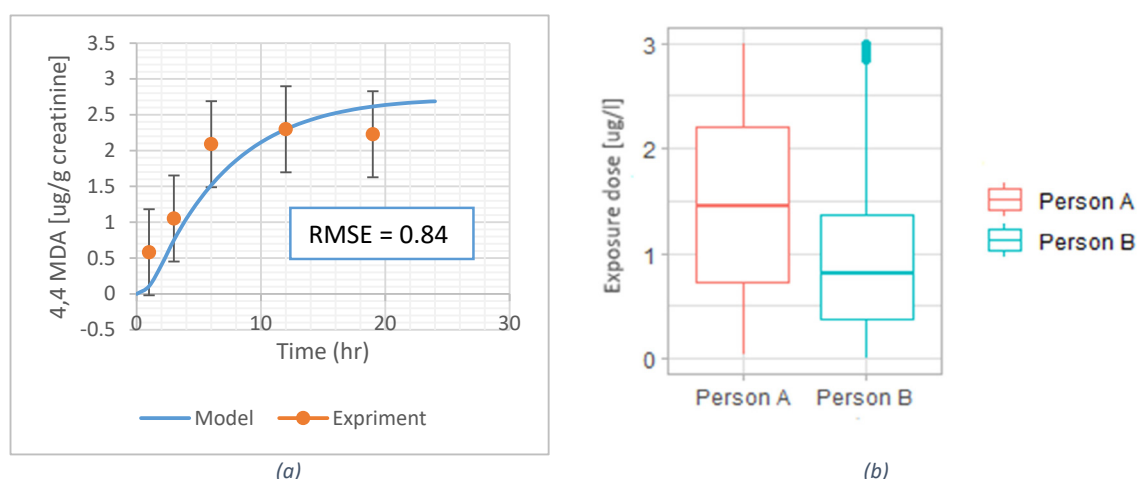


Fig 1. MDI biomarker levels (4,4 MDA [$\mu\text{g/g}$ creatinine]) in the urine of the exposed people using the developed model regarding the measurement data (a). Evaluation of exposure conditions using reverse dosimetry for two participants of the study Budnik et al. (2011) using urinary excretion values (b).

Where $P(X)$ is a probability distribution representing the state of current knowledge regarding the system of interest. The experimental data, such as HBM data, are considered as (M) in equation 1. The quantity $P(M|X)$ is a likelihood function that gives the probability of obtaining M considering the model and parameters, X . Thus $P(X|M)$ represents the new knowledge state regarding the model after new data are considered. After MCMC calibration of the model parameters, reliability analysis, including sensitivity and uncertainty analysis, and comparison of the results predicted by the model with experimental data were performed.

Risk assessment: In this study, exposure risk assessment was conducted through human biomonitoring (HBM) data from the study by Budnik et al. (2011) (6). In the first step, the developed PBTK model was implemented using the MCMC hierarchical statistical model. The output of this execution was reverse dosimetry taking into account uncertainties, individual variability, and all available experimental data. The amount of external exposure (via respiration route) was estimated using MDA urinary excretion per time. The predicted external exposure concentration was compared with allowable exposure limits (AOEL) in the second step.

According to the European Union risk assessment report for determining the risk characteristics of methylene diphenyl diisocyanate, the incidence of chronic respiratory symptoms and lung tumors has occurred in humans exposed to higher doses of 0.2 mg/m^3 . The NOAEL value as a criterion for determining MDI exposure risk assessment in the occurrence of chronic respiratory disorders is equal to 0.2 (7). Therefore, in this study, to perform exposure risk assessment, the predicted results of biological moni-

toring were compared to the exposure characteristics of Budnik et al.'s study (2011) and the anticipated results of biological monitoring at NOAEL level of 0.2. In other words, occupational exposure risk assessment was performed by comparing the estimated biomarker kinetic elimination of two groups of exposure scenarios: group one was no observed adverse effect level (NOAEL), and group two was data obtained by measurement.

RESULTS

Estimation of non-informative parameters using converged MCMC results ($\hat{r} > 1.72$) for non-informative specific human parameters is presented in Table 1.

A comparison of the predicted results with the experimental data is shown in Figure 1a. The human PBTK model estimated the pattern and amount of urinary excretion of 4,4'-MDA per unit time at a 95% confidence level close to the experimental values. Approximately 15 hours after the start of exposure, the amount of MDA excretion peaked.

The results of estimating the level of personal exposure for two participants of Budnik et al.'s study (2011), who were environmentally exposed to an unknown concentration of MDI via reverse dosimetry, are shown in Figure 1b. Both participants experienced more systemic exposure than NOAEL (NOAEL = 0.2 $\mu\text{g/l}$). In person A, the exposure concentration (standard deviation) was 1.58 (0.856) and in person B, the exposure concentration (standard deviation) was 1.005 (0.705) $\mu\text{g/l}$.

CONCLUSION

Measuring just the concentration of pollutants in the air is not enough to understand the risk of ex-

posure. Given the characteristics of MDI, such as volatility, reactivity, and excitability, exposure to these substances must be kept to a minimum level. Using a valid PBPK model for MDI that covers the necessary parameters in estimating the internal dose can be helpful in assessing the level of exposure. This study showed that a developed PBTK model could determine the exposure level and internal amounts of MDI through reverse dosimetry and help determine the risk of occupational exposure, exposure potential, and damage inflicted by the contaminant. In addition, the statistical technique used in this investigation estimated the most probable value of the

model parameters with respect to experimental data, variability of individuals in the population, and current uncertainties.

ACKNOWLEDGMENT

The authors would like to thank Tehran University of Medical Sciences to support this research (Project no.: 50578-99-3-99), with ethical code of IR.TUMS.SPH.REC.1399.221.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest regarding the publication of this manuscript.

How to cite this article:

Sajjad Mozaffari, Majid Bayatian, Nan-Hung Hsieh, Monireh Khadem, Amir Abbasi Garmaroudi, Khosro Ashrafi, Seyed Jamaledin Shahtaheri. Development of a Physiologically Based Toxicokinetic Model for Human Exposure Risk Assessment of Methylene Diphenyl Diisocyanate(MDI). *Iran Occupational Health*. 2023 (01 May);20:5.

***This work is published under CC BY-NC 4.0 licence**





توسعه یک مدل توکسیکوکینتیکی مبتنی بر شواهد فیزیولوژیکی جهت ارزیابی ریسک مواجهه انسان با متیلن دی فنیل دی ایزوسیانات (MDI)

سجاد مظفری، کارشناس ارشد، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
مجید بیاتیان، استادیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، واحد علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.
ناهانگ شی‌ای، پسادکتری، گروه علوم زیستی، کالج دامپزشکی و علوم زیست پزشکی، دانشگاه M&A تگزاس، کالج استیشن، ایالات متحده آمریکا.
منیره خادم، استادیار، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
امیر عباسی گرمارودی، کارشناس ارشد، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
خسرو اشرفی، گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
سید جمال الدین شاه طاهری، (* نویسنده مسئول) استاد، گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. و مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. shahtaheri@tums.ac.ir

چکیده

کلیدواژه‌ها
 مدل توکسیکوکینتیکی فیزیولوژیکی
 ارزیابی ریسک مواجهه
 متیلن دی فنیل دی ایزوسیانات
 استنتاج بی‌ریز

زمینه و هدف: با توجه به فقدان مدل توکسیکوکینتیکی مبتنی بر شواهد فیزیولوژیکی (PBTK) برای ارزیابی میزان دوز داخلی (مواجهه سیستمیک) و پیش بینی مقادیر دفع ادراری نشانگر بیولوژیکی MDI، در این مطالعه سعی شده است با استفاده از تئوری بی‌ریز و اطلاعات موجود یک مدل توکسیکوکینتیکی برای پیش بینی دزیمتری MDI در بدن ارائه گردد و از نتایج به دست آمده جهت ارزیابی ریسک مواجهه با آن استفاده نمود.

روش بررسی: در این مطالعه به منظور ارزیابی دوز داخلی و پتانسیل مواجهه با MDI، با در نظر گرفتن عدم قطعیت پارامترها، تغییرپذیری افراد در جمعیت یک مدل PBTK توسعه و با روش تحلیل بی‌ریز با زنجیره مارکوف مونت کارلو (MCMC) کالیبره شد. ارزیابی ریسک مواجهه شغلی از طریق تکنیک دوزیمتری معکوس به وسیله داده‌های پایش بیولوژیکی متیلن دی فنیل دی ایزوسیانات (MDA) به عنوان نشانگر بیولوژیکی MDI در افراد مواجهه یافته با غلظت‌های نامعلوم از MDI انجام شد. به نحوی که مقادیر برآورده شده مواجهه خارجی جهت پی بردن به ریسک ایجاد آسیب با مقدار حد مجاز مواجهه مقایسه گردید.

یافته‌ها: پارامترهای مجهول در مطالعه حاضر با نتایج MCMC هم‌گرا شده ($\hat{P} < 1/83$) کالیبره و به دست آمدند. نتایج مدل PBTK نشان داد، الگو و مقدار دفع ادراری MDA- 4.3^* پیش‌بینی شده در واحد زمان در سطح اطمینان ۹۵٪ نزدیک به مقادیر تجربی برآورد شده است ($R^2 = 0.9$). نتایج دوزیمتری معکوس نشان داد هر دو نفر ارزیابی شده، مواجهه سیستمیک بیشتری نسبت به مقدار NOAE تجربه نموده بودند. به نحوی در شخص A میزان غلظت مواجهه (انحراف معیار)، $1/58 (0.1856)$ و در شخص B میزان غلظت مواجهه (انحراف معیار)، $1/0.05 (0.1705)$ ug/l بوده است.

نتیجه‌گیری: به وسیله مدل توسعه یافته می‌توان دوز داخلی اندام‌های بدن را برآورد نمود و به ریسک مواجهات شغلی از طریق انجام دوزیمتری معکوس به وسیله داده‌های پایش بیولوژیکی و برآورد میزان غلظت مواجهه خارجی با MDI پی برد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: دانشگاه علوم پزشکی تهران؛

((Project no.: 50578-99-3-99), IR. TUMS. SPH.REC.1399.221.)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۲۲
 تاریخ اصلاح: ۱۴۰۱/۱۱/۴
 تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱/۱۵

شیوه استناد به این مقاله:

Sajjad Mozaffari, Majid Bayatian, Nan-Hung Hsieh, Monireh Khadem, Amir Abbasi Garmaroudi, Khosro Ashrafi, Seyed Jamaledin Shahtaheri. Development of a Physiologically Based Toxicokinetic Model for Human Exposure Risk Assessment of Methylene Diphenyl Diisocyanate(MDI). Iran Occupational Health. 2023 (01 May);20:5.

*انتشار این مقاله به صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC 4.0 صورت گرفته است

مقدمه

برای تهیه مدل‌ها را تشکیل می‌دهند تا بتوانند داده‌های به دست آمده از چنین مطالعاتی را درک و تفسیر کنند (۱۲). در مدل‌سازی توکسیکوکینتیکی مبتنی بر شواهد فیزیولوژیکی (PBTK⁴) یک توصیف کمی از فرایندهای توکسیکوکینتیکی شامل جذب، توزیع، متابولیسم و دفع ماده شیمیایی در بدن صورت می‌پذیرد. هرکدام از این فرایندها با مجموعه‌ای از معادلات دیفرانسیلی معمولی (ODEs⁵) بر اساس کلیرانس فیزیولوژیکی در ارگان‌های مختلف توصیف می‌گردند که پاسخ این معادلات با در نظر گرفتن تمام پارامترهای فیزیولوژیکی ماده (از قبیل؛ تهویه ریوی، برون ده قلبی، دبی جریان خون، وزن بدن، حجم بافت، جریان خون بافت)، فیزیوشیمیایی و بیوشیمیایی (ضریب پارتیشن خون: هوا، بافت: خون)، مشخصات مواجهه و میزان دوز داخلی بافت به دست می‌آید (۱۳). در واقع با این نوع مدل‌سازی می‌توان با بررسی فرایندهائی مانند فراهمی زیستی، کلیرانس، متابولیسم، نیمه‌عمر، حجم توزیع و غیره به این مهم رسید که "چه مقدار دقیقی از ماده شیمیایی می‌تواند بر عملکرد طبیعی بدن اثر بگذارد" (۱۴). بنابراین با مقایسه دوز داخلی پیش‌بینی شده با مقادیر حد مواجهه قابل قبول اپراتور که بر اساس NOAEL⁶ تدوین می‌شود (۱۵) می‌توان به ریسک مواجهه با MDI پی برد (۱۶).

با توجه به هزینه زیاد مطالعات تجربی و آزمایشگاهی و با پیشرفت سخت افزاری و نرم افزاری رایانه‌ها و استفاده از آن‌ها در حل عددی معادلات حاکم، کاربرد شبیه‌سازی‌های عددی در علوم مختلف رو به افزایش است. از آنجا که اطلاعات توکسیکوکینتیکی اندکی در خصوص متیلن دی‌فنیل دی‌ایزوسیانات در دسترس است و از طرف دیگر وجود رفتارهای خاص این ماده از جمله واکنش پذیری در بدن، تاکنون مدل توکسیکوکینتیکی مناسبی برای آن ارائه نشده است. بنابراین در این مطالعه سعی بر آن است با استفاده از تئوری بیزین و اطلاعات موجود یک مدل توکسیکوکینتیکی برای پیش‌بینی دزیمتری در بدن ارائه داد و از نتایج به دست آمده جهت ارزیابی ریسک مواجهه با MDI استفاده نمود.

روش بررسی

مراحل انجام این مطالعه را در پنج گام می‌توان خلاصه نمود:

تعیین ساختار مدل PBTK

متیلن دی‌فنیل دی‌ایزوسیانات (MDI¹) یک ترکیب آروماتیک با فشار بخار پایین در دمای اتاق بوده و از خانواده دی‌ایزوسیانات‌هاست. این ماده به صورت سه ایزومر ۲،۲-MDI، ۲،۴-MDI و ۴،۴-MDI موجود است. ساختار مشترک تمام ترکیبات ایزوسیانات وجود دو پیوند $-N=C=O$ در ساختمان آن‌هاست. مونومر MDI ماده خالص حاصل از تقطیر ترکیب پلیمری MDI است که شامل ۹۷٪ ۴،۴-MDI با مقادیر کمی از ۲،۴-MDI و مقادیر بسیار نادری از ایزومر ۲،۲-MDI می‌باشد. فرمول شیمیایی مونومر MDI، $CH_2(C_6H_4NCO)_2$ با وزن مولکولی ۲۵۰/۲۶ می‌باشد. ایزومر ۴،۴-MDI به عنوان MDI خالص شناخته می‌شود و پرکاربردتر از سایر ایزومرهاست (۸). اصلی‌ترین کاربرد ایزومر ۴،۴-MDI در جهان، تولید فوم‌های پلی اورتان سخت است. این ماده در صنعت ریخته‌گری، چوب، تولید الاستومرها مثل چسب، رنگ، پوشش‌ها و انواع عایق‌های حرارتی قابل استفاده بوده و در صنایع مختلف مانند تولید ساندویچ پانل و ایزوله کردن لوله‌ها، صنعت سردخانه و یخچال‌سازی، صنعت خودرو مانند صندلی خودرو، داشبورد، پنل‌های داخل خودرو، غربلیک فرمان و تولید تخت و کفی انواع کفش‌ها استفاده می‌شود (۹، ۱۰).

استفاده روز افزون از ایزوسیانات‌ها در صنایع مختلف پتانسیل مواجهه با آنها را فراهم می‌کند. مواجهه با این ترکیبات منجر به ایجاد تحریک و حساسیت در پوست و سیستم تنفسی افراد خواهد شد (۱۱). مواجهه تنفسی با MDI، در صورتی که آئروسول‌های آلاینده به مجاری تنفسی راه یابند، در پوشش اپیتلیال آئولولار (سورفاکتانت) موجود در مسیرهای هوایی ته‌نشین شده و با نوکلئوفیل‌های موجود در محل مانند گلوپاتیون (GSH²)، پپتیدها و پروتئین‌ها وارد واکنش می‌گردد. بعد از این مرحله MDI-³SG شکل خواهد گرفت (۸). در صورتی که ظرفیت نوکلئوفیل‌های این لایه اشباع شود سورفاکتانت به طور فزاینده‌ای ناکارآمد شده، غشای سلولی تخریب شده و سمیت سلولی و ژنتیکی رخ می‌دهد.

توکسیکوکینتیکی به عنوان مطالعه دوره زمانی دارو سم و متابولیت‌های آن‌ها در بدن و حین عبور از مایعات و ارگان‌های مختلف بدن و حذف از طریق ادرار یا سایر روش‌های دفع مطرح است. این تعریف همچنین شامل روابط ریاضی است که بلوک‌های ساختمانی مورد نیاز

1 Methylene diphenyl diisocyanate

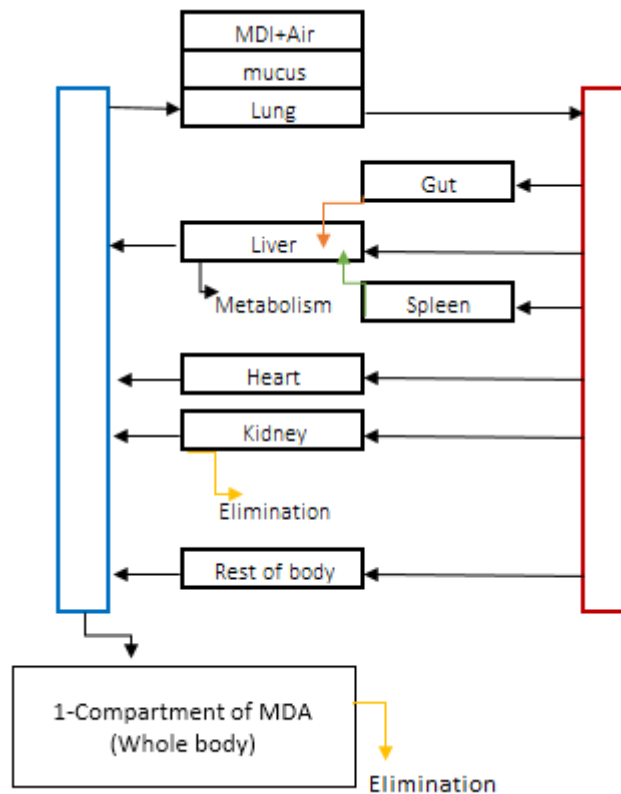
2 Glutathione

3 Adducted glutathione

4 Physiologically Based Toxicokinetic

5 Ordinary Differential Equation

6 No Observed Adverse Effect Level



شکل ۱. ساختار کلی مدل برای پیش بینی دزیمتری بیومارکر MDI، کوبه lung نمایانگر بافت ریه، gut: دستگاه گوارش، liver: کبد، spleen، طحال، heart: قلب، kidney کلیه و کوبه Rest of body شامل پوست، استخوان، چربی، مغز و ماهیچه است.

سیستم تنفسی و لایه موکوس از طریق معادلات (۱) و (۲) محاسبه شد (۱).

$$\frac{dA_{inh}}{dt} = (Q_{alv} \times (C_{inh} - C_{alv})) - K_{URT} \times \left(C_{inh} - \frac{C_{muc}}{P_{M:A}} \right) \quad (1)$$

$$\frac{dA_{muc}}{dt} = K_{URT} \times \left(C_{inh} - \frac{C_{muc}}{P_{M:A}} \right) - \left(K_{URT} \times \left(\frac{C_{muc}}{P_{M:A}} - C_{alv} \right) \right) \quad (2)$$

در معادلات فوق، A نمایانگر مقدار ماده در کوبه، t زمان و C غلظت ماده در کوبه است. Q_{alv} نمایانگر جریان هوای آلوئولی، C_{inh} غلظت MDI در هوای تنفسی، C_{alv} غلظت MDI در کوبه آلوئولها، K_{URT} کلیرانس ماده به دستگاه تنفسی فوقانی بود. جمله $\frac{C_{muc}}{P_{M:A}}$ در معادلات فوق گویای غلظت در لایه موکوس (دیواره) به ضریب نفوذ MDI از هوا به لایه موکوس است.

توزیع ماده در کوبه‌ها از طریق جریان خون دریافتی آن کوبه صورت می‌گیرد. به نحوی که جریان خون دارای

ساختار مورد استفاده در این مطالعه شامل فرایندهای اصلی توکسیکوکینتیک از قبیل جذب، متابولیسم، توزیع و دفع، برگرفته از مدل عمومی مطالعات USEPA^۱ بود (۲) که در آن بدن به چندین کوبه^۲ شامل؛ دستگاه تنفس (به‌عنوان مسیر جذب)، دستگاه گوارش، طحال، کبد (به‌عنوان مسیر متابولیسم)، کلیه‌ها (مسیر دفع)، قلب، شریان، ورید و سایر ارگان‌ها (چربی، استخوان، ماهیچه، پوست و مغز) تقسیم بندی شدند. هرکدام از کوبه‌های مذکور با توجه به پارامتر ضریب تقسیم ماده در بافت، به صورت هموزن فرض شدند. در این روش غلظت ماده در طول زمان با استفاده از نسبت مقدار ماده در بافت به ضریب تقسیم ماده‌ی آزاد در پلاسما^۳ محاسبه گردید (۱۷). ساختار مدل PBTK در مطالعه حاضر در شکل ۱ نمایش داده شده است.

محل جذب در این مدل، مسیر تنفسی بود. ذرات MDI وارد مجاری تنفسی شده و درصدی از تعداد ذرات در لایه موکوس نشست یافته سپس وارد جریان سیستمیک می‌شدند. جذب تنفسی MDI و تعیین مقدار دوز ماده در

1 United States Environmental Protection Agency
2 Compartment
3 Unbound plasma partition coefficients

معادلات یکسان (معادله ۳) بوده هستند (۲).
**استخراج مقادیر پارامترهای فیزیو-شیمیایی،
 بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی**

یکی از پارامترهای مهم در توسعه مدل‌های PBTK، ضریب تقسیم بافت: پلاسما برای ماده مورد مطالعه در هر کوپه است. در این پژوهش با استفاده از الگوریتم ارائه شده در مطالعات پولین و دیل^۴ (۲۰۰۱) و هم‌چنین پولین و همکاران (۲۰۰۲)، مقادیر این پارامتر برای MDI در کوپه‌ها برآورد گردید. این الگوریتم با در نظر گرفتن پارامترهای فیزیو-شیمیایی (از قبیل pKa، ضریب تقسیم اکتانول: آب و ضریب تقسیم اولیه: بافر) فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (از قبیل pH بافت، درصد ماده آزاد در پلاسما، درصد ماده آزاد در بافت، مقادیر آب، فسفولیپید و لیپید موجود در بافت) مقدار این پارامتر را برآورد کرد (۱۸، ۱۹). خصوصیات فیزیو-شیمیایی ماده، نظیر وزن مولکولی، ضریب نفوذ ماده در هوا و بافت، ضریب تقسیم اکتانول: آب و اوایل: بافر از پایگاه داده DSStox آژانس حفاظت از محیط زیست (EPA^۵) استخراج شد (۲۰). پارامتر درصد ماده آزاد پلاسما (fup) با توجه به مطالعه، واکنش و همکاران^۶ (۲۰۱۸) که از روش QSAR^۸ برای تخمین این پارامتر با استفاده از ضریب اکتانول به آب (logP) و وزن مولکولی بهره برده بودند (۲۱) تعیین شد و با استفاده از مقادیر آب (Vw_p)، فسفولیپید (Vph_p) و لیپید (Vph_p) موجود در پلاسما برای رت و انسان تعدیل^۹ شد. نسبت آلبومین بافت به پلاسما (Ratp^{۱۰}) در بافت چربی معادل ۰/۱۵ و در سایر بافت‌ها معادل ۰/۵۵ برای محاسبه درصد ماده آزاد در بافت (f^{۱۱}) استفاده شد.

پارامترهای فیزیولوژیکی شامل وزن بدن، برون‌ده قلبی، فشار خون گلمرولی، هماتوکریت، تهویه ریوی، میزان حجم بافت‌ها، جریان خون دریافتی هر بافت و میزان متابولیسم ماده در این مدل‌سازی مورد استفاده قرار گرفت. مقدار هر پارامتر با استفاده از وزن بدن کالیبره، و تغییر پذیری^{۱۲} افراد در جمعیت از طریق معادلات ۸ تا ۱۳ اعمال شد.

$$Q_{cardiac} = F-CO-f \times BW \wedge 0.75 \quad (۸)$$

4 POULIN and THEIL (2001)

5 Environmental Protection Agency

6 fraction unbound in plasma

7 Watanabe et al. (2018)

8 Quantitative structure-activity relationship

9 Adjust

10 Ratio of albumin for tissue: plasma

11 fraction unbound in tissue

12 Variability

MDI از سرخرگ ریوی وارد سرخ رگ اصلی (معادله ۷) شده و بر اساس معادله (۳) در تمام بافت‌ها توزیع می‌گردد. بافت کبد در این مدل علاوه بر جریان خون دریافتی، جریان خون خروجی از دستگاه گوارش و کیسه صفرا را نیز مستقیماً دریافت کرده و متابولیسم کبدی انجام می‌دهد (معادله ۴). علاوه بر متابولیسم کبدی، هیدرولیز MDI به متیلین دی‌آنیلین (MDA^۱) به صورت یک ضریب در مقدار دوز داخلی MDI در خون سیاهرگی (معادله ۶) اعمال گردید سپس دفع آن به صورت مدل PBTK تک کوپه‌ای بر اساس معادله (۵) برآورد گردید.

$$\frac{d}{dt}(C_{tissue}) = Q_{tissue} \times \left(C_{art} - \left(R_{bp} / \left(\frac{K_{p_gut} \times f_{ub}}{f_{ub} + f_{ut}} \right) \times C_{tissue} \right) \right) / V_{tissue} \quad (۳)$$

$$\frac{d}{dt}(C_{liver}) = \left(Q_{liv} \times C_{art} + \frac{(Q_{gut} \times R_{bp})}{(K_{p_{gut}} \times \frac{f_{ub}}{f_{ub} + f_{ut}})} \times C_{gut} + \frac{(Q_{spl} \times R_{bp})}{(K_{p_{spl}} \times \frac{f_{ub}}{f_{ub} + f_{ut}})} \times C_{spl} - \frac{(Q_{liv} + Q_{gut} + Q_{spl}) \times R_{bp}}{(K_{p_{liver}} \times f_{ub} / f_{ut})} \times C_{liver} - \left(\frac{C_{lmet}}{K_{p_{liver}} \times \frac{f_{ub}}{f_{ub} + f_{ut}}} \times C_{liver} - \frac{V_{max} \times C_{liv}}{K_m + C_{liv}} \right) \right) / V_{liver} \quad (۴)$$

$$\frac{d}{dt} C_{compartment} = \frac{MDA_{fraction}}{V_{distribution}} \times internal\ dose\ of \quad (۵)$$

$$MDI - K_{elimination} \times C_{compartment}$$

$$\frac{d}{dt}(C_{ven}) = \left(Q_{cardiac} + \frac{(Q_{liv} + Q_{gut} + Q_{spl}) \times C_{liver}}{K_{p_{liver}}} + \sum_{i=1}^n Q_{tissue\ i} \times \frac{C_{tissue\ i}}{K_{p_{tissue\ i}}} \right) / V_{ven} \quad (۶)$$

$$\times \left(\frac{R_{bp}}{f_{ub} / f_{ut}} - Q_{cardiac} \times C_{ven} \right)$$

$$\frac{d}{dt}(C_{art}) = Q_{alv} \times \frac{C_{muc}}{P_m : air} - dt(mucus) - (Q_{alv} \times C_{alv} + Q_{cardiac}(C_{art} - C_{ven})) / V_{art} \quad (۷)$$

در این معادلات، حرف Q نمایانگر جریان خون (لیتر بر ساعت)، V حجم بافت (لیتر)، Kp ضریب تقسیم بافت، C غلظت ماده (میکروگرم بر لیتر)، fub درصد MDI آزاد پلاسما، fut درصد MDI آزاد بافت، Clmet متابولیسم کبدی (لیتر بر ساعت بر کیلوگرم)، Rbp نسبت ماده‌ی آزاد در جریان خون به پلاسما، Vmax و Km به ترتیب نرخ واکنش (میکروگرم بر ساعت) و ثابت میکائلس منتن (میکروگرم بر لیتر) در متابولیسم ماده می‌باشد. نام بافت‌ها به صورت لاتین و سپس از سه حرف اول آن بافت استفاده شده است. بافت‌هایی که اسم آنها ذکر نشده است دارای

1 4, 4'-Methylenedianiline

2 Fraction Unbound Plasma

3 Fraction Unbound Tissue

مطالعه از الگوریتم متروپلیس هستینگ^۳ (۴) برای تخمین توزیع پسین^۴ با استفاده از توزیع پیشین^۵ و داده‌های تجربی استفاده شد. با حل معادلات حاکم بر ساختار مدل (۲)، مقدار ماده در ارگان‌های درگیر در توکسیکوکینتیک آن تعیین گردید.

داده‌های تجربی و ارزیابی ریسک مواجهه

بودنیک و همکاران^۶ (۲۰۱۱) الگوی دفعی متابولیت ایزوسیانات‌های مختلف را با شرایط مواجهه مشخص و کنترل شده در انسان مطالعه نمودند (۶). ابعاد اتاقک مواجهه ۱۰ مترمکعب بود که یک فن هوا را با نرخ اختلاط ۶/۵ مترمکعب در دقیقه خارج می‌کرد. ساخت اتمسفر استاندارد با روش نفوذ گاز-مایع انجام شد. نمونه‌گیری از هوا به فواصل زمانی دو دقیقه یک‌بار صورت گرفت و آنالیز نمونه‌ها به وسیله تکنیک HPLC^۷ انجام شد. افراد به دو گروه از نظر شرایط مواجهه (بالا و پایین) تقسیم شده و به مدت ۲ ساعت با تراکم ۰/۲ تا ۵ ppb مواجهه یافتند. میزان جذب تنفسی از طریق سطوح مواجهه × مدت زمان مواجهه محاسبه گردید. نمونه برداری از ادرار از زمان صفر تا ۲۴ ساعت بعد از شروع مواجهه صورت گرفت و سنجش MDA انجام شد. در مطالعه حاضر از نتایج پایش بیولوژیکی دو نفر از مواجهه‌یافته‌گان که از نظر شرایط مواجهه در سطح پایین و فعالیت تنفسی متوسط داشتند استفاده گردید.

در پژوهش حاضر ارزیابی ریسک مواجهه از طریق داده‌های پایش بیولوژیکی مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، به‌طوری‌که در گام اول، مدل PBTK توسعه داده شده با استفاده از مدل آماری سلسله مراتبی MCMC اجرا شد. خروجی این کار انجام دوزیمتری معکوس^۸ با در نظر گرفتن عدم قطعیت‌ها، تغییرپذیری افراد و تمام داده‌های تجربی موجود بود. به‌طوری‌که میزان مواجهه خارجی فرد (از طریق تنفس) با استفاده از مقادیر دفع ادراری MDA در واحد زمان برآورد شد. در گام دوم، مقایسه مقدار غلظت مواجهه خارجی پیش‌بینی شده با حدود مجاز مواجهه (AOEL) صورت گرفت.

روش دوم شبیه‌سازی مقادیر دفع ادراری MDA در افراد مواجهه یافته جهت مقایسه با مقادیر دفع ادراری در حالت مجاز مواجهه. بر اساس گزارش ارزیابی ریسک اتحادیه

$$QGFR = F-GFR-f \times BW^{0.75} \quad (9)$$

$$Q_{alv} = F-Alv-f \times BW^{0.75} \quad (10)$$

$$Q_{tissue} = F-tissue-f \times F-CO; \quad (11)$$

$$V_{tissue} = V-tissue-f \times BW; \quad (12)$$

$$Cl-met = Cl-metabolis-f \times BW; \quad (13)$$

در روابط فوق، پارامتر جریان برون ده قلبی (Qcardiac)، فشارخون گلوامرولی (QGFR) و جریان خون آلوئولی (Qalv) به صورت وزن بدن به توان ۰/۷۵ در ضریب متناسط آن‌ها (F-GFR-f، F-Alv-f و F-CO-f) محاسبه گردید (معادلات ۸ تا ۱۰). میزان جریان خون دریافتی هر بافت (Qtissue)، معادل ضریب جریان خون دریافتی آن بافت (F-tissue-f) در میزان برون‌ده قلبی (F-CO) افراد بود (معادله ۱۱). پارامترهای حجم بافت‌ها (Vtissue) و مقدار متابولیسم (Cl-met) به صورت خطی با وزن بدن (BW) کالیبره شدند (معادلات ۱۲ و ۱۳). مقادیر ضرایب فیزیولوژیکی مورد استفاده در برگرفته از مطالعه لوترینگر^۱ و همکاران (۲۰۰۳) بود (۲۲).

میزان کلیرانس کبدی (Cl-metabolis-f) تاکنون به‌صورت In-Vitro برای MDI اندازه‌گیری نشده است لذا مقدار این متغیر با استفاده از قواعد بیزین به شرط داده‌های تجربی در طول فرایند شبیه‌سازی برآورد شد. میزان برون‌ده قلبی (CO) در انسان با استفاده از رابطه $(وزن بدن)^{0.75} \times 16$ برای یک فرد با وزن ۷۰ کیلوگرم معادل ۳۹۰ لیتر بر ساعت (L/h) و در رت با استفاده از رابطه $(وزن بدن)^{0.75} \times 12/56$ برای یک رت با وزن متوسط ۰/۲۵ کیلوگرم معادل ۴/۴۵ لیتر بر ساعت بود.

کدنویسی و حل معادلات حاکم

پس از تعیین کینتیک و ساختار مدل، معادلات دیفرانسیلی به‌عنوان نمایانگر ریاضی هر کوپه در مدل PBTK کد نویسی گردید. پس از کدنویسی معادلات، از پکیج MC-Sim بر اساس استنتاج بیزین با استفاده از زنجیره مارکوف مونته کارلو (MCMC) با ۲۰۰۰۰ تکرار (۳)، تحت نرم‌افزار RStudio. 4 برای فراخوانی کدهای نوشته شده و گسسته‌سازی آن‌ها استفاده شد. در این

1 Luttringer

2 Markov Chain Monte Carlo

3 Metropolis-Hastings algorithm

4 Posterior distribution

5 Prior distribution

6 Budnik et al (2011)

7 High-performance liquid chromatography

8 Revers dosimetry

جدول ۱. مقادیر توزیع پیشین و برآورد مقادیر پسین پارامترهای اختصاصی مدل انسانی

| نام پارامتر (اختصار) | واحد | توزیع پیشین | توزیع پسین | |
|-----------------------------------|--------|-------------|------------|-------|
| | | | میانگین | SD |
| وزن بدن (BW) | Kg | ۵۰ - ۸۰ | ۷۰/۰۳ | ۵/۶۶ |
| درصد MDI آزاد پلاسما (fub) | | ۰ - ۰/۲ | ۰/۱۰۰ | ۰/۱۹۰ |
| ضریب دفع MDA | ۱/h | ۰-۱ | ۰/۵۳۸ | ۰/۹۴۰ |
| نسبت MDI خون به پلاسما (Rbp) | | | ۰/۴۳۹ | ۰/۹۱۵ |
| درصد نشست ذرات MDI در دستگاه تنفس | | ۰-۰/۲ | ۰/۰۷۹ | ۰/۱۰۶ |
| حداکثر سرعت متابولیسم (Vmax-c) | mg/h | ۰-۱ | ۰/۵۳۵ | ۰/۹۶۰ |
| ثابت متابولیسم (Km) | - | ۰-۱ | ۱ | - |
| ضریب جذب گوارشی | ۱/h | ۰-۱ | ۰/۴۹۸ | ۰/۹۴۸ |
| متابولیسم کبدی (C-metabolism-c) | L/h/kg | ۰-۱ | ۰/۲۲۰ | ۰/۶۰۰ |
| ضریب متابولیسم MDI به MDA | % | ۰-۱ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۳ |
| ضریب نفوذ هوا:خون (P-A:B) | - | ۰-۱ | ۰/۷۱۹ | ۰/۹۷۶ |

در این رابطه $P(X)$ توزیع احتمال دانش موجود (پیشین) درباره مقادیر پارامترها (X) می‌باشد، بنابراین $P(X)$ در این رابطه توزیع احتمال پیشین است. M به اطلاعات تجربی، مثل نتایج پایش بیولوژیکی (HBM^3) اشاره دارد و $P(M|X)$ یک تابع احتمال است (احتمال M به شرط X). از این رو تابع احتمال، توزیع پارامترهای قبلی مدل را بر اساس داده‌های M تصحیح می‌کند و بدین ترتیب توزیع پسین $P(X|M)$ تدوین می‌گردد، که به شرط داده‌های تجربی حاصل شده است.

آنالیز حساسیت^۴، به روش تحلیلی و آنالیز عدم قطعیت^۵ و تغییرپذیری افراد به تفکیک وزن بدن، برون‌ده قلبی، خون دریافتی بافت و حجم بافت انجام شد. هم‌چنین مقایسه نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل با داده‌های تجربی صورت گرفت.

یافته‌ها

برآورد پارامترهای مجهول مدل PBTK انسانی به صورت آماره‌های میانگین، انحراف معیار و صدک ۹۵ با استفاده از نتایج MCMC هم‌گرا شده ($\hat{r} < 1/83$) برای پارامترهای اختصاصی انسان به شرط داده‌های تجربی، در جدول ۱ آورده شده است.

مقایسه نتایج پیش‌بینی شده با داده‌های تجربی در نمودار ۱ نمایش داده شده است. مدل انسانی PBTK توانسته است الگو و مقدار دفع ادراری 4، MDA-4 در واحد زمان در سطح اطمینان ۹۵٪ را نزدیک به مقادیر تجربی برآورد نماید. مقدار دفع حدوداً ۱۵ ساعت بعد از

اروپا جهت تعیین مشخصات ریسک مواجهه با MDI، بروز علائم تنفسی مزمن و ایجاد تومور در سیستم تنفسی در اثر مواجهه با دوزهای بالاتر از 0.2 mg/m^3 می‌باشد. به بیان دیگر مقدار سطح بدون مشاهده اثر (NOAEL) به عنوان معیاری برای تعیین مشخصات ریسک مواجهه با MDI در بروز اختلالات تنفسی مزمن معادل 0.2 است (۱۷).

کالیبراسیون و اعتبار سنجی مدل

تحلیل آماری بیزین جهت کالیبره کردن مدل PBTK و اطمینان از کفایت مقادیر پارامترها از طریق مقایسه مقادیر پیش‌بینی شده و آنچه به صورت تجربی در مطالعات مختلف گزارش شده است انجام شد. الگوریتم مورد استفاده در این مطالعه مبتنی بر زنجیره مارکوف مونت کارلو است (MCMC) که ضمن نمونه‌گیری‌های مکرر توزیع احتمالی نمونه‌ها را استخراج می‌کند (۲۳). لذا در این مطالعه به کمک تکنیک MCMC سعی در برآورد مقادیر بهینه پارامترها (پسین) به شرط داده‌های تجربی از مقادیر توزیع‌های پیشین پارامترها داریم. برای تشخیص هم‌گرایی^۱ در زنجیره مارکوف مونت کارلو برای پارامترها، مقدار فاکتور \hat{r} با استفاده از دیدگاه جلمان-روبین^۲ محاسبه شد (۵). نهایتاً پس از وقوع هم‌گرایی، مقادیر پسین پارامترها از زنجیره کانورج شده، برای انجام شبیه‌سازی و مقایسه مقادیر پیش‌بینی شده استفاده شد. تئوری بیزین در معادله ۱۴ آمده است.

$$P(X|M) \propto P(M|X) \times P(X) \quad (14)$$

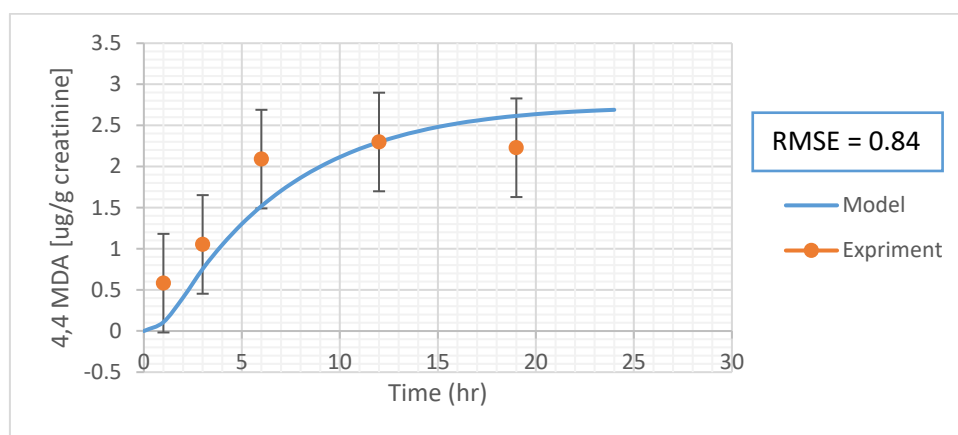
3 Human biomonitoring

4 Sensitivity analysis

5 Uncertainty analysis

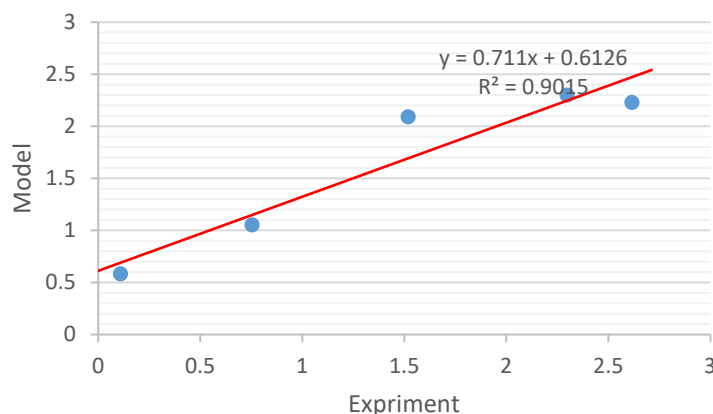
1 Convergence diagnostic

2 Gelman-Rubin



نمودار ۱. مقادیر غلظت نشانگر بیولوژیکی MDI (MDA-4,4) در ادرار افراد مواجهه یافته با استفاده از مدل توسعه یافته و داده‌های تجربی، مقدار خطای مجذور مربعات با اختصار نمودار ۱. RMSE نشان داده شده است.

1 Root Mean Square Error



نمودار ۲. نمودار Q-Q plot مقادیر پیش بینی شده غلظت ادراری نشانگر بیولوژیکی MDI توسط مدل در مقابل داده‌های تجربی

NOAEL (NOAEL = 0.2 ug/l) را تجربه نموده بودند. به نحوی در شخص A میزان غلظت مواجهه (انحراف معیار)، (۰/۸۵۶) / ۵۸ و در شخص B میزان غلظت مواجهه (انحراف معیار)، (۰/۷۰۵) / ۱۰۰۵ ug/l بوده است. غلظت ادراری 4-MDA، 4 در شرایط مجاز مواجهه (AOEL)، و شرایط مواجهه برآورد شده برای اشخاص A و B در نمودار ۴ نمایش داده شده است.

منظور از آنالیز حساسیت، محاسبه درصد تغییر نتایج و خروجی‌های مدل به ازای ۱٪ تغییر در مقادیر پارامترهای ورودی مدل است که در نمودار ۵ برای تعدادی از پارامترهای مهم مدل نمایش داده شده است. برای تعدادی از پارامترهای فیزیولوژیکی (از جمله جریان خون بافت‌ها)، پارامترهای بیوشیمیایی از قبیل نسبت آلبومین بافت به پلاسما (Ratp_tis) و نسبت MDI خون به پلاسما

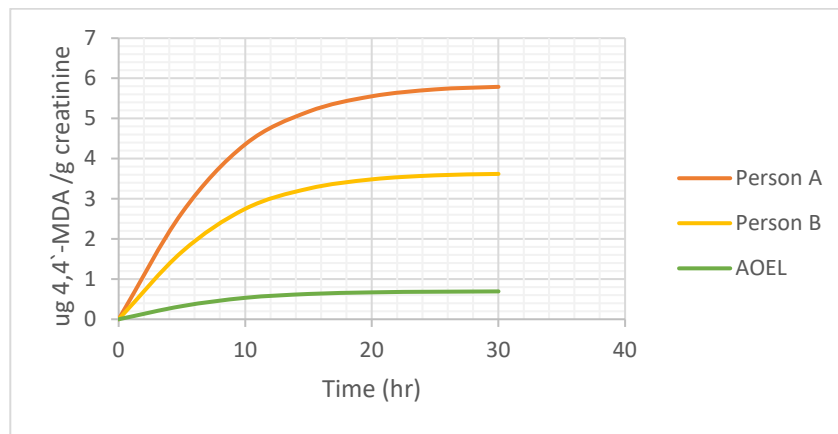
شروع مواجهه به بیشترین مقدار خود رسیده است. در نمودار ۲ نمودار Q-Q plot به منظور مقایسه نتایج شبیه‌سازی و آنچه که به صورت تجربی در مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۱) حاصل شده است را نمایش می‌دهد. تطابق ۹۰ درصدی میان داده‌های تجربی و شبیه‌سازی شده رخ داده است.

برآورد میزان مواجهه فردی، دو نفر از مشارکت‌کنندگان مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۰)، که با غلظت (انحراف معیار) (۱/۲) / ۳ به صورت محیطی (نه به صورت فردی) مواجهه داشتند در پژوهش حاضر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج دوزیمتری معکوس با استفاده از مقادیر دفع ادراری 4-MDA، 4 توسط مدل PBTK توسعه داده شده، در نمودار ۳ آورده شده است.

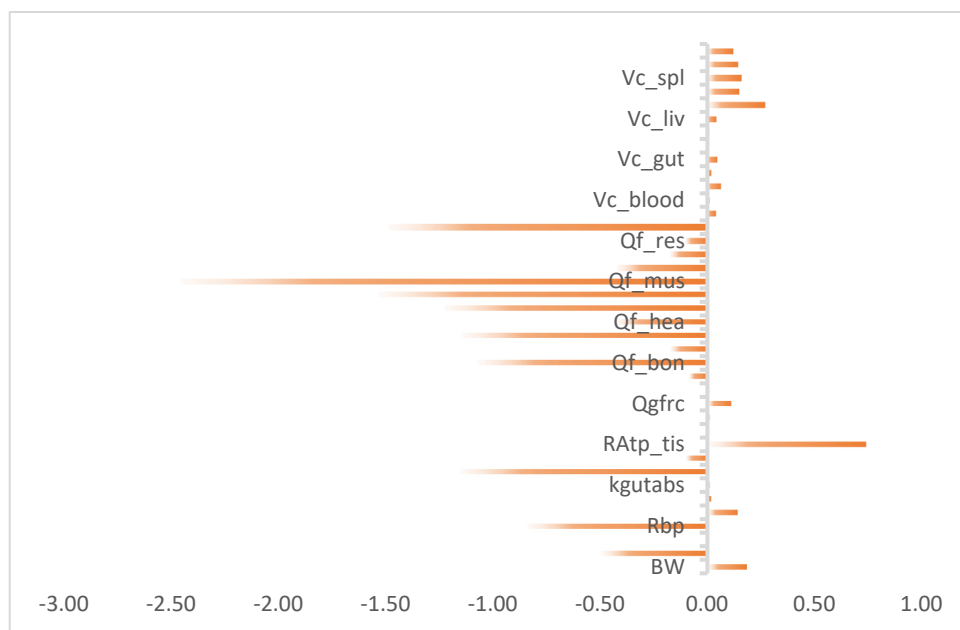
هر دو نفر مواجهه سیستمیک بیشتری نسبت به مقدار



نمودار ۳. ارزیابی شرایط مواجهه با استفاده از دوزیمتری معکوس برای دو نفر از مشارکت‌کنندگان مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از مقادیر دفع ادراری



نمودار ۴. غلظت ادراری MDA در شرایط مجاز مواجهه (AOEL) $NOAEL = 0.2 \text{ mg/m}^3$ ، و شرایط مواجهه برآورد شده برای اشخاص A و B



نمودار ۵. مقادیر نسبت حساسیت مدل برای تعدادی از پارامترهای بیوشیمیایی و پارامترهای فیزیولوژیکی مدل PBTK

| | | تغییر پذیری / عدم قطعیت | | |
|--------|-------|-------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| | | بالا | متوسط | پایین |
| حساسیت | بالا | | ضریب تبدیل MDI به MDA | خصوصیات فیزیکی-شیمیایی و بیوشمی |
| | متوسط | | | وزن بدن، خصوصیات فیزیولوژیکی |
| | پایین | | ضریب تقسیم بافتها | |

قابلیت اعتماد

بالا
متوسط
پایین

شکل ۲. نتایج ماتریس قابلیت اعتماد مدل PBTK بر اساس حساسیت و عدم قطعیت پارامترهای مورد استفاده

خون، سرعت متابولیسم، مقدار متابولیسم کبدی، درصد هیدرولیز MDI به MDA و میزان جذب گوارشی به دلیل وجود عدم قطعیت فراوان، مقدار صفر تا یک به صورت توزیع یکنواخت در نظر گرفته شد تا MCMC بتواند در خصوص مقدار آن‌ها به شرط داده‌های تجربی قضاوت کند و محتمل‌ترین مقدار را با در نظر گرفتن تمام داده‌های تجربی استفاده شده در مدل آماری سلسله مراتبی برآورد نماید.

توزیع پارامتر میزان نشست ذرات MDI در مجاری تنفسی، به صورت یک پارامتر دارای عدم قطعیت بالا (دارای توزیع یکنواخت صفر تا ۱) در نظر گرفته شد. مقدار میانگین (انحراف معیار) برآورده شده این پارامتر (۰/۱) ۰/۲۳ درصد حاصل شد. این یافته نزدیک به مطالعه روزل^۲ و همکاران (۱۹۹۴) و هم‌چنین فرون^۳ و همکاران (۲۰۰۱) بود که میزان نشست کلی ذرات MDI را ۰/۲ گزارش نمودند (۲۴، ۲۵).

گلد‌هیل و همکاران^۴ (۲۰۰۵) هیچ‌گونه MDI آزادی را در صفرا و ادرار رت‌های مواجهه یافته پیدا نکردند و گزارش نمودند که واکنش پذیری MDI در حدی است که اجازه نمی‌دهد به صورت مستقیم وارد جریان سیستمیک گردد (۲۶). بنابراین؛ گلوکوتایون‌ها مسئول انتقال MDI از محل جذب به محل واکنش هستند (۲۷). یکی از واکنش‌های MDI در محیط‌های بیولوژیکی هیدرولیز MDI و تشکیل متیلن دی آنیلین (۴، ۴-MDA) است (۲۷، ۲۸). تا به امروز ۴، ۴-MDA یکی از حساس‌ترین متابولیت‌های ادراری برای MDI می‌باشد که می‌توان از آن برای نشانگر بیولوژیکی MDI و تعیین سطح مواجهه افراد در طول

(Rbp) و هم‌چنین پارامترهای فیزیکی-شیمیایی شامل ضریب اکتانول: آب (P o: w) مقدار ضریب حساسیت بالا بدست آمد ($SC^1 > 0/5$). پارامترهای ضریب نشست ذرات MDI در مجاری تنفسی (Deposition) مقدار این ضریب متوسط ($0/5 < SC < 0/2$) بود. سایر پارامترهای مقدار ضریب حساسیت پایین به خود اختصاص دادند.

ماتریسی که WHO برای ارزیابی قابلیت اعتماد مدل‌های PBTK معرفی نموده است در شکل ۲ آورده شده است. با توجه به نتایج آنالیز حساسیت در نمودار ۵ و هم‌چنین نتایج عدم قطعیت تمام پارامترهای مورد استفاده در مدل، اکثر پارامترها در ناحیه قابلیت اعتماد بالا و متوسط قرار گرفتند.

بحث

توسعه یک مدل PBTK نیازمند داده‌های توکسیکوکینتیکی بسیاری است. در خصوص MDI تعدادی از پارامترهای بیوشیمیایی از جمله میزان متابولیسم کبدی و درصد MDI آزاد پلاسما به صورت In-Vitro اندازه‌گیری نشده است. لذا قبل از توسعه مدل، باید مقادیر پارامترهای مجهول به روش مناسب برآورد شود. در پژوهش حاضر با استفاده از اصول بیزین در چارچوب تکنیک MCMC، در راستای دستیابی به مقادیر منطقی قدم برداشته شد. در این تکنیک با در نظر گرفتن میزان عدم قطعیت در خصوص پارامتر مدنظر، یک توزیع منطقی برای آن پارامتر در نظر گرفته شد (توزیع پیشین). سپس به MCMC اجازه داده شد تا بهترین مقدار را به شرط داده‌های تجربی از مقادیر توزیع پیشین انتخاب کند (۳، ۲۳).

در این مطالعه وضعیت توزیع پیشین پارامترهای میزان MDI خون به پلاسما، درصد نفوذ MDI از هوا به

2 Reuzel et al (1994)

3 Feron et al (2001)

4 Gledhill et al. (2005)

1 Sensitivity Coefficient

یک روش حساس و قابل اعتماد است. بر اساس مطالعات انجام شده پایش بیولوژیکی متیل دی ایزوسیانات، بر اساس دی‌آمین در ادرار هیدرولیز شده افراد مواجهه یافته می‌تواند یک روش مناسب، قابل قبول و حساس برای ارزیابی مواجهه باشد (۲۸، ۲۹، ۳۱). مطالعات اخیر شواهدی فراهم نموده‌اند که بیانگر متفاوت بودن الگوی دفعی ایزوسیانات‌ها در واحد زمان می‌باشد، به طوری که زمان ایجاد پیک دفعی در ایزوسیانات‌های آلیفاتیک با آروماتیک متفاوت است. در نوع آروماتیک از جمله MDI پیک دفعی مشخصی وجود نداشته (۶، ۳۱) و برخلاف سایر ایزوسیانات‌ها ممکن است دفع نشانگر بیولوژیکی تا ساعت‌ها (۳۲) حتی روزها (۲۷) پس از ۲۴ ساعت اول بعد از یک مواجهه کوتاه ادامه یابد. در این مطالعه مقدار دفع MDA حدوداً در ۱۵ ساعت بعد از مواجهه به حداکثر مقدار رسیده و پس از آن الگوی دفعی همچنان ادامه دارد. این یافته مطابق با یافته‌های پایش بیولوژیکی در مواجهات اخیر افراد در مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۱) بود. نمودار ۲ به مقایسه تحلیلی مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و داده‌های تجربی موجود می‌باشد که مطابقت قابل قبولی داشتند. به بیان بهتر توان پیش‌گویی مدل براساس داده‌های تجربی مورد استفاده حدوداً ۹۰ درصد می‌باشد. رابرت و همکاران (۲۰۰۷) پیک دفعی MDA در کارگران مواجهه یافته با MDI را حدوداً دو ساعت بعد از مواجهه یافتند و بیان کردند مقدار غلظت دفع اداری متابولیت کاملاً به مواجهات پیشین و میزان فعالیت فرد وابسته می‌باشد (۳۲).

نتایج ارزیابی ریسک مواجهه با MDI در مطالعه حاضر برای دو نفر از افراد مواجهه یافته با سناریو مواجهه مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۰)، گویای بالا بودن میزان مواجهه شخص A به مقدار ۷ برابر و شخص B، ۵ برابر بیش از حد مجاز مواجهه اپراتور (AOEL) بوده است. لذا هر دو نفر در معرض ریسک سیستمیک بوده‌اند.

در صورت فقدان مدل‌های PBTK یا سایر اطلاعات توکسیکوکینتیکی ماده، غلظت داخلی در ارگان هدف، معادل میزان مواجهه روزانه در واحد وزن بدن فرد فرض می‌شود. به عبارت بهتر فاکتور جذب کینتیک معادل ۱ در نظر گرفته می‌شود. در نظر گرفتن فاکتور ۱ برای مواجهات مزمن و حاد و همچنین مواد شیمیایی با خصوصیات و رفتارهای مختلف در ارگان‌های مختلف بدن دقت ارزیابی‌های ریسک مواجهه را پایین می‌آورد (۳۳). لذا اعمال پارامترهای فیزیولوژیکی، بیوشیمی، فیزیوشیمیایی در محاسبه دوز داخلی ارگان‌های مختلف

شیفت کاری استفاده کرد (۶، ۲۸-۳۰). در این پژوهش به دلیل فقدان شواهد کافی در خصوص پارامترهای دخیل در مکانیزم شکل‌گیری MDA، از یک مدل تک کوپه‌ای که بخشی از دوز داخلی MDI را دریافت نمود و هیدرولیز می‌نماید جهت برآورد میزان دفع 4-MDA استفاده شد.

یکی از پارامترهای مورد استفاده در مدل‌سازی PBTK، پارامتر متابولیسم MDI به MDA، به عنوان نشانگر بیولوژیکی MDI در مواجهات انسانی بود. مقدار این پارامتر در مطالعات توکسیکوکینتیکی نامعلوم گزارش شده است. با توجه به اطلاعات اندکی که در مورد مکانیزم شکل‌گیری MDA به صورت In-vivo وجود دارد و تاکنون سهم بافت‌های مختلف بدن در هیدرولیز MDI (و ایجاد MDA) مشخص نشده است. لذا مدل توکسیکوکینتیکی برای متابولیت MDI (یعنی MDA)، به صورت تک کوپه‌ای نوشته شد. پارامتر درصد متابولیسم MDI به MDA به صورت یک پارامتر دارای عدم قطعیت بالا استفاده شد (توزیع انتخابی از صفر تا یک) و به MCMC اجازه داده شد تا مقدار آن را با در نظر گرفتن داده‌های تجربی بیومانی‌تورینگ MDA در ادرار و داده‌های توکسیکوکینتیکی حیوانی برآورد نماید.

در این مطالعه با انجام دوزیمتری معکوس مقدار آن به شرط داده‌های پایش بیولوژیکی مطالعه بودنیک و همکاران (۲۰۱۰) با استفاده از استنتاج بیزی معادل ۰/۰۰۰۴۸ درصد دوز سیستمیک برآورد گردید. دلیل کوچک بودن مقدار این پارامتر را می‌توان به فراوان بودن تعداد متابولیت‌های MDI از جمله N، N دی استیل ۴و۴ دی‌آمینو بنزهیدرول، N، N دی استیل ۴و۴ دی‌آمینوفنیل متان و N استیل - ۴و۴ متیل دی‌آنیلین؛ همچنین تمایل بالای آن برای باند شدن با اجزای خونی از جمله همگلوبین، آلبومین، انواع پروتئین‌ها مثل باند شدن با گلوکوتائون دانست (۲۶)؛ که بر اساس قوانین تعادل جرم سهم تبدیل MDI به MDA ناچیز خواهد بود.

تغییرپذیری افراد در جمعیت یکی از موضوعات مهم در برآورد دوز داخلی است. در این پژوهش، مقادیر پارامترهای فیزیولوژیکی بدن از قبیل وزن بدن، جریان خون دریافتی و حجم بافت‌های بدن در یک بازه منطقی، با انحراف معیار ۰/۲ که گویای تغییرات افراد در جمعیت بود وارد مدل شدند و خروجی‌های مدل در سطح اطمینان ۹۵ درصد تولید شد.

اجرای موثر روش‌های پیشگیری و ارزیابی ریسک در مواجهات شغلی افراد با آلاینده‌های هوا برد در گرو اطلاع از

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران با شناسه اخلاق IR. TUMS. SPH. REC. 1399. 221 می باشد (شماره طرح تحقیقاتی: ۹۹-۳-۵۰۵۷۸-۹۹). لذا نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی و پشتیبانی معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت اجرای این طرح نهایت قدردانی را دارند.

REFERENCES

1. Linakis MW, Sayre RR, Pearce RG, Sfeir MA, Sipes NS, Pangburn HA, et al. Development and evaluation of a high throughput inhalation model for organic chemicals. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. 2020;30(5):866-77.
2. Pearce RG, Setzer RW, Strobe CL, Sipes NS, Wambaugh JF. *httk: R Package for High-Throughput Toxicokinetics*. 2017. 2017;79(4):26.
3. Bois FY. GNU MCSim: Bayesian statistical inference for SBML-coded systems biology models. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1453-4.
4. Hastings WK. Monte Carlo sampling methods using Markov chains and their applications. *Biometrika*. 1970;57(1):97-109.
5. Gelman A, Rubin DB. Inference from iterative simulation using multiple sequences. *Statistical science*. 1992;7(4):457-72.
6. Budnik LT, Nowak D, Merget R, Lemiere C, Baur X. Elimination kinetics of diisocyanates after specific inhalative challenges in humans: mass spectrometry analysis, as a basis for biomonitoring strategies. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2011;6(1):1-8.
7. Horsfield K, Dart G, Olson DE, Filley GF, Cumming G. Models of the human bronchial tree. *Journal of applied physiology*. 1971;31(2):207-17.
8. Pauluhn J. Interrelating the acute and chronic mode of action of inhaled methylenediphenyl diisocyanate (MDI) in rats assisted by computational toxicology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2011;61(3):351-64.
9. Soltani Gerdafamarzi R. Evaluation of Exposure Methyl diisocyanate and Review of the Respiratory Capacity of the Workers Employed in the Foam Manufacturing Industry. *Occupational Medicine Quarterly Journal*. 2016;7(4):58-66.
10. Mortasavi S, Jabbari Gharabag M, Asilian H, Khavanin A, Solimani A. Evaluation of 4, 4-methylene diphenyl diisocyanate effects on foam producing workers of car manufacture. *Journal of Inflammatory Disease*. 2005;9(1):43-50.

جهت ارزیابی ریسک مواجهه با مواد شیمیایی امری ضروری است.

نتیجه گیری

در این مطالعه، یک مدل PBTK برای MDI توسعه داده شد و سپس به کمک داده‌های تجربی اعتبارسنجی شد تا به کمک آن بتوان فرایندهای انتقال و جذب این ماده از سیستم تنفسی به گردش سیستمیک و سپس توزیع، متابولیسم و دفع آن را برآورد نمود. بر اساس نتایج می‌توان اظهار داشت مدل PBTK توانسته است غلظت MDI در پلاسما و هم‌چنین غلظت MDA به عنوان نشانگر زیستی MDI در ادرار را نزدیک به مقادیر تجربی برآورد نماید. هم‌چنین با انجام دوزیمتری معکوس در مدل PBTK، می‌توان سطح مواجهه را از طریق مقادیر دفع ادراری فهمید و به ریسک مواجهات شغلی، پتانسیل مواجهه و ایجاد آسیب پی برد. با توجه به خصوصیتی از قبیل فرار بودن، واکنش‌پذیر بودن، محرک بودن برای ایزوسیانات‌ها در مجاری تنفسی، این موضوع بسیار حائز اهمیت است که مواجهه با این مواد باید به کمترین مقدار ممکن برسد تا از ایجاد آسیب جلوگیری شود. پی بردن به ریسک مواجهه صرفاً با سنجش تراکم آلاینده در هوا کافی نبوده و نیازمند دخالت پارامترهای موثر در جذب، ذخیره، متابولیسم، توزیع و دفع ماده می‌باشد لذا استفاده از یک مدل توکسیکوکینتیکی که پارامترهای ضروری برای پیش‌بینی دوز داخلی را پوشش می‌دهد می‌تواند در ارزیابی سطح مواجهه افراد کمک‌کننده باشد. تکنیک آماری مورد استفاده در پژوهش حاضر، یک تکنیک قوی برای برآورد و اعمال مقادیر بهینه پارامترهای توکسیکوکینتیکی با در نظر گرفتن داده‌های تجربی، تغییرپذیری افراد در جمعیت و عدم قطعیت‌های موجود بود که می‌توان از آن برای اجرای مدل استفاده کرد.

محدودیت‌ها و پیشنهادات

۱) یکی از محدودیت‌های این مطالعه، کم بودن تعداد مطالعات توکسیکوکینتیکی از قبیل داده‌های مربوط به متابولیسم MDI و الگوهای دفعی و پایش بیولوژیکی فردی در انسان بود که برای مقابله با آن‌ها سعی شد فرایند کالیبراسیون را با گسترده در نظر گرفتن بازه عدم قطعیت پارامترها اعمال نمود.

۲) مدل توسعه یافته در این مطالعه فاقد مسیر مواجهه پوستی بود لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، جذب و تحریک پوستی ایزوسیانات‌ها در مدل‌های PBTK نیز مورد بررسی و مطالعه قرار گیرد.

11. Hamada H, Liljelind I, Bruze M, Engfeldt M, Isaksson M, Jönsson B, et al. Assessment of dermal uptake of diphenylmethane-4, 4'-diisocyanate using tape stripping and biological monitoring. *European Journal of Dermatology*. 2018;28(2):143-8.
12. Tan Y-M, Conolly R, Chang DT, Tornero-Velez R, Goldsmith MR, Peterson SD, et al. Computational toxicology: application in environmental chemicals. *Computational Toxicology*: Springer; 2012. p. 9-19.
13. Sager JE, Yu J, Ragueneau-Majlessi I, Isoherranen N. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulation approaches: a systematic review of published models, applications, and model verification. *Drug Metabolism and Disposition*. 2015;43(11):1823-37.
14. Krishnan K, Peyret T. Physiologically based toxicokinetic (PBTk) modeling in ecotoxicology. *Ecotoxicology modeling*: Springer; 2009. p. 145-75.
15. Cooper AB, Aggarwal M, Bartels MJ, Morriss A, Terry C, Lord GA, et al. PBTk model for assessment of operator exposure to haloxypop using human biomonitoring and toxicokinetic data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2019;102:1-12.
16. Organization WH. Characterization and application of physiologically based pharmacokinetic models in risk assessment. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety, Geneva, Switzerland. 2010.
17. Schmitt W. General approach for the calculation of tissue to plasma partition coefficients. *Toxicology in Vitro*. 2008;22(2):457-67.
18. Poulin P, Theil FP. A priori prediction of tissue: plasma partition coefficients of drugs to facilitate the use of physiologically-based pharmacokinetic models in drug discovery. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2000;89(1):16-35.
19. Poulin P, Theil FP. Prediction of Pharmacokinetics Prior to In Vivo Studies. 1. Mechanism-Based Prediction of Volume of Distribution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2002;91(1):129-56.
20. EPA. Distributed Structure-Searchable Toxicity (DSSTox) Database [Available from: <https://www.epa.gov/chemical-research/distributed-structure-searchable-toxicity-dsstoxt-database>].
21. Watanabe R, Esaki T, Kawashima H, Natsume-Kitatani Y, Nagao C, Ohashi R, et al. Predicting fraction unbound in human plasma from chemical structure: improved accuracy in the low value ranges. *Molecular pharmaceutics*. 2018;15(11):5302-11.
22. Luttringer O, Theil FP, Poulin P, Schmitt-Hoffmann AH, Guentert TW, Lavé T. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of disposition of epiroprim in humans. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2003;92(10):1990-2007.
23. Bois FY. Bayesian inference. *Computational toxicology*. 2013:597-636.
24. Feron V, Kittel B, Kuper C, Ernst H, Rittinghausen S, Muhle H, et al. Chronic pulmonary effects of respirable methylene diphenyl diisocyanate (MDI) aerosol in rats: combination of findings from two bioassays. *Archives of toxicology*. 2001;75(3):159-75.
25. Reuzel P, Arts J, Lomax L, Kuijpers M, Kuper C, Gembardt C, et al. Chronic inhalation toxicity and carcinogenicity study of respirable polymeric methylene diphenyl diisocyanate (polymeric MDI) aerosol in rats. *Toxicological Sciences*. 1994;22(2):195-210.
26. Gledhill A, Wake A, Hext P, Leibold E, Shiotsuka R. Absorption, distribution, metabolism and excretion of an inhalation dose of [¹⁴C] 4, 4'-methylenediphenyl diisocyanate in the male rat. *Xenobiotica*. 2005;35(3):273-92.
27. Sabbioni G, Dongari N, Kumar A. Determination of a new biomarker in subjects exposed to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate. *Biomarkers*. 2010;15(6):508-15.
28. Sabbioni G, Wesp H, Lewalter J, Rumler R. Determination of isocyanate biomarkers in construction site workers. *Biomarkers*. 2007;12(5):468-83.
29. Bello A, Xue Y, Gore R, Woskie S, Bello D. Assessment and control of exposures to polymeric methylene diphenyl diisocyanate (pMDI) in spray polyurethane foam applicators. *International journal of hygiene and environmental health*. 2019;222(5):804-15.
30. CREELY KS, Hughson GW, Cocker J, Jones K. Assessing isocyanate exposures in polyurethane industry sectors using biological and air monitoring methods. *The Annals of occupational hygiene*. 2006;50(6):609-21.
31. Kääriä K, Hirvonen A, Norppa H, Piirilä P, Vainio H, Rosenberg C. Exposure to 4, 4'-methylenediphenyl diisocyanate (MDI) during moulding of rigid polyurethane foam: determination of airborne MDI and urinary 4, 4'-methylenedianiline (MDA). *Analyst*. 2001;126(4):476-9.
32. Robert A, Ducos P, Francin J, Marsan P. Biological monitoring of workers exposed to 4, 4'-methylenediphenyl diisocyanate (MDI) in 19 French polyurethane industries. *International archives of occupational and environmental health*. 2007;80(5):412-22.
33. Tebby C, van der Voet H, de Sousa G, Rorije E, Kumar V, de Boer W, et al. A generic PBTK model implemented in the MCRA platform: Predictive performance and uses in risk assessment of chemicals. *Food and Chemical Toxicology*. 2020;142:111440.