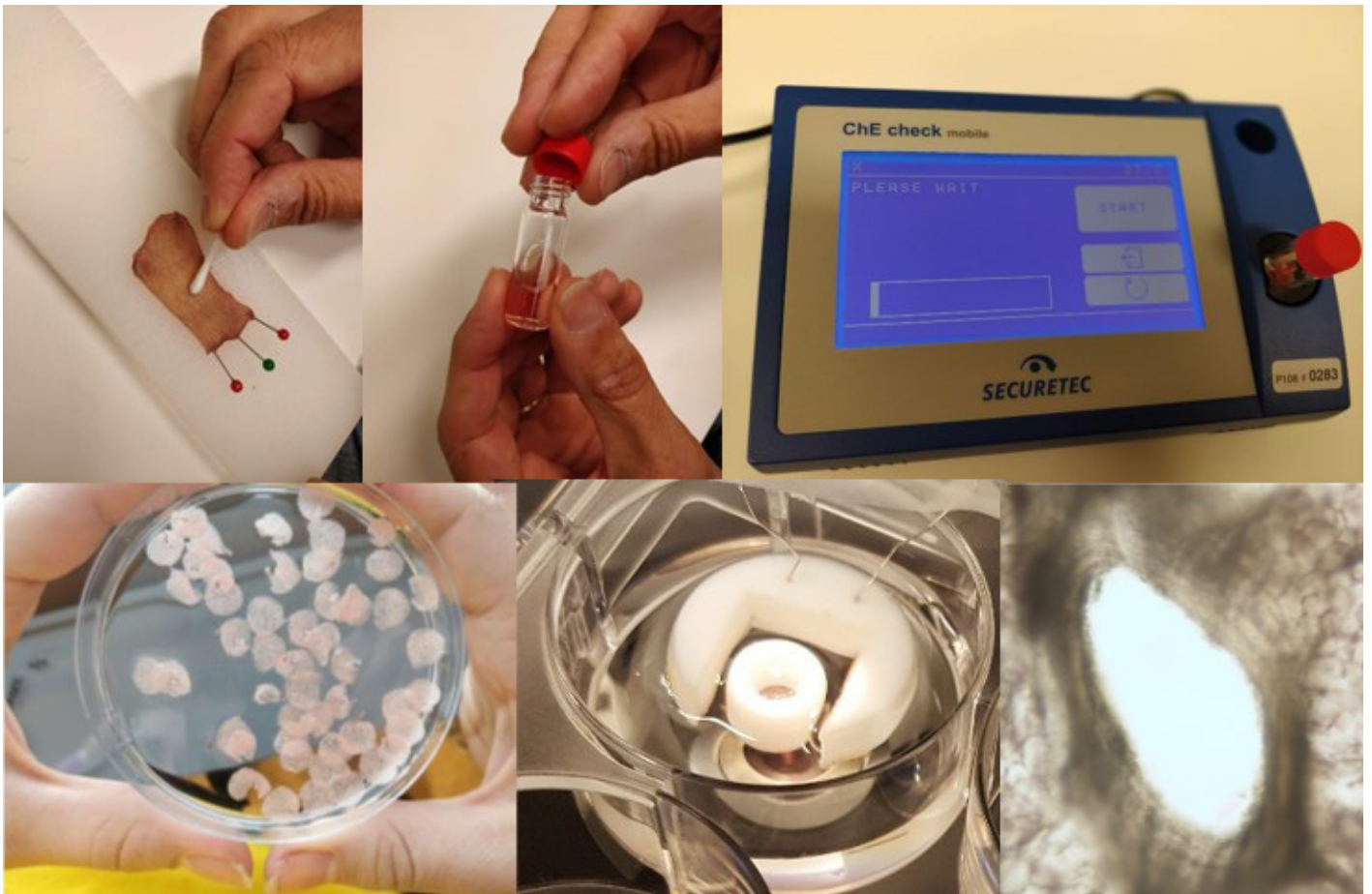


LINA THORS, ELISABETH WIGENSTAM OCH ANDERS BUCHT



Lina Thors, Elisabeth Wigenstam och Anders  
Bucht

# Skyddsaspekter på kemiska hot

Slutrapport 2017-2019

Titel	Skyddsaspekter på kemiska hot– Slutrapport 2017-2019
Title	Medical protection against chemical threat agents – final report 2017-2019
Rapportnr/Report no	FOI-R--4894--SE
Månad/Month	Juni
Utgivningsår/Year	2020
Antal sidor/Pages	20
ISSN	1650-1942
Kund/Customer	Försvarsdepartementet
Forskningsområde	CBRN-frågor
FoT-område	CBRN
Projektnr/Project no	A406219
Godkänd av/Approved by	Åsa Scott
Ansvarig avdelning	CBRN-skydd och säkerhet
Exportkontroll	Innehållet är granskat och omfattar ingen information som är underställd exportkontrollagstiftningen.

Bild/Cover: Elisabeth Wigenstam

Detta verk är skyddat enligt lagen (1960:729) om upphovsrätt till litterära och konstnärliga verk, vilket bl.a. innebär att citering är tillåten i enlighet med vad som anges i 22 § i nämnd lag. För att använda verket på ett sätt som inte medges direkt av svensk lag krävs särskild överenskommelse.

This work is protected by the Swedish Act on Copyright in Literary and Artistic Works (1960:729). Citation is permitted in accordance with article 22 in said act. Any form of use that goes beyond what is permitted by Swedish copyright law, requires the written permission of FOI.

## Sammanfattning

Projektet syftar till kunskapsuppbyggnad för förbättrad förmåga att motverka toxiska effekter vid exponering för nervgaser. Under perioden 2017-19 har forskning genomförts för att 1) fastställa nervgasers hudpenetrerande egenskaper, 2) utvärdera metoder för personsanering samt 3) förbättra symtombaserad medicinsk behandling. Expertstöd har getts till Socialstyrelsen och Försvarsmakten i uppbyggnaden av det civila försvarets sjukvårdssystem, exempelvis vid anskaffning av nya antidoter mot organiska fosforföreningar, rutiner för personsanering, symtomtolkning och triage vid kemiska exponeringar.

Forskningen har visat att risken för toxiska effekter vid hudexponering för lågflyktiga nervgaser såsom VX är avsevärt högre om exponering för nervgasen sker under fuktiga förhållanden (t.ex. vid svettning) än under torra förhållanden. Studier av personsanering av hud exponerad för VX visade att vid optimerat utförande ger saneringsmedlet Reactive Skin Decontamination Lotion (RSDL) effektiv sanering. Däremot har varken tvätt med tvål och vatten eller sanering med personsaneringsmedel 104 någon påvisbar positiv effekt vid exponering för koncentrerad VX under de experimentella förhållanden som studerades.

I projektet har innovativa administreringsmetoder för medicinska motmedel prövats, i första hand via hud och munslemhinna. Resultaten har visat begränsningar i den mängd motmedel som kan tillföras blodcirkulationen under den korta tidsperiod som krävs för effektiv behandling.

Nyckelord: nervgaser, medicinska motmedel, hudpenetration, personsanering

## Summary

The aim of the project has been to increase the understanding of systemic uptake of nerve agents after dermal exposure and to identify best possible procedures for medical treatment. The knowledge has been communicated to the Armed Forces and the National Board of Health and Welfare through specific reports and by oral presentations.

Research has been conducted in order to explore the risk for toxic effects following skin deposition of low volatile nerve agents such as VX and to evaluate procedures for skin decontamination. The results have shown that addition of water to neat VX (e.g. by extensive sweating) significantly enhances the penetration through skin. Different methods for decontamination of VX have been compared and an optimized protocol for decontamination of VX using Reactive Skin Decontamination Lotion (RSDL) has been identified.

Experimental methods have been developed to enable studies of cholinergic reactions in isolated tissues and cells following nerve agent exposure. These models have been used to evaluate the efficacy of medical countermeasures, mainly substances with anticholinergic activities.

Keywords: Nerve agents, medical countermeasures, skin penetration, decontamination

## Innehåll

<b>1</b>	<b>Syfte och övergripande mål.....</b>	<b>7</b>
1.1	Syfte .....	7
1.2	Övergripande projektmål .....	7
<b>2</b>	<b>Slutsatser från genomförd forskning 2017-2019 .....</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>Samarbeten .....</b>	<b>9</b>
3.1	Nationell samverkan .....	9
3.2	Internationella samarbeten .....	9
3.3	Samarbeten med universitet och högskola .....	10
3.4	Interna samarbeten .....	10
<b>4</b>	<b>Experimentell forskning.....</b>	<b>11</b>
4.1	Kolinerga reaktioner och validering av medicinska motmedel.....	11
4.2	Hudpenetration och personsanering .....	12
4.3	Läkemedelsadministration.....	14
<b>5</b>	<b>Rapporter .....</b>	<b>17</b>
5.1	<i>In vitro</i> oxime skin penetration including chemical penetration enhancers .....	17
5.2	Quantitative structure-permeation relationship (QSPR) modeling of organophosphorus compound skin penetration .....	17
5.3	Översikt av metoder för att undersöka interaktioner mellan hud och kemikalier .....	17
<b>6</b>	<b>Sammanfattning av publicerade vetenskapliga artiklar .....</b>	<b>19</b>
6.1	RSDL decontamination of human skin contaminated with the nerve agent VX .....	19
6.2	Comparison of skin decontamination efficacy of commercial decontamination products following exposure to VX on human skin.	19
6.3	Rapid breakthrough of <sup>131</sup> I in an <i>in vitro</i> human epidermis model .....	19



# 1 Syfte och övergripande mål

## 1.1 Syfte

Projektet syftar till kunskapsuppbyggnad för förbättrad förmåga att motverka toxiska effekter vid exponering för nervgaser. Kunskapen nyttiggörs genom stöd till Försvarsmakten (FöMedC/SkyddC) och Socialstyrelsen, exempelvis hur nervgaser tas upp i kroppen efter exponering och hur tillgängliga motmedel ska användas mest effektivt. Expertstöd ges även till Socialstyrelsen och Försvarsmakten vid anskaffning av nya antidoter samt i uppbyggnaden av det civila försvarets sjukvårdssystem vad gäller kemiska exponeringar. I projektet ingår dessutom kompetensuppbyggnad i symtomtolkning som bidrar till FOI:s förmåga att bedöma omvärldshändelser där användning av kemiska stridsmedels misstänks.

## 1.2 Övergripande projektmål

Det övergripande projektmålet är att skapa ökad operativ förmåga i frågor om medicinska motmedel och personsanering. Detta åstadkoms genom att fastställa nervgasers hudpenetrerande egenskaper samt genom optimering av symtombaserad medicinsk behandling och metoder för personsanering vid nervgasexponeringar. Projektet är av särskilt stor betydelse för det bilaterala utbytet med Dstl (Storbritannien) samt det trilaterala samarbetet med TNO (Nederländerna) och DRDC (Kanada) inom området hudpenetration och medicinskt skydd vid exponering för nervgaser.



## 2 Slutsatser från genomförd forskning 2017-2019

- Exponering för ren VX under fuktiga förhållanden ger en ökad risk för snabbt upptag genom huden, Detta förklaras av en utspädningseffekt i vatten som får till följd att nervgasen tas upp snabbare i blodcirkulationen. Nervgasexponering på svettig hud kan därför leda till tidigare symtomutveckling än vid exponering på torr hud.
- Sanering av VX-exponerad hud med RSDL (Reactive Skin Decontamination Lotion) är effektivt om saneringen utförs genom upprepad skrubbing med tid för saneringsmedlet att verka på huden mellan skrubbingarna (10 min). För att minska risken för ökad hudpenetration och sekundär kontamination till omgivningen bör kvarvarande RSDL efter genomförd sanering avlägsnas med våtservett istället för vattensköljning.
- Om VX har absorberats i huden bör mängden vatten som används vid sanering minimeras. Dock ska detta vägas mot den bortspolningseffekt av ännu icke absorberad VX som kan uppnås vid användning av stora mängder vatten.
- Vidareutveckling av saneringsmetoder för nervgaser bör inriktas på saneringsmedel med både absorberande och nedbrytande egenskaper.
- Vid transdermal administrering av medicinska motmedel kan upptagshastigheten ökas avsevärt genom tillsats av kemiska penetrationshjälpmedel. Detta har särskilt visat sig gälla för antikolinerga läkemedel som atropin.
- En cellbaserad metod för utvärdering av antikolinerga läkemedels upptag i det centrala nervsystemet har etablerats. Jämförande studier av de antikolinerga läkemedlen atropin och skopolamin visade en tydligt effektivare passage genom blod-hjärnbarriären för skopolamin och därmed bättre förmåga att nå det centrala nervsystemet än atropin.
- I en *in vitro*-metod för studier av krampreaktioner i lungvävnad har det antikolinerga läkemedlet atropin motverkat kontraktioner i luftvägarna till cirka 50 %. Detta indikerar att andra mekanismer än kolinerg aktivering har betydande påverkan på krampreaktioner efter nervgasexponering. Därmed är det sannolikt att läkemedel som motverkar krampreaktioner genom andra mekanismer än antikolinerga effekter kan utgöra viktiga komplement till atropin.

## 3 Samarbeten

### 3.1 Nationell samverkan

Projektmedlemmar har deltagit i nationell samverkan inom ett flertal områden där forskningsresultat och expertstöd förmedlats:

- Expertstöd till Kunskapscentrum för katastroftoxikologi (KcC) och Socialstyrelsens medicinska expertgrupp (C-meg) i frågor om medicinsk beredskap för C-händelser.
- Expertstöd till Försvarmakten i frågor om antidoter mot nervgaser (FöMedC) och personsanering (SkyddC).
- Deltagande i Socialstyrelsens utbildning för handhavande av autoinjektorer riktat till personal inom akutsjukvård, ambulans, polis och räddningstjänst.
- Specifikt stöd har getts till Socialstyrelsen, Polismyndigheten (NOA), Giftinformationscentralen och Tullverket avseende förstärkta åtgärder vid händelser med organiska fosforföreningar.
- Utbildning har genomförts för Polismyndighetens CBRN-ansvariga i omhändertagande av skadade vid exponering för nervgaser.
- Kompetens och experimentella metoder som etablerats i projektet har varit central för den samverkan med Myndigheten för samhällsskydd och beredskap (MSB) som kontinuerligt pågått avseende kemiska exponeringsrisker för räddningspersonal.
- Genomförande av scenarier spel om omhändertagande vid attack med nervgas för C-meg och ambulanspersonal (14 juni 2018).
- Kompetens har avtappats för framtagande av utbildningsmaterial för insatspersonal inom ramen för Socialstyrelsens C-sjukvårdsnod och MSB:s 2:4-projekt.

### 3.2 Internationella samarbeten

#### 3.2.1 Bilateralt samarbete: FOI och Dstl (Storbritannien)

Det bilaterala samarbetet omfattar effekter och medicinsk behandling vid exponering för nervgaser. Exempel på specifika områden för samarbetet är metoder för mätning av kemikaliers hudpenetration och *in vitro*-modeller för studier av krampreaktioner i luftvägar. Inom ramen för det bilaterala samarbetet har forskarutbyte skett under 2017. En projektmedlem har utfört experimentell verksamhet vid Dstl innefattande *in vitro*-studier av GABA<sub>A</sub>-receptorns funktion, vilken är central vid medicinsk behandling efter nervgasförgiftning. Ett nytt treårigt projektavtal påbörjades under 2018.

#### 3.2.2 Trilateralt samarbete: FOI, TNO (Nederländerna) och DRDC (Kanada)

Det trilaterala samarbetet omfattar främst hudpenetrationsstudier och personsanering av kemiska stridsmedel. Under 2017 har forskarutbyte skett under befintligt trilateralt avtal, där forskare från FOI har deltagit i *in vivo*-saneringsstudier på gris vid DRDC (Kanada). Studien innefattade exponering för nervgasen VX där sanering utfördes enligt protokoll från tidigare *in vitro*-saneringsstudier genomförda vid FOI. Resultaten stärker förmågan att överföra vetenskapliga data från *in vitro*-försök till exponeringar *in vivo*. Det nuvarande samarbetsavtalet avslutades i november 2019 och ett nytt avtal planeras för kommande projektperiod.

### **NATO HFM-253 Task Group Medical Chemical Defence against Chemical Warfare Agents**

HFM-253 hade i uppgift att granska forskningsframsteg och vetenskapligt utvärdera koncept för användning av medicinska motmedel mot kemiska stridsmedel. I projektets slutrapport 2017 beskrevs bl.a. rekommendationer för förbättrad användning av medicinska motmedel och behov av vidare forskning utifrån de brister som identifierats.<sup>1</sup> Projektmedlemmar från FOI deltog i två arbetsgruppsmöten, där även FOI:s forskning inom området presenterades.<sup>2</sup>

Projektet avslutades under 2017 och projektgruppens arbete resulterade i att ”Panel Excellence Award” delades ut för arbetsgruppens bidrag till Nato. Deltagande nationer var Storbritannien (ordförande), Kanada, Tyskland, Frankrike, Kroatien, Nederländerna, Norge, Rumänien, Sverige och USA.

### **NATO HFM-306 Task Group Translating Medical Chemical Defence Research into Operational Medical Capabilities against Chemical Warfare Agent Threats**

Under 2018 initierades HFM-306, som syftar till att utveckla och förbättra den medicinska vårdkedjan efter kemikalieförgiftning, främst för nervgaser. Projektet pågår t.o.m. 2021 och innefattar triage, personsanering och medicinsk behandling men även strukturella organisatoriska frågor såsom läkemedelsförsörjning och civil-militär samverkan. För att effektivisera arbetet har tre delgrupper skapats som fokuserar på olika delar inom det medicinska omhändertagandet. Två arbetsgruppsmöten har genomförts.<sup>3</sup>

Deltagande nationer är Nederländerna (ordförande), Kanada, Tyskland, Frankrike, Storbritannien, Kroatien, Norge, Rumänien, Sverige, Tjeckien och USA.

## **3.3 Samarbeten med universitet och högskola**

Forskningen i projektet bedrivs i nära samarbete med forskargrupper vid universitet och högskola:

- Umeå universitet och Åbo akademi avseende utveckling av förenklade metoder för administrering av medicinska motmedel.
- Kungliga Tekniska Högskolan avseende utveckling av biologisk modell för blod-hjärnbarriären.
- Uppsala universitet och Aix-Marseille University (Frankrike) avseende utveckling av nya koncept för personsanering.

## **3.4 Interna samarbeten**

Projektet samarbetar med följande anslagsprojekt vid FOI:

- Kemiska toxiska ämnen
- CBR-sanering
- Läkemedelsliknande ämnen

<sup>1</sup> STO Technical report (2019). Medical Defence against Chemical Warfare Agent Threats. HFM253 final report. STO-TR-HFM-253.

<sup>2</sup> München, Tyskland (3-4 april 2017) och Bukarest, Rumänien (23-24 november 2017)

<sup>3</sup> Paris, Frankrike (27-28 november 2018) och Nantes, Frankrike (20 maj 2019)

## 4 Experimentell forskning

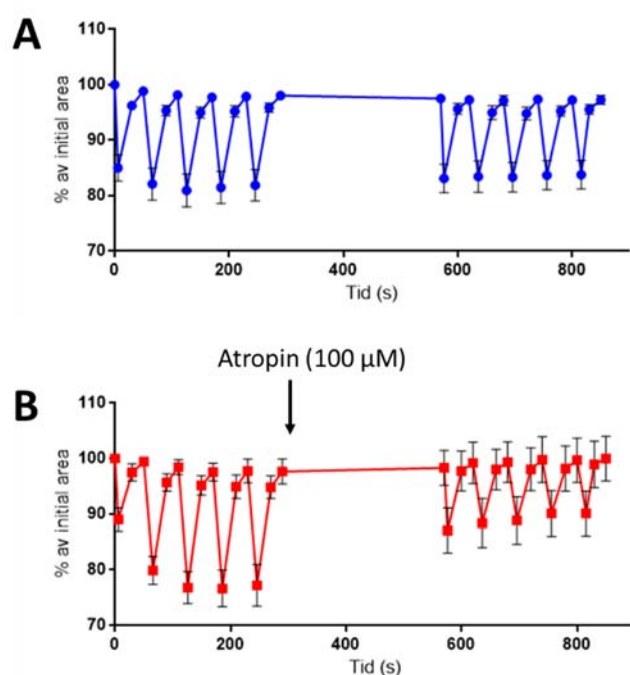
### 4.1 Kolinerga reaktioner och validering av medicinska motmedel

#### 4.1.1 Glatta muskelceller

För att i detalj kunna studera de kolinerga reaktioner som sker i glatt muskulatur i lungan vid nervgasförgiftning har etablering av nya experimentella metoder initierats under projektperioden. Arbetet har bland annat omfattat att möjliggöra mätning av cellaktivering i humana glatta muskelceller vid stimulering med acetylkolin. Metodutvecklingen kommer att fortsätta under 2020.

#### 4.1.2 Precision-cut lung slices (PCLS)

Under projektperioden har metoden för studier av krampreaktioner i lungvävnad (*precision cut lung slices*: PCLS), vidareutvecklats genom att ett fysiologiskt relevant och robust svar via elektrisk stimulering av snitten etablerats. Initialt användes lungvävnad från möss vilket gav relativt liten luftvägsrespons. Under 2019 har därför lungvävnad från råttan använts vilket resulterat i robustare respons (figur 1). Det antikolinerga läkemedlet atropin motverkade kontraktionen vid elektrisk stimulering till cirka 50 %. Detta indikerar att andra mekanismer än kolinerg aktivering har betydande påverkan på krampreaktioner efter nervgasexponering. Därmed är det sannolikt att läkemedel som motverkar krampreaktioner genom andra mekanismer än antikolinerga effekter kan utgöra viktiga komplement till atropin.



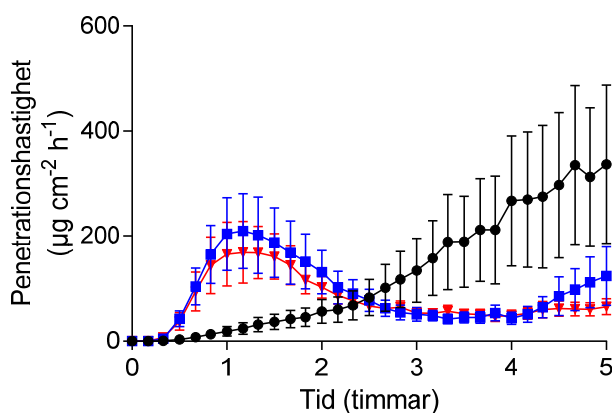
**Figur 1.** Kontraktionsmönster för luftvägar vid elektrisk stimulering. A) Enbart elektrisk stimulering och B) tillsättning av atropin efter 5 minuter av elektrisk stimulering. n=6

## 4.2 Hudpenetration och personsanering

### 4.2.1 Hudpenetration av organiska fosforföreningar

#### Påverkan av svettig hud vid exponering för nervgasen VX

I tidigare hudpenetrationsstudier av nervgasen VX har en kraftigt ökad penetrationshastighet observerats vid spädning i vatten. Under 2019 har effekten av exponering för koncentrerad VX på hud fuktad av svett undersökts genom att använda konstgjord svett som innehåller samtliga komponenter som naturlig svett, t.ex. metaboliter, mineraler och aminosyror. Resultaten visar att svett har samma påverkan som vatten på hudpenetration av VX. Utspädning av VX ger en kortare tid till maximal penetration vilket sannolikt får till följd att nervgasen tas upp snabbare i blodcirkulationen vid exponering på svettig hud (figur 2). Dock har de enskilda komponenterna i svett ingen ytterligare påverkan på hudpenetrationen av VX.



**Figur 2.** Penetrationshastighet för VX genom människohud under 5 timmar. Exponering för ren VX (svart linje), 50 % VX utspädd i vatten (blå linje) och 50 % VX utspädd i svett (röd linje). n=6

#### Hudpenetration av soman och tabun

Hudpenetrationsstudier har genomförts innefattande de två nervgaserna tabun och soman, vilka ej tidigare studerats i FOI:s hudpenetrationsmodell. Hudpenetrationsförmågan hos soman och tabun jämfördes med den tidigare grundligt studerade nervgasen VX. Syftet med studien har varit att inkludera nervgaser med andra löslighetsegenskaper än VX i framtida saneringsförsök och därigenom skapa möjlighet att specifikt utvärdera betydelsen av nervgasers löslighet för saneringseffektivitet. Försöken visar att soman och tabun delvis bryts ned under penetrationen genom hud, något som inte observerats under hudpenetration av VX. Nedbrytningen bekräftades i efterföljande kemiska analyser med NMR-spektroskopi. Nedbrytningen av soman och tabun i hud försvårar jämförelsen mot VX gällande effektivitet av olika saneringsprocedurer och fortsättningsvis krävs att annan vattenlöslig organisk fosforförening används i de experimentella studierna.

### 4.2.2 Prediktionsmodell för hudpenetration av organiska fosforföreningar

Under projektperioden har en beräkningsmodell för nervgasers hudpenetrerande förmåga utifrån deras kemiska struktur och egenskaper etablerats (QSPR-modell). Målsättningen var att prediktionsmodellen ska minska behovet av laborativt arbete, vilket är speciellt viktigt för nervgaser där experimentella studier är komplicerade att utföra. Totalt har 17 organiska fosforföreningars hudpenetrationsegenskaper undersökts experimentellt samt omfattande modelleringsarbete genomförts. Arbetet avslutades under 2019 (se avsnitt Rapporten).

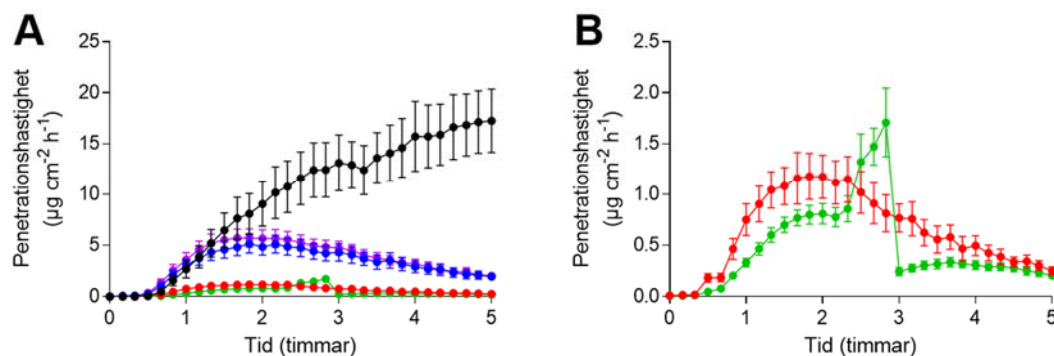
## Hudsanering

Under projektperioden har flera personsaneringsmetoder utvärderats för dess effektivitet att sanera hud exponerad för VX. Av dessa har RSDL visats vara effektivast. Ett optimerat protokoll för användning av RSDL har därefter tagits fram. RSDL finns i fälmässiga förpackningar vilka innehåller en svamp mättad med RSDL-lotion. Enligt tillverkarens rekommendationer ska denna skrubbas på den exponerade hudytan under 2 minuter och därefter avlägsnas genom att skölja med vatten. Under 2019 har fyra olika protokoll för RSDL utvärderats för dess effektivitet (figur 3).



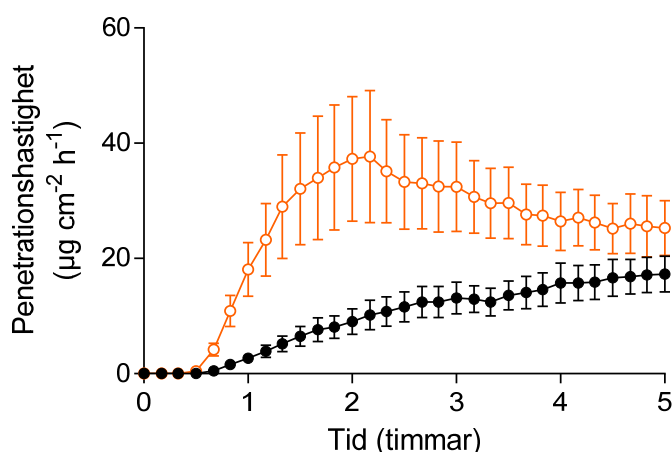
**Figur 3.** Protokoll för optimering av RSDL-användning efter hudexponering för VX.

Studierna visade att upprepad skrubbing och tid för kvarvarande RSDL-lotion att verka på hud ökar saneringseffektiviteten markant (figur 4A). Genom att avlägsna RSDL efter genomförd sanering med våtservett istället för vattensköljning minskade också risken för agensutspädning och sekundär kontaminering till omgivningen. Vid upprepad sanering efter 2 timmar (RSDL-protokoll 4) observerades en övergående ökning i VX-penetration (figur 4B). Detta tyder på att kvarvarande mängd VX i huden kan tränga igenom hudbarriären vid initiering av upprepad saneringsprocedur, vilket kan leda till förvärring av symtom vid upprepad sanering. Därmed bör ökad medicinsk beredskap för tillfällig förvärring av symtom finnas tillgänglig om detta protokoll används.



**Figur 4.** Penetrationshastighet för VX genom människohud under 5 timmar. Sanering initieras efter 5 minuter VX-exponering. A) Samtliga protokoll och B) Enbart RSDL-protokoll 3 och 4 i högre upplösning. Hudexponering för VX utan sanering (svart linje), RSDL-protokoll 1 (blå linje), RSDL-protokoll 2 (lila linje), RSDL-protokoll 3 (röd linje) och RSDL-protokoll 4 (grön linje). n=6

Inom sjukvården används primärt tvål och vatten vid personsanering. Även denna metod har utvärderats i projektet. Resultaten visar att sköljning med tvål och vatten ökar hudpenetrationen av VX signifikant (figur 5). Detta beror troligast på att utspädning av VX sker vid tillskott av vatten vilket ökar ämnets penetrationshastighet genom hud.



**Figur 5.** Penetrationshastighet för VX genom människohud under 5 timmar. Sanering med tvål och vatten initierades 5 minuter efter VX-exponering. Hudexponering för VX utan sanering (svart linje) och sanering med tvål och vatten (orange linje). n=6

Utvärderingen av hudsaneringsmetoder leder till följande slutsatser:

- Om VX har absorberats i huden bör den mängd vatten som används vid sanering minimeras. Dock ska detta vägas mot den bortspolningseffekt av ännu icke absorberad VX som kan uppnås vid användning av stora mängder vatten.
- För effektiv sanering av VX krävs specifikt saneringsmedel, vilket innehar verk samma absorberande och nedbrytande egenskaper.

Under projektperioden har sanering av hud exponerad för VX med personsaneringsmedel 104 prövats. Sanering enligt Försvarmaktens protokoll gav ingen signifikant sanering av absorberad VX i den hudpenetrationsmodell som användes.

Under 2019 har arbetet med nya koncept för sanering initierats, främst s.k. metallorganiska ramverk och polyoxiderade metaller. Dessa potentiella saneringsmedel innefattar både absorptiva och nedbrytande funktioner. Inom ramen för ett internt utvecklingsprojekt har dess förmåga att bryta ned en panel av olika nervgaser utvärderats. Lämpliga kandidater med god effektivitet i nedbrytningsstudier kommer under 2020 att utvärderas i hudsaneringsstudier.

Vidare har ett saneringsmedel baserat på specifikt framtagna enzymer utvärderats med avseende på dess förmåga att bryta ner VX och hur effektivt det kan sanera hud. Enzymernas nedbrytande egenskaper var mycket goda och VX hade brutits ner inom 5 minuter, dock var saneringseffektiviteten på hud låg på grund av att beredningen av saneringsmedlet mestadels består av vatten som ökar penetrationshastigheten genom huden.

## 4.3 Läkemedelsadministration

### 4.3.1 Transdermal administrering

Vid ytbeläggning av lågflyktiga nervgaser, såsom VX, är hud en viktig exponeringsväg. Sådan exponering leder till ett långsamt upptag i blodcirkulationen och därmed fördröjd uppkomst av symtom. Detta skapar behov av att administrera läkemedel med upptagshastighet i kroppen som sammanfaller med tidsförloppet för uppkomst av nervgassymtom. Syftet med studierna av läkemedelspenetration genom hud är att undersöka möjligheten att administrera medicinska motmedel via hudapplicering (transdermal administrering).

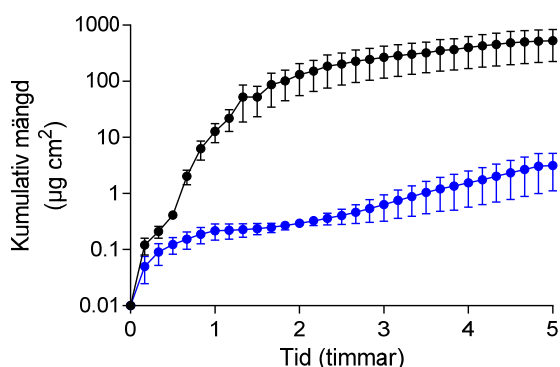
Under 2017 utvärderades oximers förmåga att penetrera hud. De utvalda oximerna var HI-6, obidoxim och ett nytt oxim framtaget vid FOI i samarbete med Umeå universitet. Detta genomfördes i form av ett examensarbete under våren 2017 (se avsnitt Rapporter).

Under 2019 initierades ett samarbete mellan Umeå universitet, Emplicure AB och FOI för att genomföra studier gällande transdermal administrering av antikolinerga läkemedel genom mikronålar. Mikronålar används för att öppna upp små kanaler genom det yttersta lagret av överhuden och resulterar i att läkemedel lättare kan passera. Det mikronålssystem som kommer att utvärderas bygger på att mikronålarna i sig är täckta med läkemedels-substans som blir fri att diffundera genom huden när nålarna appliceras och bryts ner. Under hösten 2019 har experimentella studier genomförts som examensarbete vid Umeå universitet.

### 4.3.2 Buckal administrering

För att uppnå tillräckligt hög dos av medicinska motmedel efter nervgasförgiftning via icke-invasiv administrering krävs snabbare upptag än traditionell transdermal administrering. Under 2018-2019 har administrering via slemhinna i munhålan (buckal administrering) utvärderats. En metod för att mäta transport av antikolinerga läkemedel över munslemhinna från gris har etablerats där FOI:s diffusionscell för hudpenetrationsstudier har nyttjats.

Två varianter av atropin med varierande egenskaper har inkluderats i studierna: atropin (fettlöslig) och atropinsulfat (vattenlöslig). Av dessa uppvisade atropin den bästa förmågan att penetrera munslemhinnan (figur 6).



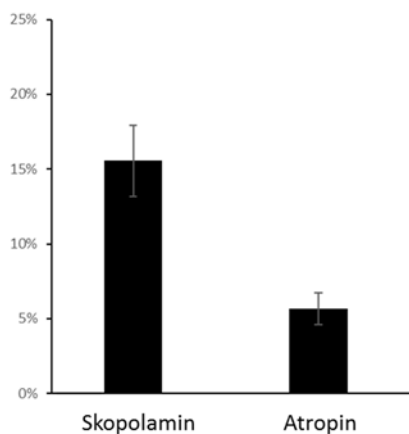
**Figur 6.** Kumulativ mängd atropin som penetrerat munslemhinna över 5 timmar. Administrering av atropin (svart linje) och atropinsulfat (blå linje). n=4

I jämförelse med upptaget genom hud var upptaget av atropin över munslemhinnan signifikant snabbare vilket gav större ackumulerad mängd läkemedel under den experimentella tiden av 5 timmar. Tiden till jämn penetrationshastighet över membranet var 1 timme för munslemhinna mot 10 timmar över hud. Dock krävs det förbättrade beredningsformer av atropin för att buckal administrering ska uppnå terapeutisk effekt vid nervgasförgiftning.

### 4.3.3 Upptag av läkemedel över blod-hjärnbarriären

För att kunna uppnå effektiv symptomatisk behandling vid nervgasförgiftning behövs ökad kunskap om huruvida påverkan av motmedel på det centrala nervsystemet är gynnsam och hur ett förhöjt upptag genom blod-hjärnbarriären (BBB) kan uppnås. En cellbaserad metod för utvärdering av antikolinerga läkemedels transport över BBB har etablerats. De antikolinerga läkemedlen atropin och skopolamin har studerats för dess penetrationsförmåga genom BBB. Skopolamin uppvisar en tydligt bättre förmåga att nå det centrala nervsystemet (figur 7).





**Figur 7.** Passage av antikolinerga läkemedel (skopolamin och atropin) över blod-hjärnbarriären. Resultaten visar andel av tillsatt mängd som transporterats över blod-hjärnbarriären. n=4

Skillnaderna mellan skopolamin och atropin i förmåga att transporteras över BBB har även påvisats vid terapeutisk användning, där atropin primärt har en perifer påverkan medan skopolamin framför allt ger centrala effekter. En nackdel med skopolamin är risken för allvarliga biverkningar vid höga doser. Skopolamin och atropin är kemiskt likartade, men har tydligt olika egenskaper i upptag och farmakologisk effekt. I fortsatta studier ska mekanismer bakom detta undersökas som i förlängningen kan ge förbättrad medicinsk behandling vid nervgasförgiftning.

## 5 Rapporter

### 5.1 *In vitro* oxime skin penetration including chemical penetration enhancers

Transdermal administrering av motmedel har god potential att förenkla medicinsk behandling vid nervgasförgiftning. Syftet med denna studie var att undersöka möjligheten att administrera två oximer; HI-6 och obidoxim, via hud.<sup>4</sup> För att påverka hudens barriärfunktion och öka den mängd läkemedel som kan passera huden, användes penetrationshöjande ämnen. Experimenten utfördes i en väletablerad *in vitro* hudpenetrationsmodell som innefattade människohud. Studierna visade att HI-6 har en klart bättre hudpenetrationsförmåga i jämförelse med obidoxim, men att hudpenetrationsförmågan hos oximerna inte kunde förbättras genom tillsättning av en kemisk penetrationshöjare. De tre penetrationshöjarna som ingick i studien påverkade dock hudpenetrationsförmågan hos HI-6 och obidoxim på olika sätt. Ytterligare penetrationshöjare behöver utvärderas för att potentiellt kunna uppnå terapeutiskt relevanta doser av oxim genom hud som skulle kunna användas vid en nervgasförgiftning.

### 5.2 Quantitive structure-permeation relationship (QSPR) modeling of organophosphorus compound skin penetration

Möjligheten att ta fram en matematisk modell som kan prediktera organofosforföreningars (OP-föreningar) förmåga att penetrera hud har utretts utifrån deras fysikaliska och kemiska egenskaper.<sup>5</sup> Studien baserades på experimentella hudpenetrationsdata framtagna vid FOI för 17 olika OP-föreningar som har stor strukturell likhet med nervgaser. Den inkluderar ett flertal pesticider samt nervgasen VX. För att finna samband mellan substansernas strukturella egenskaper och deras hudpenetrationsförmåga användes den linjära regressionsmetoden PLS (*partial least squares projection to latent structures*). Resultaten visar att LogP är en viktig faktor som tydligt påverkar hudpenetrationsförmågan hos substanserna. Studien visar dock att det inte är möjligt att prediktera olika substansers förmåga att penetrera huden enbart som en korrelation till deras LogP-värden eller till andra egenskaper som är baserade på substansernas struktur. Det behövs betydligt mer avancerade modeller som tar hänsyn till hudens komplexitet. En sådan modell bör t.ex. inkludera i) ett större antal OP-föreningar för att få ett bredare underlag, ii) parametrar som beskriver substansernas specifika interaktioner med huden, iii) information om de olika mekanismer med vilka substanserna kan ta sig genom huden och iv) matematiska algoritmer som tar hänsyn till eventuella icke-linjära samband i data.

### 5.3 Översikt av metoder för att undersöka interaktioner mellan hud och kemikalier

Syftet med denna litteraturstudie är att sammanfatta tillgänglig metodik för att studera interaktioner mellan organiska fosforföreningar och hud för att i förlängningen identifiera lämpliga metoder att etablera vid FOI.<sup>6</sup> I den vetenskapliga litteraturen är dock

<sup>4</sup> Emma Forsberg, Johanna Qvarnström, Anders Bucht, Lina Thors (2017). *In vitro* oxime skin penetration including chemical penetration enhancers. FOI-D--0791--SE.

<sup>5</sup> Susanne Johansson, Lina Thors, Anders Bucht. 5.2 Quantitive structure-permeation relationship (QSPR) modeling of organophosphorus compound skin penetration. FOI D-rapport, produceras under 2020.

<sup>6</sup> Emma Forsberg, Elisabeth Wigenstam, Lina Thors, Anders Bucht. Översikt av metoder för att undersöka interaktioner mellan hud och kemikalier. FOI Memo, produceras under 2020.

metoderna använda för ett brett spektrum av kemikalier. Insikt om kemiska ämnens interaktioner med hud kommer att resultera i ökad kunskap gällande tidsförlopp för symtomutveckling efter hudexponering för nervgaser samt ge möjlighet till förbättrad hudsaneringseffektivitet genom vidareutveckling av personsaneringsmetoder.

Framför allt har tre analysmetoder identifierats: Ramanspektroskopi, ATR-IR spektroskopi och avancerad masspektroskopi (ToF-SIMS). Även en enklare metodik, s.k. *tape-stripping*, har uppmärksammats och även experimentellt utvärderats vid FOI efter hudexponering för VX. Denna enklare metod kunde dock inte uppvisa resultat med tillräcklig detaljeringsgrad, vilket medför att sofistikerade mättekniker krävs för att uppnå önskat resultat.

## 6 Sammanfattning av publicerade vetenskapliga artiklar

Under projektperioden har tre artiklar publicerats i vetenskapliga tidskrifter efter peer-review granskning.

### 6.1 RSDL decontamination of human skin contaminated with the nerve agent VX

Artikeln publicerades i tidskriften Toxicology Letters.<sup>7</sup> Studierna med RSDL-sanering i FOI:s hudpenetrationsmodell visade att RSDL:s förmåga att sanera människohud efter exponering för organiska fosforföreningar är starkt beroende av hur lång tid efter exponering sanering påbörjas. Tidigt insatt sanering, 5-10 minuter efter exponering, var betydligt effektivare än sanering som påbörjades efter 30 minuter. Resultaten visade också att effektivare sanering uppnåddes då de organiska fosforföreningarna var utspädda i vatten innan exponering och att fettlösliga organiska fosforföreningar är lättare att sanera med RSDL än vattenlösliga. Detaljerade studier med hjälp av kemisk analys (NMR-spektroskopi) visade att nedbrytningen av VX var beroende av RSDL:s basiska pH snarare än de inkluderade oximerna. De NMR-spektroskopiska analyserna visade på mycket snabb nedbrytning av VX i RSDL, vilket stärkte teorin om att nedbrytbarheten av de organiska fosforföreningarna i RSDL har stor betydelse för effektiv sanering.

### 6.2 Comparison of skin decontamination efficacy of commercial decontamination products following exposure to VX on human skin

Artikeln publicerades i tidskriften Chemico-Biological Interactions.<sup>8</sup> Studien innefattade jämförelse av saneringseffektivitet för fyra kommersiellt tillgängliga saneringsmedel efter hudexponering för nervgasen VX. De produkter som utvärderades var RSDL, PS104, absorptionsmedlet Fuller's Earth och hypokloritlösningen AlldecontMED. Dessutom bedömdes olika saneringsprocedurer för att ytterligare undersöka viktiga mekanismer involverade i de specifika produkterna, t.ex. hur saneringsmedel ska avlägsnas från hud, fysisk borttagning genom skrubbing och aktivering av nedbrytningsmekanismer. I jämförelse med övriga saneringsmedel i studien var RSDL:s saneringseffektivitet överlägsen. Att skrubba huden med svamp som innehåller RSDL gav sämre saneringseffektivitet än att låta RSDL verka på huden under en längre tid. Övriga saneringsmedel uppvisade svag saneringseffektivitet när substansen trängt in i huden.

### 6.3 Rapid breakthrough of <sup>131</sup>I in an *in vitro* human epidermis model

Artikeln publicerades i tidskriften Toxicology In Vitro.<sup>9</sup> Studien innefattade hudpenetrationsexperiment med radioaktiv jod och icke-radioaktiva jodjoner. Genombrott av radioaktiv jod detekterades inom några minuter efter att hudexponering initierats, hudpenetra-

<sup>7</sup> Thors L, Lindberg S, Johansson S, Koch B, Koch M, Hägglund L, Bucht A (2017). RSDL decontamination of human skin contaminated with the nerve agent VX. Toxicol Lett. 269:47-54.

<sup>8</sup> Thors L, Koch M, Wigenstam E, Koch B, Hägglund L, Bucht A (2017). Comparison of skin decontamination efficacy of commercial decontamination products following exposure to VX on human skin. Chem Biol Interact. 273:82-89.

<sup>9</sup> Nygren U, Hedman A, Nylén T, Thors L (2017). Rapid breakthrough of <sup>131</sup>I in an *in vitro* human epidermis model. Toxicol In Vitro. 42:287-291.

tionen av jod beräknades vara koncentrationsberoende och steady state penetrationshastighet uppnåddes inom 50-70 minuter oberoende av exponeringskoncentration och vilken receptorlösning som använts. Två receptorlösningar utvärderades, fosfatbuffert och en etanol-vattenblandning (1:1), där etanolblandningen resulterade i signifikant högre penetrationshastighet av radioaktiv jod i jämförelse med fosfatbuffert. Analys av radioaktivitet i hud visade ingen ackumulering av jod i epidermis under försöken.

FOI är en huvudsakligen uppdragsfinansierad myndighet under Försvarsdepartementet. Kärnverksamheten är forskning, metod- och teknikutveckling till nytta för försvar och säkerhet. Organisationen har cirka 1000 anställda varav ungefär 800 är forskare. Detta gör organisationen till Sveriges största forskningsinstitut. FOI ger kunderna tillgång till ledande expertis inom ett stort antal tillämpningsområden såsom säkerhetspolitiska studier och analyser inom försvar och säkerhet, bedömning av olika typer av hot, system för ledning och hantering av kriser, skydd mot och hantering av farliga ämnen, IT-säkerhet och nya sensorers möjligheter.



FOI  
Totalförsvarets forskningsinstitut  
164 90 Stockholm

Tel: 08-55 50 30 00  
Fax: 08-55 50 31 00

[www.foi.se](http://www.foi.se)