

Conception assistée par une analyse de sensibilité globale d'une plate-forme dédiée à la recherche en thérapie photodynamique

Title: Designing a research platform in photodynamic therapy assisted by global sensitivity analysis

Simona Dobre¹, Thierry Bastogne¹, Muriel Barberi-Heyob², François Guillemin² et Alain Richard¹

Résumé : Une analyse de sensibilité globale est appliquée à un modèle dynamique de la photocytotoxicité induite par la thérapie photodynamique. L'objectif est de déterminer les variables biologiques suffisamment informatives vis-à-vis de paramètres caractéristiques des agents photoactivables utilisés dans ce traitement. Ces informations aideront au choix des capteurs à utiliser dans la conception d'une plate-forme de recherche sur cette thérapie. Nous avons utilisé une méthode d'analyse de sensibilité fondée sur une analyse fonctionnelle de la variance associée à un échantillonnage de l'espace paramétrique réalisé par une séquence $LP\tau$ de Sobol'. Cette méthode a été implantée numériquement en parallélisant les calculs sur une machine à architecture multi-cœurs. Outre l'amplitude maximale des fonctions de sensibilité, leurs colinéarités sont aussi prises en compte. En conclusion, cette analyse nous a conduit à retenir une architecture capable de mesurer les concentrations intra-tumorales de l'agent photosensibilisant et de l'oxygène. Ces deux mesures permettraient d'estimer trois paramètres photophysiques caractérisant l'efficacité photodynamique de l'agent thérapeutique.

Abstract: A global sensitivity analysis is applied to a dynamic model of the phototoxicity induced by the photodynamic therapy. The objective is to determine which output variables could be sufficiently informative with respect to certain biological parameters characterizing the efficiency of the photosensitizing agents. This information will assist the engineer in designing a research platform devoted to this therapy. The used sensitivity analysis relies on a functional decomposition of the output variance associated with a space-filling design of numerical experiments based on an $LP\tau$ Sobol' sequence. The latter was numerically implemented by parallel computations on a multicore computer. The relevance of a model parameter is assessed by a hierarchical classification of the magnitude of the sensitivity functions, followed by their colinearity analysis. In conclusion, this analysis allowed us to choose an architecture able of measuring intra-tumor concentrations of the photosensitizing agent and oxygen. These two measurements could allow the estimation of three photophysical parameters characterizing the photodynamic efficiency of the therapeutic agent.

Mots-clés : analyse de sensibilité, système dynamique, calcul parallèle, photo-biologie, cancer

Keywords: sensitivity analysis, dynamic systems, parallel computation, photo-biology, cancer

Classification AMS 2000 : , ,

¹ Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), Nancy - Université, CNRS UMR 7039, BP 70239, Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France.

E-mail : Simona.Dobre; Thierry.Bastogne; Alain.Richard@cran.uhp-nancy.fr

² Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN), Nancy - Université, CNRS UMR 7039
Centre Alexis Vautrin, 54511 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex, France.

E-mail : m.barberi@nancy.fnclcc.fr

1. Introduction

La thérapie photodynamique ou PDT (PhotoDynamic Therapy) est une modalité thérapeutique utilisée en cancérologie. Ce mode de traitement repose sur l'action combinée d'un agent photosensibilisant ou photosensibilisateur (PS), de la lumière et de l'oxygène. Les premières applications en cancérologie datent des années 70 (Dougherty aux États-Unis et Hayata au Japon) avec l'hématoporphyrine dérivée. L'agent photosensibilisant est d'abord administré par voie intraveineuse. Après un certain délai, intitulé intervalle drogue-lumière qui dépend de la pharmacocinétique de l'agent photosensibilisant et de la cible visée (effet cellulaire ou vasculaire), on illumine la zone à traiter. Sous l'effet du rayon lumineux, ces molécules photoactivables, non toxiques à l'obscurité, génèrent des espèces réactives de l'oxygène capables de provoquer des altérations létales en réagissant avec les composants biologiques situés dans l'environnement immédiat du photosensibilisateur. Un des avantages de cette thérapie est de réduire les dommages collatéraux sur les tissus normaux grâce d'une part, à une accumulation sélective du PS au niveau de sa cible et d'autre part, en délivrant la lumière sur une zone confinée à la tumeur.

Un des axes de développement de la PDT est la mise au point de nouveaux médicaments photoactivables. Leur efficacité photodynamique, notamment la capacité du PS à produire de l'oxygène singulet, est communément évaluée par un ensemble d'indicateurs numériques regroupant : (1) le coefficient d'absorption σ_S du PS dans la région spectrale de la lumière d'excitation ; (2) le rendement quantique du PS à l'état triplet Φ_T ; (3) la durée de vie moyenne τ_T du PS à l'état triplet et (4) le rendement quantique de production de l'oxygène singulet. Tous ces paramètres sont habituellement mesurés séparément en condition *in vitro* [3, 8]. Néanmoins, ces mesures sont généralement très dépendantes du milieu biologique utilisé et l'extrapolation précise au cas *in vivo* est arbitraire, voire impossible. Afin de remédier à ce problème, nous avons proposé précédemment [8] une approche alternative fondée sur l'estimation des paramètres d'un modèle dynamique de la phase photoréactive de la PDT à partir de données expérimentales mesurées dans un contexte *in vivo*. Ce modèle est constitué de six équations différentielles non linéaires dont les variables d'état correspondent chacune à des concentrations d'espèces produites dans le processus de réactions en chaîne associé à cette thérapie.

L'identifiabilité pratique des paramètres [10, 27] dépend de la quantité et de la qualité des informations contenues dans les variables mesurées. La mesure de concentrations d'espèces biologiques *in vivo* reste un problème technologique crucial, notamment en biologie intégrative [14]. Dans cette application, les concentrations sont mesurées en observant la fluorescence moléculaire des différentes espèces biologiques à l'aide de spectromètres dont le coût de mise en œuvre est important. Par conséquent, il est essentiel de pouvoir choisir avec parcimonie les concentrations à mesurer.

Bien qu'il existe des approches visant à tester l'identifiabilité globale théorique des paramètres [1, 6], il n'en est rien lorsque les conditions expérimentales sont fixées. Les seules techniques capables d'évaluer l'identifiabilité pratique sont locales [4, 8, 28], or les paramètres du modèle varient largement d'un PS à un autre. En conséquence, face à ce type de problème, beaucoup de chercheurs se tournent vers l'utilisation de méthodes d'analyse de sensibilité globale [9, 17, 18]. Toutefois, il convient de rester prudent sur cette application de l'analyse de sensibilité, car ces méthodes et particulièrement celles fondées sur la décomposition fonctionnelle de la variance informent plutôt sur la non-identifiabilité pratique que l'inverse. De plus, les conclusions restent

partielles, car elles ne détectent que deux des trois causes de non-identifiabilité : insensibilité de la sortie par rapport aux paramètres, colinéarité des fonctions de sensibilité, mais pas l'injectivité de la sortie vis-à-vis des paramètres [7].

Nous proposons ici une application d'une technique d'analyse de sensibilité globale fondée sur la décomposition fonctionnelle de la variance [21] au cas d'un modèle dynamique de photoréactions induites en thérapie photodynamique. L'objectif de cette étude de sensibilité est d'extraire, pour chaque espèce biologique produite, les paramètres sensibilisants. Outre la valeur maximale des fonctions de sensibilité, leurs colinéarités sont également prises en compte. Cette analyse nous permet de conclure sur les concentrations d'espèces à mesurer en priorité. Elle fournit donc une aide au choix des capteurs dans la conception d'une nouvelle plate-forme de recherche, ceci sous l'hypothèse que ces derniers soient suffisamment sensibles dans un cadre expérimental *in vivo*.

La description du modèle dynamique de la phase photodynamique, c'est à dire des réactions de photo-oxydation induites, des relations entre les paramètres photophysiques et les paramètres du modèle, ainsi que le cadre expérimental *in vivo* sont présentés à la section 2. À la section 3, nous développons l'analyse de sensibilité globale et plus précisément la méthode fondée sur la décomposition fonctionnelle de la variance. Nous décrivons l'implantation numérique de la méthode ainsi que les résultats numériques de cette application dans la section 4, avant de conclure.

2. Modélisation de la phase photodynamique de la thérapie

2.1. Description du modèle

L'excitation du PS par la lumière induit soit, la production de radicaux libres (réactions de type I) soit, celle de l'oxygène singulet (réactions de type II) aboutissant finalement à la création de substances puissamment oxydantes impliquées dans la destruction cellulaire. Cette étude de modélisation ne concerne que les réactions de type II considérées comme prédominantes en PDT. Les équations décrivant les cinétiques de ces réactions peuvent être regroupées dans un modèle dynamique non-linéaire, défini comme suit

$$\begin{cases} \dot{\mathbf{x}} = f(\mathbf{x}, \mathbf{u}, t, \theta) \\ \mathbf{y} = h(\mathbf{x}, t, \theta) \\ \mathbf{x}(0) = \mathbf{x}_0 \end{cases} \quad (1)$$

avec $t \in \mathbb{T} \subset \mathbb{R}^+$ la variable du temps, $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^{n_x}$ le vecteur des variables d'état, $\mathbf{u} \in \mathbb{U} \subset \mathbb{R}^{n_u}$ le vecteur d'entrée, $\mathbf{y} \in \mathbb{R}^{n_y}$ le vecteur de sortie contenant les variables mesurées, $\theta \in \mathbb{P} \subset \mathbb{R}^{n_p}$ le vecteur des paramètres supposés inconnus et \mathbf{x}_0 les valeurs initiales des variables d'état. f et h correspondent aux équations d'état, respectivement aux équations de sortie. Dans notre cas, les variables d'état sont les concentrations des espèces engendrées durant la phase photodynamique du traitement, $\mathbf{x} = ([S_0], [S_1], [T_1], [{}^3O_2], [{}^1O_2], [M])^T$ (voir Tab. 1 pour une description des variables d'état) et $\mathbf{u} = (u_L, u_P, u_O)^T$ avec u_L - la densité de puissance du rayon lumineux, u_P la vitesse d'incorporation du PS et u_O - la vitesse d'incorporation de l'oxygène. Avec $[\cdot]$ nous notons la concentration intracellulaire d'une espèce, exprimée ici en mM¹.

¹ La concentration molaire, ou molarité, est la quantité de matière de soluté par unité de volume de solution. Son unité usuelle est la mole par litre (1M = 1 mol/L) et ses sous-multiples : 1 mM = 10⁻³ mol/L et 1 μM = 10⁻⁶ mol/L.

TABLEAU 1. PRINCIPALES NOTATIONS MATHÉMATIQUES

Symb.	Description	Unité
v_A	Vitesse d'absorption des photons	$\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$
u_P	Vitesse d'incorporation du PS	$\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$
u_O	Vitesse d'incorporation d'oxygène moléculaire 3O_2	$\text{mM} \cdot \text{s}^{-1}$
u_L	Irradiance	$\text{mW} \cdot \text{cm}^{-2}$
$[S_0]$	PS intraC. à l'état singulet repos	mM
$[S_1]$	PS intraC. à l'état singulet excité	mM
$[T_1]$	PS intraC. à l'état triplet excité	mM
$[^3O_2]$	Oxygène à l'état triplet repos	mM
$[^1O_2]$	Oxygène à l'état singulet excité	mM
$[M]$	Substrat organique intracellulaire	mM

Des études antérieures ont démontré la faisabilité concernant la mesure *in vivo* de certaines espèces [5, 11, 15, 16, 25, 26]. Nous avons donc théoriquement la possibilité de mesurer :

- y_1 : l'intensité de fluorescence du PS, grandeur proportionnelle à la concentration en PS à l'état singulet repos, $[S_0]$;
- y_2 : l'intensité de phosphorescence du PS, grandeur proportionnelle à la concentration en PS à l'état triplet, $[T_1]$;
- y_3 : la pression partielle en oxygène du tissu, grandeur proportionnelle à la concentration en oxygène, $[^3O_2]$;
- y_4 : l'intensité de luminescence, grandeur proportionnelle à la concentration en oxygène singulet, $[^1O_2]$;

ce qui nous conduit à quatre équations de sortie :

$$\begin{cases} y_1(t) = \gamma_1 [S_0] \\ y_2(t) = \gamma_2 [T_1] \\ y_3(t) = \gamma_3 [^3O_2] \\ y_4(t) = \gamma_4 [^1O_2] \end{cases} \quad (2)$$

où les paramètres $\gamma_1, \dots, \gamma_4$ désignent les sensibilités des appareils de mesure. Par la suite nous supposons que ces sensibilités sont suffisamment importantes pour être capable de détecter une variation significative des quatre variables de sortie. Les équations d'état correspondant aux réactions définies dans Tab. 2 sont

$$\begin{cases} \frac{d[S_0]}{dt} = u_P(t) + (k_F + k_{CI}) [S_1] - k_{Pb} [^1O_2] [S_0] + (k_P + k_{TS}) [T_1] + k_T [T_1] [^3O_2] - v_A(t) \\ \frac{d[S_1]}{dt} = v_A(t) - (k_F + k_{CI} + k_{CIS}) [S_1] - k_{SM} [S_1] [M] \\ \frac{d[T_1]}{dt} = k_{CIS} [S_1] - (k_P + k_{TS}) [T_1] - k_T [T_1] [^3O_2] - k_{TM} [T_1] [M] \\ \frac{d[^3O_2]}{dt} = u_O - k_T [T_1] [^3O_2] + (k_r + k_{nr}) [^1O_2] + k_{ox} [M] [^1O_2] + k_{Pb} [S_0] [^1O_2] \\ \frac{d[^1O_2]}{dt} = k_T [T_1] [^3O_2] - (k_r + k_{nr}) [^1O_2] - k_{ox} [M] [^1O_2] - k_{Pb} [S_0] [^1O_2] \\ \frac{d[M]}{dt} = -k_{ox} [M] [^1O_2] - k_{SM} [S_1] [M] - k_{TM} [T_1] [M] \end{cases} \quad (3)$$

La vitesse d'absorption des photons, v_A , dépend de la concentration intracellulaire du PS à l'état

TABLEAU 2. Résumé des réactions photochimiques et valeurs nominales des constantes de réaction associées

Réaction photochimique	Constante	Valeur nominale
1. $S_0 + h\nu_A \rightarrow S_1$	v_A	$19 \cdot u_L \cdot [S_0] \text{ mM} \cdot \text{s}^{-1}$
2. $S_1 \rightarrow S_0 + h\nu_F$	k_F	} $k_f = 2 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$
3. $S_1 \rightarrow S_0$	k_{CI}	
4. $S_1 \rightarrow T_1$	k_{CIS}	$8 \cdot 10^7 \text{ s}^{-1}$
5. $S_1 + M \rightarrow \text{Photoproduits}$	k_{SM}	$10^{-2} \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
6. $T_1 \rightarrow S_0 + h\nu_P$	k_P	} $k_p = 1250 \text{ s}^{-1}$
7. $T_1 \rightarrow S_0$	k_{TS}	
8. $T_1 + M \rightarrow \text{Photoproduits}$	k_{TM}	$1 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
9. $T_1 + {}^3O_2 \rightarrow S_0 + {}^1O_2$	k_T	$10^5 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
10. ${}^1O_2 + S_0 \rightarrow {}^3O_2 + S(O)$	k_{pb}	$1.2 \cdot 10^8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
11. ${}^1O_2 \rightarrow {}^3O_2 + h\nu_L$	k_r	} $k_l = 10^6 \text{ s}^{-1}$
12. ${}^1O_2 \rightarrow {}^3O_2$	k_{nr}	
13. ${}^1O_2 + M \rightarrow {}^3O_2 + M(O)$	k_{ox}	$2.6 \cdot 10^9 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$

repos. Conformément à [12], v_A peut être défini par

$$v_A = \frac{\sigma_S u_L}{h\nu_A} \cdot [S_0] = k_A \cdot u_L \cdot [S_0] \quad (4)$$

avec σ_S le coefficient d'absorption du PS à l'état singulet repos, h la constante de Planck ($h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$) et ν_A la fréquence de la lumière incidente (caractéristique connue du PS). Par conséquent, le vecteur des paramètres à estimer est donné par

$$\theta^T = [k_{CIS} \quad k_{pb} \quad k_l \quad k_f \quad k_p \quad k_A \quad k_{ox} \quad k_{TM} \quad k_{SM} \quad k_T]$$

avec $k_f = k_F + k_{IC}$, $k_p = k_P + k_{TS}$, $k_l = k_r + k_{nr}$ et $k_A = \sigma_S / h\nu_A$.

2.2. Protocole expérimental

Un schéma simplifié de la plate-forme d'expériences est présenté à la Fig. 1. On y retrouve à gauche la source de lumière avec sa fibre optique et son diffuseur plan, au centre la tumeur humaine, xenogreffée sur un animal et à droite les dispositifs de mesure. Un signal carré, de période 1 min, de rapport cyclique 1/2 et d'amplitude $95 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ est utilisé pour illuminer la tumeur. Ce choix est imposé par les limites techniques de la source laser.

L'intensité de la fluorescence, $y_1(t)$, et la pression partielle en oxygène du tissu, $y_3(t)$, sont recueillies seulement pendant les demi-périodes (t_{off}) où le laser est éteint et avec une période d'échantillonnage égale à $T_s = 7 \text{ s}$, soit trois échantillons pour chaque demi-cycle (limite technique du système d'acquisition de données). En ce qui concerne l'intensité de phosphorescence, $y_2(t)$, et l'intensité de luminescence, $y_4(t)$, la période d'échantillonnage est également de 7 s, mais pendant les demi-périodes t_{on} d'illumination de la tumeur. La durée totale de l'expérience est limitée à 42 min.

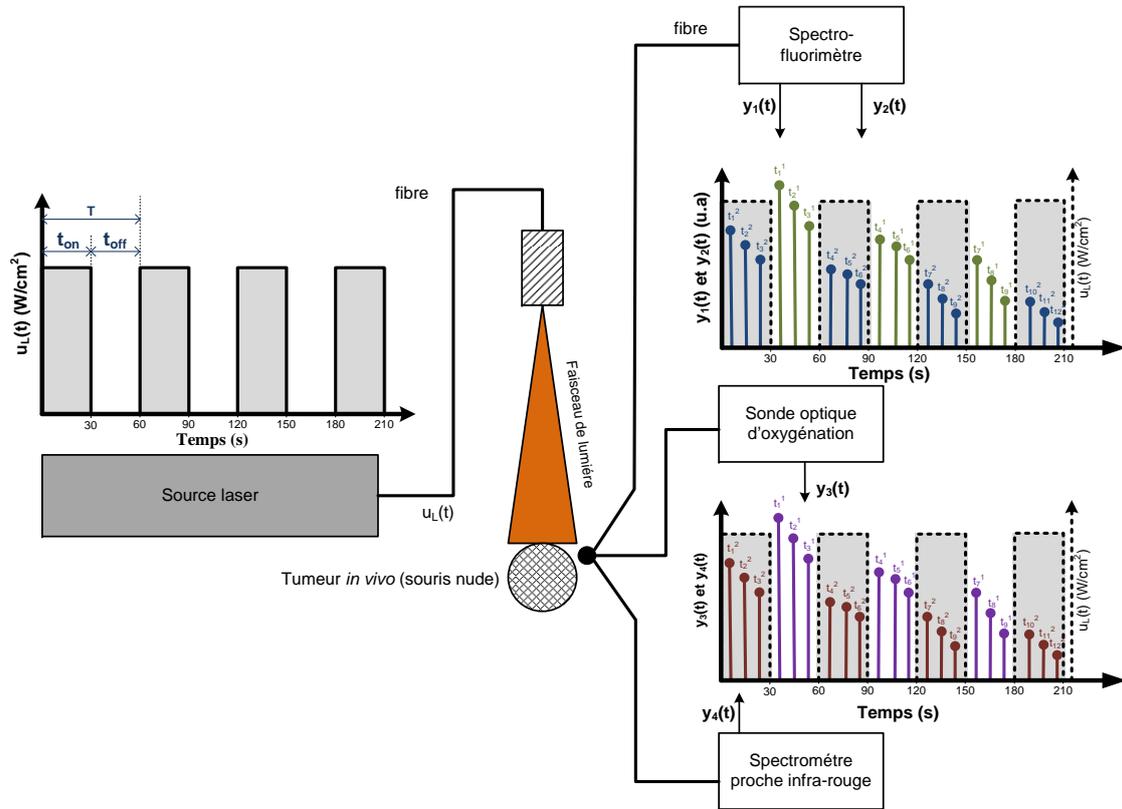


FIGURE 1. Représentation schématique de la plate-forme de recherche : u_L représente le signal d'irradiance généré par la source laser (un signal carré, avec période 1 min), l'intensité de fluorescence y_1 et la pression partielle en oxygène, y_3 , sont mesurées avec une période d'échantillonnage de 7 s pendant t_{off} , tandis que les intensités de phosphorescence, y_2 , et de luminescence, y_4 , sont mesurées avec une période de 7 s pendant l'illumination du laser, t_{on} .

2.3. Paramètres photophysiques

Les relations liant les paramètres photophysiques (coefficient d'absorption, rendements quantiques et durée de vie) aux paramètres du modèle sont les suivantes :

$$k_A = \frac{\sigma_S}{h\nu_A} \Rightarrow \sigma_S = h\nu_A k_A \quad (5)$$

$$\Phi_T = \frac{k_{CIS}}{k_{CIS} + k_f} \quad (6)$$

$$\tau_T = \frac{1}{k_{CIS} + k_f} \quad (7)$$

$$\Phi_\Delta = \Phi_T \cdot \phi_{et} = \frac{k_{CIS}}{k_{CIS} + k_f} \cdot \frac{k_T [^3O_2]}{k_T [^3O_2] + k_p} \quad (8)$$

avec ϕ_{en} , l'efficacité du transfert d'énergie. On constate que les quatre paramètres dépendent explicitement des cinq paramètres du modèle (k_A , k_{CIS} , k_f , k_T , k_p) et d'une variable d'état (3O_2).

L'estimation de ces paramètres à partir de données *in vivo* permettrait de comparer l'efficacité photodynamique de différents PS dans un cadre biologique réaliste.

3. Analyse de sensibilité globale

Plusieurs classifications des méthodes d'analyse de sensibilité existent [21]. Une première les regroupe en trois classes : (1) méthodes locales, (2) méthodes de criblage, (3) méthodes globales. Nous nous intéressons ici à cette dernière classe de méthodes puisqu'elles fournissent des résultats quantitatifs, en intégrant tout l'ensemble des valeurs possibles des paramètres. Ceci est particulièrement important dans la modélisation des systèmes biologiques, puisque les paramètres ont tendance à varier sur de larges plages de variation.

L'analyse de sensibilité globale permet de quantifier l'influence des différents paramètres sur la variabilité de la réponse d'un modèle numérique. On en déduit les paramètres qui contribuent le plus à la variabilité de la réponse du modèle, les paramètres les moins influents et ceux qui interagissent entre eux. Ces méthodes ont l'avantage d'étudier la sensibilité d'un paramètre en faisant varier tous les autres simultanément. [21] présentent l'ensemble des méthodes existantes, qui regroupent les méthodes fiabilistes de type FORM et SORM utilisées pour l'analyse de risques, les méthodes bayésiennes, les méthodes graphiques et les méthodes fondées sur l'analyse de la variance.

3.1. Fonctions de sensibilité

Nous nous intéressons plus précisément aux méthodes d'analyse de sensibilité globale fondées sur l'analyse fonctionnelle de la variance [21, 24]. Nous avons appliqué cette méthode à un système biologique dynamique et avons adapté la terminologie d'« indice de sensibilité » (pour des systèmes statiques) à « fonction de sensibilité » (pour des systèmes dynamiques). L'équation décrivant la décomposition fonctionnelle de la variance totale de la réponse du modèle, notée ici $V(t)$, s'écrit

$$V(t) = \sum_{i=1}^{n_p} V_i(t) + \sum_{1 \leq i < j \leq n_p} V_{i,j}(t) + \dots + V_{1,\dots,n_p}(t) \quad (9)$$

avec

$$\begin{aligned} V_i(t) &= \text{Var} [Y_i(t, P_i)] = \text{Var}_{P_i} [\text{E}_{P_{\sim i}} [Y(t, \mathbf{P}) | P_i]] \\ V_{i,j}(t) &= \text{Var} [Y_{i,j}(t, P_i, P_j)] = \text{Var}_{P_i, P_j} [\text{E}_{P_{\sim i,j}} [Y(t, \mathbf{P}) | P_i, P_j]] - V_i(t) - V_j(t) \\ &\vdots \\ V_{1,\dots,n_p}(t) &= V(t) - \sum_{i=1}^{n_p} V_i(t) - \sum_{1 \leq i < j \leq n_p} V_{i,j}(t) - \sum_{1 \leq i_1 < \dots < i_{n_p-1} \leq n_p} V_{i_1, \dots, i_{n_p-1}}(t) \end{aligned}$$

où \mathbf{P} est un vecteur de paramètres représentés par des variables aléatoires indépendantes et uniformément distribuées dans $[0, 1]^{n_p}$ où n_p désigne le nombre de paramètres étudiés dans l'analyse. $\mathbf{P}_{\sim i} = [P_1, \dots, P_{i-1}, P_{i+1}, \dots, P_{n_p}]^T$ représente l'ensemble de tous les paramètres sauf le $i^{\text{ème}}$.

En divisant l'équation de la décomposition de la variance (9) par la variance totale de la sortie, $V(t)$, nous obtenons une relation entre les différentes fonctions de sensibilité :

$$1 = \sum_{i=1}^{n_p} S_i(t) + \sum_{1 \leq i < j \leq n_p} S_{i,j}(t) + \dots + S_{1,\dots,n_p}(t). \quad (10)$$

Définition On appelle fonction de sensibilité du premier ordre de la réponse Y vis-à-vis du paramètre P_i la fonction

$$S_i(t) = \frac{V_i(t)}{V(t)} = \frac{\text{Var}_{P_i} [\mathbf{E}_{\mathbf{P}_{\sim i}} [Y | P_i]]}{\text{Var} [Y(t, \mathbf{P})]} \quad (11)$$

exprimant la contribution individuelle du paramètre P_i sur la variance de la sortie Y .

Définition Les fonctions de sensibilité du second ordre, $S_{i,j}(t)$:

$$S_{i,j}(t) = \frac{V_{i,j}(t)}{V(t)} = \frac{\text{Var}_{P_i, P_j} (\mathbf{E}_{\mathbf{P}_{\sim i,j}} [Y(t, \mathbf{P}) | P_i, P_j]) - V_i(t) - V_j(t)}{\text{Var} (Y(t, \mathbf{P}))} \quad (12)$$

expriment la sensibilité de la variance de la sortie Y à l'interaction des paramètres P_i et P_j , c'est-à-dire la sensibilité de Y aux variations conjuguées des paramètres P_i et P_j qui n'est pas prise en compte dans $S_i(t)$ et $S_j(t)$.

De manière équivalente, on peut établir les définitions des fonctions de sensibilité d'ordre supérieur à deux.

L'interprétation de ces fonctions de sensibilité est assez simple puisque leur somme est égale à 1 pour tout instant de mesure $t_k \in \{t_1, \dots, t_N\}$ et leurs valeurs sont toujours positives. Par conséquent, plus une fonction est proche de 1, plus le paramètre est influent.

Le nombre de fonctions de sensibilité à calculer, de l'ordre 1 à l'ordre n_p , est égal à $2^{n_p} - 1$. Lorsque le nombre de paramètres n_p est trop important, le nombre de fonctions de sensibilité explose. L'estimation et l'interprétation de toutes ces fonctions deviennent vite impossibles à réaliser. Dans [13], Homma et Saltelli ont alors introduit des indices (fonctions) de sensibilité totaux, qui expriment la sensibilité totale de la sortie vis-à-vis d'un paramètre, c'est-à-dire la sensibilité sous toutes ses formes en regroupant la sensibilité au paramètre seul (mesure de sa contribution individuelle) et la sensibilité aux interactions avec les autres paramètres (mesure de sa contribution collective).

Définition La fonction de sensibilité totale $S_{T_i}(t)$ de la sortie par rapport à un paramètre P_i est définie comme la somme de toutes les fonctions de sensibilité relatives au paramètre P_i :

$$S_{T_i}(t) = \sum_{k \# i} S_k(t) = 1 - S_{\sim i}(t)$$

où $\#i$ représente tous les ensembles d'indices contenant l'indice i et $S_{\sim i}$ la somme des fonctions de sensibilité de la sortie relatives à tous les paramètres, sauf P_i . De manière équivalente, la fonction de sensibilité totale est définie par

$$S_{T_i}(t) = 1 - \frac{V_{\sim i}(t)}{V(t)} = 1 - \frac{\text{Var}_{\mathbf{P}_{\sim i}} [\mathbf{E}_{P_i} [Y | \mathbf{P}_{\sim i}]]}{\text{Var} [Y]}. \quad (13)$$

3.2. Algorithme d'estimation des fonctions de sensibilité

Dans cette partie, nous allons détailler l'algorithme d'estimation des fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totale [19].

1. Construire un échantillon de N_{sim} réalisations de variables aléatoires $\left[P_1^a, \dots, P_{n_p}^a, P_1^b, \dots, P_{n_p}^b \right]$ uniformément distribuées dans $[0, 1]^{2 \cdot n_p}$:

$$\left(P_1^{(k,a)}, \dots, P_{n_p}^{(k,a)}, P_1^{(k,b)}, \dots, P_{n_p}^{(k,b)} \right)_{l=1, \dots, N_{sim}}$$

Nous allons diviser cet échantillon en deux matrices, **A** et **B**, comme suit :

$$\mathbf{A} = \begin{bmatrix} p_1^{(1,a)} & p_2^{(1,a)} & \dots & p_{n_p-1}^{(1,a)} & p_{n_p}^{(1,a)} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ p_1^{(N_{sim},a)} & p_2^{(N_{sim},a)} & \dots & p_{n_p-1}^{(N_{sim},a)} & p_{n_p}^{(N_{sim},a)} \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} p_1^{(1,b)} & p_2^{(1,b)} & \dots & p_{n_p-1}^{(1,b)} & p_{n_p}^{(1,b)} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ p_1^{(N_{sim},b)} & p_2^{(N_{sim},b)} & \dots & p_{n_p-1}^{(N_{sim},b)} & p_{n_p}^{(N_{sim},b)} \end{bmatrix}$$

2. Définir une matrice **C_i** composée de toutes les colonnes de **B** sauf la $i^{\text{ème}}$ qui est remplacée par la $i^{\text{ème}}$ colonne de la matrice **A** :

$$\mathbf{C}_i = \begin{bmatrix} p_1^{(1,b)} & p_2^{(1,b)} & \dots & p_i^{(1,a)} & \dots & p_{n_p}^{(1,b)} \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ p_1^{(N_{sim},b)} & p_2^{(N_{sim},b)} & \dots & p_i^{(N_{sim},a)} & \dots & p_{n_p}^{(N_{sim},b)} \end{bmatrix}$$

3. Calculer la sortie du modèle pour tous les instants de mesure t_k , avec $k \in \{1, \dots, N\}$, et toutes les séries de valeurs de paramètres ($2 \times N_{sim}$ pour **A** et **B**, et $n_p \times N_{sim}$ pour les n_p matrices **C_i**) correspondant aux lignes de **A**, **B** et **C_i**. Les réponses respectives du modèle sont notées $\mathbf{y}_A \in \mathcal{R}^{N_{sim} \times N}$, $\mathbf{y}_B \in \mathcal{R}^{N_{sim} \times N}$ et $\mathbf{y}_{C_i} \in \mathcal{R}^{N_{sim} \times N}$.
4. Pour tous les instants de mesure, t_k , estimer les fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totales, en tenant compte des équations (11) et (13) :

$$\widehat{S}_i(t_k) = \frac{\frac{1}{N_{sim}} \sum_{l=1}^n y_A^{(l)}(t_k) y_{C_i}^{(l)}(t_k) - \widehat{y}_0(t_k)^2}{\frac{1}{N_{sim}} \sum_{l=1}^{N_{sim}} y_A^{(l)}(t_k)^2 - \widehat{y}_0(t_k)^2} \quad (14)$$

$$\widehat{S}_{T_i}(t_k) = 1 - \frac{\frac{1}{N_{sim}} \sum_{l=1}^n y_B^{(l)}(t_k) y_{C_i}^{(l)}(t_k) - \widehat{y}_0(t_k)^2}{\frac{1}{N_{sim}} \sum_{l=1}^{N_{sim}} y_A^{(l)}(t_k)^2 - \widehat{y}_0(t_k)^2} \quad (15)$$

$$\text{où } \widehat{y}_0(t_k) = \left(\frac{1}{N_{sim}} \sum_{l=1}^{N_{sim}} y_A^{(l)}(t_k) \right).$$

Afin d'estimer toutes les fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totales, on effectue $N_{sim} \times (n_p + 2)$ appels à la fonction du modèle, avec n_p le nombre de paramètres du modèle, tandis que l'estimation de toutes les fonctions de sensibilité nécessite $N_{sim} \cdot 2^{n_p}$ appels.

3.3. Méthode de sélection des paramètres sensibilisants

Tenant compte des liens établis entre l'analyse de sensibilité et la non-identifiabilité des paramètres [7], nous proposons ici une méthode de sélection des paramètres en deux étapes :

1. élimination des paramètres dont les fonctions de sensibilité totales sont inférieures à 0.2 (choix empirique défini dans [20]) sur l'ensemble de l'horizon de mesure ;
2. classification des paramètres selon des mesures de colinéarité entre les fonctions de sensibilité totale des paramètres retenus précédemment.

Nous distinguons deux types de colinéarité :

- colinéarité parfaite, détectable par un test de rang d'une matrice D de dimension $2 \times N$ (avec N le nombre d'instant de mesure) ou bien un test de déterminant d'une matrice $D^T \cdot D$ de dimensions 2×2 , avec $D = [S_{T_i}, S_{T_j}]_{i \neq j=1, \dots, n_p}$ et D^T la transposée de cette matrice ;
- colinéarité imparfaite, détectable par un test de conditionnement de la matrice D , c.à.d $CI(D) = \mu_{\max}(D) / \mu_{\min}(D)$ qui prend en compte les valeurs singulières de la matrice D . Nous avons utilisé les seuils de signification proposés par Belsley et al. dans [2] :

$$\begin{cases} CI(D) < 30, & \text{colinéarité faible entre } S_{T_i} \text{ et } S_{T_j}, \\ 30 \leq CI(D) \leq 100, & \text{colinéarité modérée à forte entre } S_{T_i} \text{ et } S_{T_j}, \\ 100 < CI(D), & \text{colinéarité très forte } S_{T_i} \text{ et } S_{T_j}. \end{cases}$$

4. Application numérique

Nous avons estimé les fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totales pour $N_{sim} = 32768$, ce qui revient à $N_{sim} \cdot (n_p + 2) = 393216$ appels à la fonction du modèle. De plus, nous avons normalisé les paramètres θ du modèle de la manière suivante :

$$P_i = \frac{\theta_i - \theta_i^{\min}}{\theta_i^{\max} - \theta_i^{\min}} \quad (16)$$

pour tout $i = 1, \dots, n_p$ et où $\theta_i \in [\theta_i^{\min}, \theta_i^{\max}]$ représente la plage de variation du paramètre θ_i . Ici, nous avons choisi $\theta_i^{\min} = \theta_i^0 / 10$ et $\theta_i^{\max} = 10 \cdot \theta_i^0$, avec θ_i^0 la valeur nominale du paramètre θ_i (voir Tab. 2).

Nous avons utilisé ici un échantillonnage uniforme de l'espace paramétrique. Usuellement, cet échantillonnage favorise les valeurs des paramètres proches des limites supérieures de l'intervalle de variation. Lorsque les plages de variation des paramètres sont larges de plusieurs décades, un échantillonnage selon distribution logarithmique est préférable car il permet d'avoir le même nombre de points par décade.

4.1. Échantillonnage de l'espace paramétrique

Plusieurs articles traitent de la comparaison des différents types d'échantillonnage de l'espace des facteurs (ici espace paramétrique). Il est montré [22] que pour une dimension inférieure à 12 paramètres, l'échantillonnage quasi-Monte Carlo reste une bonne solution. Pour les séquences $LP\tau$ de Sobol', il est conseillé [23] de choisir un nombre de points égal à $N_{sim} = 2^{n_s}$, où n_s est un nombre positif entier.

Pour la génération des nombres aléatoires uniformément dans $[0, 1]^{n_p}$ (plus précisément dans $[0, 1]^{2 \cdot n_p}$ pour les valeurs des paramètres des matrices **A** et **B**) nous avons utilisé le générateur SobolSeq^{©2006 BRODA} (www.broda.co.uk).

4.2. Parallélisation du calcul

Afin de trouver les fonctions de sensibilité de premier ordre et totale, un nombre total $N_{sim} \cdot (n_p + 2)$ d'appels à la fonction du modèle est nécessaire. Sachant qu'une simulation du modèle prend 0.12 s environ, le temps total de simulation peut varier de 24 minutes (pour $N_{sim} = 2^{10} = 1024$) à 52 heures (pour $N_{sim} = 2^{17} = 131072$). Afin de réduire le temps de calcul, plusieurs solutions peuvent être prévues :

- parallélisation du calcul sur une machine – qui prend en compte, le calcul *multithread* (qui seul ne semble pas diminuer le temps de calcul), et l'architecture multi-cœur de la machine de calcul ;
- dissocier le problème en plusieurs sous-problèmes et chaque sous-problème est traité par une machine de calcul distincte, dans une grappe d'ordinateurs. Le temps de simulation devient ainsi égal à

$$\max_i (\text{temps}_{sim}(\text{Machine}_i(\text{sous-problème}_i)))$$

avec $\text{temps}_{sim}(\text{Machine}_i(\text{sous-problème}_i))$ le temps nécessaire à la $i^{\text{ème}}$ machine pour résoudre le sous-problème i .

Nous avons également rencontré des problèmes de mémoire, pour l'estimation des fonctions de sensibilité à partir de $N_{sim} = 32768$. Ces problèmes ont été résolus avec des sauvegardes régulières, par une parallélisation distribuée (grappe d'ordinateurs) qui permet de traiter des sous-problèmes de dimensions moins importantes, ou sous une machine spécialement conçue pour le calcul parallèle. La parallélisation du calcul a été gérée par l'intermédiaire des boîtes à outils logicielles disponibles.

4.3. Résultats d'analyse de sensibilité

4.3.1. Classification selon des mesures de sensibilité

La figure 2 présente les estimations des fonctions de sensibilité, $\hat{S}_i(t_k)$ et $\hat{S}_{T_i}(t_k)$, associées respectivement aux contributions individuelles et totales du paramètre p_i pour tout t_k avec $k = \{1, \dots, N\}$ sur les quatre variables de sortie. Afin de sélectionner les paramètres les plus influents, rappelons que nous avons choisi un seuil de signification égal à 0.2. Plusieurs conclusions peuvent être tirées :

- pour la sortie y_1 (intensité de fluorescence), au total quatre paramètres peuvent être considérés comme sensibilisants : k_p , k_A , k_{TM} et k_{ox} , avec des fortes similitudes (des fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totale) des paramètres k_A et k_{TM} ;
- pour y_2 (intensité de phosphorescence), on retrouve trois des paramètres sensibilisants précédents : k_p , k_{TM} et k_A ;
- la sortie y_3 (pression partielle en oxygène du tissu), met en évidence quatre paramètres sensibilisants : k_A , k_{CIS} , k_f , k_{ox} .
- la sortie y_4 est la plus informative avec sept paramètres sensibilisants. On observe de fortes oscillations sur ces fonctions de sensibilité, liées à la dynamique très rapide de production de l'oxygène singulet. La fréquence de ces oscillations correspond à celle du signal d'excitation en lumière. Il faut toutefois minorer l'importance de ces fonctions de sensibilité car, en réalité, la concentration en oxygène singulet est très faible et la sensibilité des spectromètres compacts demeure insuffisante pour détecter un signal exploitable.

4.3.2. Classification selon la colinéarité

Le tableau 4 présente les indices de colinéarité entre les fonctions de sensibilité totale des quatre variables de sortie. Nous constatons :

- une forte colinéarité entre les fonctions de sensibilité totale de la sortie y_1 par rapport aux paramètres k_A et k_{TM} , qui indique ainsi une probable non-identifiabilité d'un des deux paramètres (vis-à-vis de la sortie y_1) ;
- on observe également de fortes colinéarités entre les fonctions de sensibilité totale de y_4 par rapport aux paramètres k_A et k_p , k_p et k_{TM} , respectivement k_p et k_f . Ce résultat minimise l'importance de cette variable par rapport aux remarques du paragraphe précédent.

4.3.3. Bilan de l'analyse

La mesure des variables y_1 et y_3 (voir le Tab. 3) permettrait d'observer les effets des paramètres impliqués dans les expressions des paramètres photophysiques σ_S , Φ_T et τ_T définis en section 2.3. En revanche, il y a peu d'espoir d'estimer le rendement quantique de production de l'oxygène singulet, Φ_Δ , dû à une faible sensibilité de l'intensité de luminescence (y_4) par rapport au paramètre k_T .

TABLEAU 3. Bilan des résultats

Var. sortie	Paramètres sensibilisants
y_1	k_p (k_A ou k_{TM}) k_{ox}
y_2	k_p k_A k_{TM}
y_3	k_A k_{CIS} k_f k_{ox}
y_4	k_{ox} k_A k_p k_{CIS}

5. Conclusions

Une analyse de sensibilité globale fut appliquée à un modèle dynamique de la phase photocyto-toxique de la thérapie photodynamique dans le but de déterminer les variables à mesurer pour

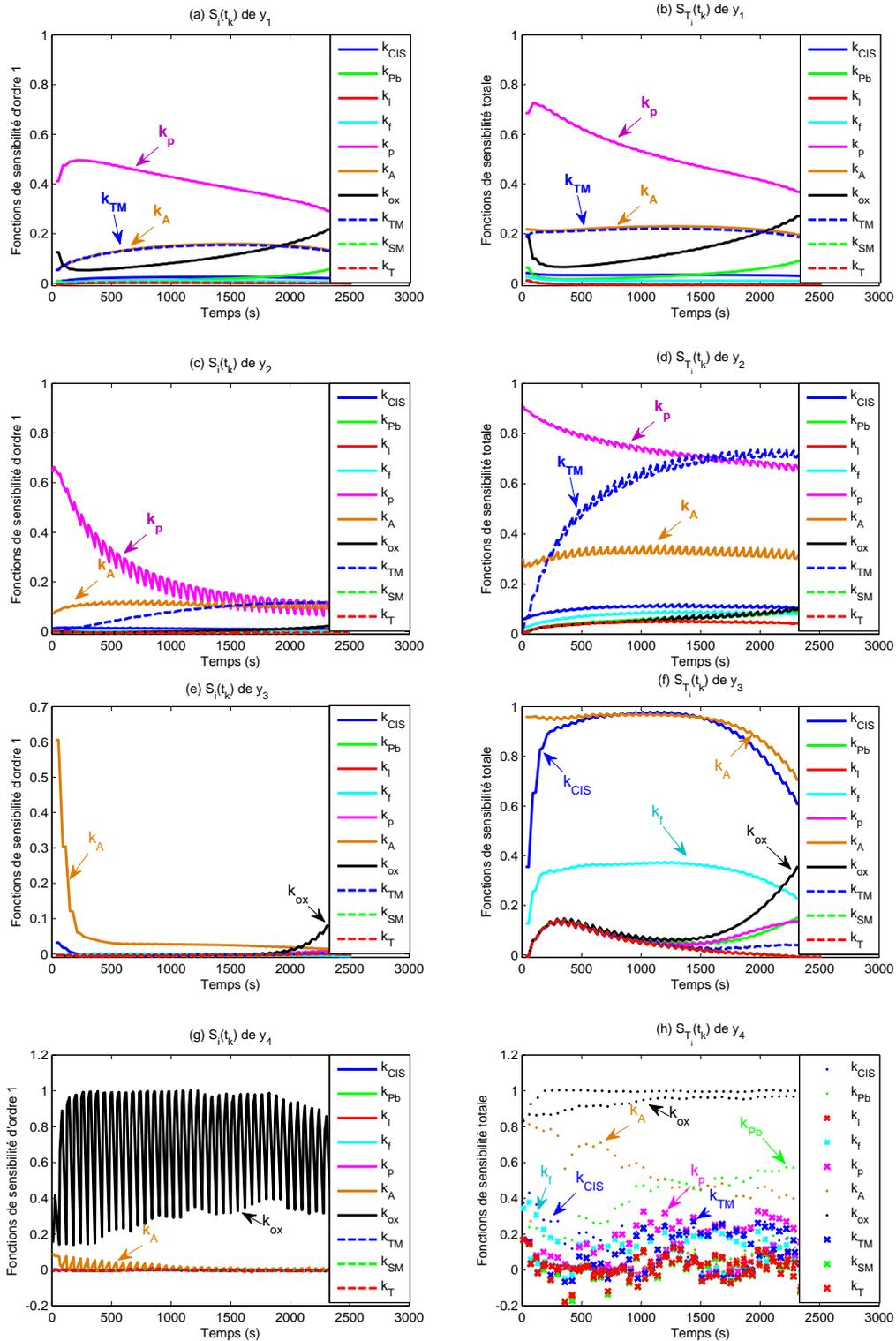


FIGURE 2. Fonctions de sensibilité d'ordre 1 et totale de toutes les sorties par rapport aux paramètres du modèle

caractériser l'efficacité *in vivo* d'un agent photosensibilisant.

Les contributions de ce travail concernent

- l'application d'une méthode fondée sur la décomposition fonctionnelle de la variance au cas des systèmes dynamiques en employant une méthode d'échantillonnage de l'espace paramétrique de type quasi Monte Carlo fondée sur la séquence $LP\tau$ de Sobol ;
- une réduction du temps de simulation numérique par une parallélisation du calcul implantée dans une machine à architecture multi-coeur ;
- une méthode de détection de paramètres sensibilisants procédant en deux étapes : une classification des paramètres sensibilisants, puis une étude de leurs colinéarités ;
- des résultats d'application guidant l'expérimentateur sur le choix des variables à mesurer dans la conception d'une plate-forme de recherche sur la thérapie photodynamique, sous réserve d'une sensibilité suffisante des capteurs en question en condition *in vivo*. L'architecture finale retient deux variables en priorité : la concentration intra-tumorale $[S_0]$ du PS et la concentration en oxygène $[^3O_2]$ pour pouvoir, *in fine*, estimer le coefficient d'absorption σ_S , le rendement quantique du PS à l'état triplet Φ_T et la durée de vie moyenne τ_T de l'agent sensibilisant à l'état triplet à partir des données *in vivo*.

	k_p	k_A	k_{TM}	k_{ox}
k_p		19.779	20.829	5.2769
k_A			190.1129	4.4571
k_{TM}				4.3930
k_{ox}				

	k_p	k_A	k_{TM}	k_{ox}
k_p		29.5401	4.5608	
k_A			2.3905	
k_{TM}				

	k_A	k_{CIS}	k_f	k_{ox}
k_A		9.7224	15.9188	4.3696
k_{CIS}			12.2756	3.8903
k_f				3.0785
k_{ox}				

	k_{ox}	k_A	k_p	k_{pb}	k_{TM}	k_{CIS}	k_f
k_{ox}		12.1960	19.5585	13.5170	11.5832	1.3677	3.6750
k_A			22.8082	52.7064	14.5362	11.9538	22.6004
k_p				15.6070	51.5222	15.7271	41.9538
k_{pb}					11.8737	14.4459	24.1322
k_{TM}						8.5843	27.5412
k_{CIS}							1.7829
k_f							

TABLEAU 4. Indices de colinéarité entre les fonctions de sensibilité totale de la sortie y_1 (haut, gauche), y_2 (haut, milieu), y_3 (haut, droite) et y_4 (bas), par rapport aux paramètres sensibilisants (une cellule verte indique une colinéarité faible entre les fonctions de sensibilité en question, tandis que une cellule rouge indique une colinéarité modérée à forte)

Références

- [1] S. AUDOLY, G. BELLU, L. D'ANGIO, M. P. SACCOMANI et C. COBELLI : Global identifiability of nonlinear models of biological systems. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 48(1):55–65, 2001.
- [2] D.A. BELSLEY, E. KUH et R.E. WELSCH : *Regression diagnostics : Identifying influential data and sources of collinearity*. Wiley-IEEE, 2004.
- [3] A.M. BRAUN et E. OLIVEROS : Applications of singlet oxygen reactions : mechanistic and kinetic investigations. *Pure Appl. Chem*, 62:1467–1476, 1990.
- [4] R. BRUN, P. REICHERT et H. R. KÜNSCH : Practical identifiability analysis of large environmental simulation models. *Water Resources Research*, 37:1015–1030, 2001.
- [5] A. CURNOW, J.C. HALLER et S.G. BOWN : Oxygen monitoring during 5-aminolaevulinic acid induced photodynamic therapy in normal rat colon : comparison of continuous and fractionated light regimes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology*, 58(2-3):149–155, 2000.
- [6] L. DENIS-VIDAL, G. Joly BLANCHARD et C. NOIRET : Some results and applications about identifiability of nonlinear systems. *In Proceeding of the European Control Conference*, 1999.
- [7] S. DOBRE : *Analyses de sensibilité et d'identifiabilité globales. Application à l'estimation des paramètres en thérapie photodynamique*. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 22 juin 2010.
- [8] S. DOBRE, T. BASTOGNE, M. BARBERI-HEYOB, D. BECHET, J. DIDELOU et A. RICHARD : System identification of the intracellular photoreaction process induced by photodynamic therapy. *In 16th Mediterranean Conference on Control and Automation*, Ajaccio, 25-27 June 2008.
- [9] S. DOBRE, T. BASTOGNE et A. RICHARD : Global sensitivity and identifiability implications in systems biology. *In Proc of the 11th IFAC Symposium on Computer Applications in Biotechnology*, July 2010.
- [10] D. DOCHAIN et P. A. VANROLLEGHEM : *Automatique des bioprocédés*, chapitre Identification de modèles de bioprocédés, pages 53–86. Hermes Science Publications, 2001.
- [11] J.S. DYSART, G. SINGH et M.S. PATTERSON : Calculation of singlet oxygen dose from photosensitizer fluorescence and photobleaching during mTHPC photodynamic therapy of MLL cells. *Photochemistry and photobiology*, 81(1):196–205, 2005.
- [12] T. FOSTER, R. S. MURANT, R. G. BRYANT, R. S. KNOX, S. L. GIBSON et R. HILF : Oxygen consumption and diffusion effects in photodynamic therapy. *Radiation Research*, 126:296–302, 1991.
- [13] T. HOMMA et A. SALTELLI : Importance measures in global sensitivity analysis of non linear models. *Reliability Engineering & System Safety*, 52(Issue 1):1–17, April 1996.
- [14] H. KITANO : *Foundations of Systems Biology*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts, 2001.
- [15] M. NIEDRE, M.S. PATTERSON et B.C. WILSON : Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo*. *Photochemistry and photobiology*, 75(4):382–391, 2002.
- [16] M.J. NIEDRE, A.J. SECORD, M.S. PATTERSON et B.C. WILSON : *In vitro* tests of the validity of singlet oxygen luminescence measurements as a dose metric in photodynamic therapy. *Cancer research*, 63(22):7986, 2003.
- [17] John Peters NORTON : Selection of Morris trajectories for initial sensitivity analysis. *In Proceeding of the 15th IFAC Symposium on System Identification*, 2009.
- [18] M. RODRIGUEZ-FERNANDEZ, S. KUCHERENKO, C. PANTELIDES et N. SHAH : Optimal experimental design based on global sensitivity analysis. *Computer Aided Chemical Engineering*, 24:63–68, 2007.
- [19] A. SALTELLI : Making best use of model evaluations to compute sensitivity indices. *Computer Physics Communications*, 145(2):280–297, 2002.
- [20] A. SALTELLI, K. CHAN et M. SCOTT : *Sensitivity analysis*. Wiley Series in Probability and Statistics. 2000.
- [21] A. SALTELLI, M. RATTO, T. ANDRES, F. CAMPOLONGO, J. CARIBONI, D. GATELLI, M. SAISANA et S. TARANTOLA : *Global sensitivity analysis : The primer*. 2008.
- [22] I. M. SOBOL' : On quasi-Monte Carlo integrations. *Mathematics and Computers in Simulation*, 47(2-5):103–112, 1998.
- [23] I. M. SOBOL' et B. V. SHUKMAN : Random and quasi-random sequences : Numerical estimates of uniformity of distribution. *Math Comput Model*, 18(8):39–45, 1993.
- [24] I.M. SOBOL' : Sensitivity analysis for non-linear mathematical models. *Mathematical Modelling and Computational Experiment*, 1(1):407–414, 1993.

- [25] H. STERENBORG, J. de WOLF, M. KONING, B. KRUIJT, A. van den HEUVEL et D. ROBINSON : Phosphorescence-fluorescence ratio imaging for monitoring the oxygen status during photodynamic therapy. *Opt. Express*, 12:1873–1878, 2004.
- [26] BJ TROMBERG, A. ORENSTEIN, S. KIMEL, SJ BARKER, J. HYATT, JS NELSON et MW BERNS : *In vivo* tumor oxygen tension measurements for the evaluation of the efficiency of photodynamic therapy. *Photochemistry and photobiology*, 52(2):375–385, 1990.
- [27] P. A. VANROLLEGHEM, M. Van DAELE et D. DOCHAIN : Practical identifiability of a biokinetic model of activated sludge respiration. *Water Research*, 29(11):2561–1570, 1995.
- [28] E. WALTER et L. PRONZATO : *Identification of Parametric Models from experimental data*. 1997.