

DEVELOPPEMENT D'UN MODELE ANATOMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE RESPIRATOIRE DE PRIMATE NON HUMAIN POUR ETUDIER LE DEPOT DES AEROSOLS

J- R. Creppy^{*1,2}, M. Cabrera², J. Pardessus², G. Roseau³, B. Delache¹, J. Montharu³, L. Garanger³, F. Ducancel¹, L. Vecellio³

¹ Center for Immunology of Viral, Autoimmune, Hematological and Bacterial Diseases (IMVA-HB/IDMIT) Inserm, CEA, Université Paris-Saclay, 92265, Fontenay-aux-Roses, France

² Centre d'Etude des Pathologies Respiratoires, INSERM U1100, Université de Tours, 37000, Tours France

³ Plateforme Scientifique et Technique Animaleries (PST-A), Université de Tours, 37000 Tours, France

*justinac@hotmail.fr

RESUME

Les études précliniques utilisant des modèles animaux sont essentielles et dans certains cas réglementaires pour les aérosols inhalés. Le macaque a été identifié comme un modèle animal pertinent mais difficile d'accès. Dans le contexte de la réduction des expérimentations animales, nous avons développé un modèle respiratoire imprimé en 3D. Une étude comparative entre le modèle imprimé et le macaque a été réalisée avec trois tailles de particules (10µm, 1.4µm et 0.4µm) par imagerie scintigraphique. Le modèle imprimé montrait une relative bonne prédiction de la totalité de l'aérosol déposé mais surestimait le dépôt pulmonaire.

ABSTRACT

Pre-clinical studies using animal models are essential and in some cases regulatory for inhaled aerosols. The macaque has been identified as a relevant but difficult to access animal model. In this context of reduction of animal experiments, we have developed a 3D printed respiratory model. A comparative study between the printed model and the macaque was carried out with three particle sizes (10µm, 1.4µm and 0.4µm) using scintigraphy imaging. The printed model showed a relatively good prediction of the total aerosol deposited but overestimated the pulmonary deposition

MOTS-CLES: dépôt d'aérosols, modèles alternatifs, in vitro 3D cast, macaques / **KEYWORDS** : Aerosol deposition, Alternative model, 3D Cast models, macaques

INTRODUCTION

Les voies respiratoires peuvent être exposées à divers types de particules aéroportées. Il apparaît donc nécessaire d'utiliser des méthodes alternatives afin de réduire le nombre d'expérimentations animales. L'objectif de ce projet consiste en le développement technologique d'un modèle de méthode alternative à l'expérimentation animale. Il s'inscrit pleinement dans le cadre de la règle des 3Rs (Réduire, Raffiner, Remplacer). Le projet consistait en le développement d'un modèle anatomique respiratoire de macaque (Dahlmann & Sewald, 2017), (Plopper & Harkema, 2005) et en l'évaluation de sa pertinence pour la prédiction du dépôt des aérosols.

MATERIELS ET METHODES

A partir de scanners de macaque *fascicularis* de taille moyenne, nous avons réalisé une impression 3D par la technique de stéréolithographie (Matérialise®, Belgique). Un modèle en plastique de tête de macaque jusqu'aux premières divisions bronchiques de l'animal a été imprimé (Figure 1). Des filtres étaient connectés à la sortie de chacune des divisions bronchiques eux-mêmes connectés à une pompe respiratoire mimant l'inspiration et l'expiration de l'animale selon des cycles physiologiques. La pertinence du modèle 3D en terme de dépôt d'aérosols dans les voies respiratoires était réalisée au moyen d'une comparaison *in vivo* (3 femelles macaques) et *in vitro* (modèle imprimé) par imagerie scintigraphique.

Les aérosols ont été générés à l'aide de trois nébuliseurs pneumatiques produisant trois tailles de particules différentes afin de cibler et d'étudier trois zones de dépôts différentes dans les voies respiratoires (Dabisch et al., 2017) et permettant de mimer trois différentes classes de micro-organismes: le premier nébuliseur produisant une taille de 10 μ m en terme de diamètre aérodynamique médian (MMAD) et mimant des pollens, le second nébuliseur avec 1,4 μ m de MMAD et mimant des bactéries et le troisième avec un MMAD de 0,4 μ m mimant des virus.

Les nébuliseurs étaient chargés avec une solution saline couplée à un traceur radiopharmaceutique (DTPA-Tc99m). Les nébuliseurs étaient alimentés avec un débit d'air de 8L/min et l'aérosol était administré durant 10 min à l'aide d'un masque facial. Le dépôt d'aérosol dans les voies respiratoires était imagé durant 5 min puis les images traitées et quantifiées en tenant compte de la décroissance radioactive et des atténuations tissulaires.

Les mêmes conditions d'aérosolisation et d'analyse du dépôt ont été appliquées *in vivo* et *in vitro*.

RESULTATS



Figure 1. Photo du modèle respiratoire de macaque imprimé et développé à partir du scanner de macaque

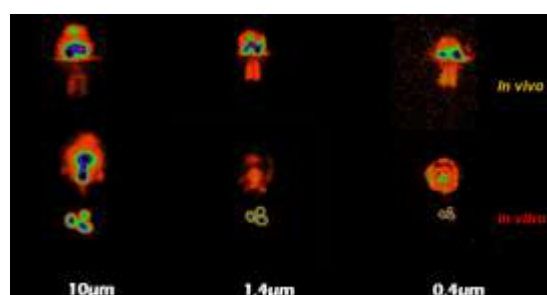


Figure 2. Images scintigraphiques du dépôt d'aérosols dans les voies respiratoires du macaque (*in vivo*) et du modèle imprimé (*in vitro*)

Tableau 1. Graphique représentant la quantité d'aérosol déposée dans les voies respiratoires totale pour le macaque (*in vivo*) et le modèle imprimé (*in vitro*) en fonction des trois tailles d'aérosols polydispersés testées et dans les mêmes conditions expérimentations *in vivo* vs *in vitro*

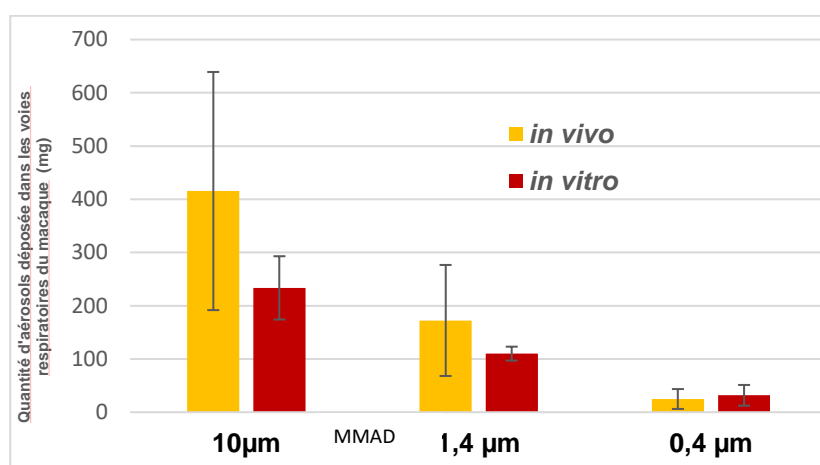
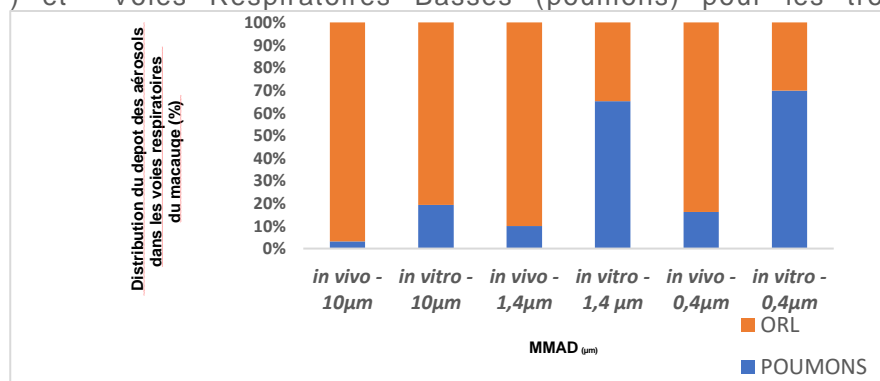


Tableau 2. Graphique comparant la répartition du dépôt des voies Respiratoires Hautes (ORL) et Voies Respiratoires Basses (poumons) pour les trois tailles d'aérosols testées



Les résultats montraient une relative bonne prédiction du modèle imprimé pour prédire le dépôt dans l'ensemble des voies respiratoires. Néanmoins le modèle imprimé surestimait le dépôt dans les poumons et sous estimait le dépôt dans les voies aériennes supérieures.

Ces différences peuvent être expliquées par la non présence de mucus dans le modèle anatomique réduisant ainsi l'efficacité de dépôt dans les voies aériennes supérieures. De plus, l'utilisation de filtres dans le modèle anatomique ne mimait pas totalement l'aérosol exhalé mais représentait davantage l'aérosol pénétrant dans les poumons plutôt que l'aérosol déposé dans les poumons.

CONCLUSION

Un modèle anatomique et physiologique de macaque a été réalisé pour prédire le dépôt des aérosols. Comme tout modèle alternatif, l'extrapolation des résultats au vivant n'est pas aussi simple, en effet ce modèle à la technologie novatrice comporte des limites et des forces qui en font son originalité. D'un point de vue pratique, son utilité est apparue indéniable afin de réaliser les mises au point et des essais préliminaires avant les expérimentations animales.

Le projet a obtenu un financement par l'Agence de l'Innovation Défense (AID) du ministère des Armées (Direction Général des Armées) et le Commissariat d'Energie Atomique (CEA).

Dabisch, P., Xu, Z., Boydston, J., Solomon, J., Bohannon, J., Yeager, J., . . . Seidel, J. (2017). Quantification of regional aerosol deposition patterns as a function of aerodynamic particle size in rhesus macaques using PET/CT imaging. *Inhalation toxicology*, 29(11), 506-515.

Dahlmann, F., & Sewald, K. (2017). Use of nonhuman primates in obstructive lung disease research—is it required? *Primate biology*, 4(1), 131-142.

Plopper, C., & Harkema, J. R. (2005). The respiratory system and its use in research. In *The laboratory primate* (pp. 503-526): Elsevier Ltd.