

Humanexponering & riskanalys

- vid internationella fredsinsatser



HERA

Forskningsprogram år 2004 - 2006

Reserapporter

Sammanställd av Ann Göransson Nyberg

Humanexponering & riskanalys

-vid internationella fredsinsatser

Författare inom FOI NBC-skydd

Eva Arvidsson
Rune Berglind
Anders Bucht
Gudrun Cassel
Sten-Åke Fredriksson
Ann Göransson Nyberg
Karin Hjalmarsson
Daniel Johansson
Indra Svensson

Framsidas bild visar den grekiska gudinnan Hera (bilden används med tillstånd av Torben Melander, Danmark). Källa:
Torben Melander: *Billeder fra Grækenland 700-300 f.Kr.* (Gyldendal 1986). <http://www.abc.se/~m10354/txt/grekgudar.htm>

Hera är himladrottningen och äktenskapets beskyddarinna, det himmelska ljusets, särskilt månljusets drottning och maka till den ständigt otrogne himlaguden Zeus. Hon var mycket svartsjuk och hämnades skoningslöst sina rivaler. Det sägs att Hera hade en magisk trädgård där odödlighetens äpplen växte. Till hennes attribut räknas påfågeln, dubbelyxan och ormen. Hon vandrar i guldsandaler och förblir ständigt jungfru då hon får tillbaka sin oskuld varje år genom att bada i en källa kallad Canathus.

Utgivare Totalförsvarets Forskningsinstitut - FOI FOI NBC-skydd 901 82 Umeå	Rapportnummer, ISRN FOI-R--1150--SE	Klassificering Användarrapport
	Forskningsområde 3. Skydd mot massförstörelsevapen	
	Månad, år December 2003	Projektnummer A438
	Verksamhetsgren 2. NBC.skyddsforskning	
	Delområde 39. Breda projekt inom skydd mot massförstörelsevapen	
Författare/redaktör Ann Göransson Nyberg Daniel Johansson Eva Arvidsson Indra Svensson Rune Berglind Anders Bucht Gudrun Cassel Sten- Åke Fredriksson Karin Hjalmarsson	Projektledare Ann Göransson Nyberg	
	Godkänd av Åke Sellström	
	Uppdragsgivare/kundbeteckning Fö	
	Tekniskt och/eller vetenskapligt ansvarig Ann Göransson Nyberg	
Rapportens titel Humanexponering och riskanalys – <i>vid internationella fredsinsatser</i>		
Sammanfattning (högst 200 ord) Sveriges ökande engagemang i internationella fredsfrämjande insatser medför en ökad risk att svensk trupp/personal blir exponerad för NBC-stridsmedel eller andra toxiska agens som t ex bekämpningsmedel och industrikemikalier. NBC-frågor, miljöfrågor och arbetsmiljöfrågor behöver beaktas från ett nytt perspektiv. Studier av långsiktiga förändringar av lågdosexponering för NBC-stridsmedel eller andra hälsovådliga ämnen är nödvändiga för att undvika osäkerhet om orsak till sjukdomssymtom som uppstår långt efter hemkomst från krigszon. För att kunna verifiera eller dementera exponering är det viktigt att kunna analysera biologiska prover från humant material. För preventiva åtgärder och adekvat medicinsk behandling gäller det att finna specifika markörer för exponerat ämne så tidigt som möjligt efter exponering. Målsättningen med forskningsprogrammet humanexponering och riskanalys är att genom experimentell forskning medverka till utveckling av metoder för verifikation av NBC-exponering i humana prover. I den experimentella forskningen kommer såväl cellulära exponeringssystem som djurmodeller att användas för identifiering och utvärdering av tänkbara markörer för NBC-exponering och andra hälsovådliga ämnen.		
Nyckelord Strålning, organofosfater, låg dos, långtidseffekter, biomarkörer, biologisk övervakning, proteomik, genomik		
Övriga bibliografiska uppgifter	Språk Svenska	
ISSN 1650-1942	Antal sidor: 51 s.	
Distribution enligt missiv	Pris: Enligt prislista	

Issuing organization FOI – Swedish Defence Research Agency FOI NBC Defence SE- 901 82 Umeå	Report number, ISRN FOI-R--1150--SE	Report type User report
	Programme Areas 3. Protection against Weapons of Massdestruction	
	Month year December 2003	Project no. A438
	General Research Areas 2. NBC Defence research	
	Subcategories 39. Interdisciplinary Projects regarding Protection against Weapons of Mass Destruction	
Author/s (editor/s) Ann Göransson Nyberg Daniel Johansson Eva Arvidsson Indra Svensson Rune Berglind Anders Bucht Gudrun Cassel Sten-Åke Fredriksson Karin Hjalmarsson	Project manager Ann Göransson Nyberg	
	Approved by Åke Sellström	
	Sponsoring agency MoD	
	Scientifically and technically responsible Ann Göransson Nyberg	
Report title (In translation) Human exposure and risk assessment – in international peacekeeping operations		
Abstract (not more than 200 words) <p>An increased Swedish commitment to international peacekeeping operations leads to a marked increased risk of exposure to NBC warfare agents or other agents of NBC-like nature to Swedish personnel. In this broadened threat picture that was accentuated after 11th of September 2001, a NBC catastrophe can occur in peacetime as in wartime. This new scenario will lead to a higher complexity for conceivable exposures such as biological contamination, dangerous chemicals and radiation.</p> <p>Risk management is especially important for military forces deployed in hostile chemically contaminated environments, and rapid capabilities for accessing exposures can create viable options for preventing or minimizing incapacitating exposures and latent disease or disability in the years after the deployment.</p> <p>By utilizing and further developing the ongoing research at FOI NBC Defence, a concentration of research in this area will create an extensive multidisciplinary project. Technologies and biological methods will be coordinated, especially between the areas of N and C.</p> <p>Internationally, the basis of science is always of great importance. Questions concerning the effect of chemical substances on the environment and human health are given high priority in the world today, not at least in the European Union. A Swedish condition for having an influence on the working environment for military personnel in military operations is to have access to experts who make adequate risk assessments of the effects on health from NBC warfare and other similar agents i.e. assessments based on relevant high quality research.</p>		
Keywords Radiation, organophosphates, low dose, long term effects, biomarkers, biomonitoring, proteomics, genomics		
Further bibliographic information	Language Swedish	
ISSN 1650-1942	Pages 51 p.	
	Price acc. to pricelist	

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

1. Sammanfattning	7
2. Bakgrund	8
2.1. Gulfsyndromet	8
2.2. Dagens hot	8
2.3. Ur svenskt perspektiv	8
2.4. Exponering, effekt, verifiering	9
2.5. Riskbedömning	9
2.6. FOIs kompetens och internationella betydelse	9
3. Målsättning	10
4. Uppdragsgivare/finansiär	10
5. Betydelse för totalförsvaret	10
6. Projektbeskrivning/Arbetsplan	11
6.1. Extern dos - intern dos – individuell känslighet	12
6.2. Biologisk övervakning och biomarkörer för verifikation av förgiftning	13
6.3. Aktuella frågeställningar för projektet Humanexponering och Riskanalys	15
6.4. Organisation och Metodik	16
7. Referenser	19
8. Reserapporter	21
8.1. Medical and Biological Aspects of Chemical Weapons Stockpile Demilitarization, August 25-29 2003, Volgograd, Ryssland	21
8.1.1. Rekommendationer	22
8.2. BioMEMS and Nanotech World 2003, August 25-26 2003, Washington D.C., USA	23
8.2.1. Rekommendationer	24
8.3. Research, Technologies and Applications in Biodefence, August 26-28 2003, Washington D.C., USA	25
8.3.1. Rekommendationer	25
8.4. CAN/SWE/NL Workshop on Human Verification, October 9-10, 2003, TNO-Prins Maurits Laboratory, Rijswijk, the Netherlands	26
8.4.1. Rekommendationer	28
8.5. 5CTDC 5th Congress of Toxicology in Developing Countries, November 10 - 13, 2003. Guilin, China	29
8.5.1. Rekommendationer.....	35
8.6. IInd Moscow International Congress, Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development, November 10-14 2003, Moskva	36
8.6.1. Rekommendationer.....	47
8.7. Joint Service Scientific Conference on Chemical & Biological Defense Research, November 17-20, 2003. Baltimore, USA.	47
8.7.1. Rekommendationer.....	50
9. Slutlig kommentar	51
9.1. Samarbeten	51

1. Sammanfattning

Sveriges ökande engagemang i internationella fredsfrämjande insatser medför en markant ökad risk för att svensk trupp/personal blir exponerad för NBC-stridsmedel eller andra agens av NBC-liknande karaktär som t ex bekämpningsmedel eller industrikemikalier. Det ställs högre krav på anpassbarhet för att möta ett vidgat spektrum av hot och risker samtidigt som toleransen för exponering är lägre. NBC-frågor, arbetsmiljöfrågor och miljöfrågor behöver beaktas från ett nytt perspektiv. Incidenter med bland annat utarmat uran har visat att effekter av exponering för låga doser och komplexa exponeringssituationer måste studeras på ett systematiskt sätt. Studier på långsiktiga förändringar av lågdosexponering för NBC-stridsmedel eller andra hälsovådliga ämnen är nödvändiga för att undvika osäkerhet om orsak till sjukdomssymtom som uppstår långt efter hemkomst från krigszon. För att kunna verifiera eller dementera exponering är det viktigt att kunna analysera biologiska prover från humant material. För preventiva åtgärder och adekvat medicinsk behandling gäller det att finna specifika markörer för exponerat ämne så tidigt som möjligt efter exponering.

Målsättningen med forskningsprogrammet humanexponering och riskanalys är att säkerställa totalförsvarets behov av kunskap inom området och genom experimentell forskning medverka till utveckling av metoder för verifikation av NBC-exponering i humana prover. I den experimentella forskningen kommer såväl cellulära exponeringssystem som djurmodeller att användas för identifiering och utvärdering av tänkbara markörer för NBC-exponering och andra hälsovådliga ämnen. I samarbete med berörda kliniker vid olika sjukhus kommer prover från människor som utsatts för strålning, kemiska substanser eller smittämnen att undersökas.

Vid FOI NBC-skydd bedrivs idag en omfattande biomedicinsk forskning med inriktning på studier av biologiska effekter och medicinskt skydd mot NBC-stridsmedel. Därutöver finns en bred kompetens inom området NBC-analys. Samordnade insatser inom dessa områden tillsammans med den kunskap som finns om NBC-frågor utgör en god plattform för uppbyggnad av forskningsområdet humanexponering och riskanalys.

Ett ökat nationellt och internationellt samarbete inom området kommer att eftersträvas. Sverige måste i framtiden ta hänsyn till möjliga långtidseffekter och utvecklingen går mot att ingen skall ta skada vid internationella operationer, där civila arbetsmiljölagar gäller. Humanexponering och riskanalys är ett område som kommer starkt internationellt. Med den breda kompetens som finns inom FOI NBC-skydd, har Sverige goda möjligheter att nå en framskjuten position genom denna föreslagna satsning.

2. Bakgrund

2.1. Gulfsyndromet

Det är drygt 10 år sedan man började rapportera om ovanliga symptom hos soldater som tjänstgjort i Kuwait-kriget (Roy *et al.*, 1998). Då framkom även rapporter om att barn till dessa krigsveteraner fötts med missbildningar. Gulfsyndromet blev ett begrepp, med symptom som kronisk trötthet, depression, posttraumatisk stress mm.

Flera olika hypoteser finns om orsaken till Gulfsyndromet;

1) Resultat av förebyggande behandling eller misstänkt exponering. Soldaterna vaccinerades mot biologiska vapen och andra infektionssjukdomar, samt förbehandlades mot kemiska vapen. De använde även insektsbekämpningsmedel, som organofosfatpesticider, i stor skala. Andra farhågor var att man exponerats för utarmat uran eller för rök från brinnande oljeraffinaderier.

2) Resultat av en psykosomatisk reaktion. Vetskapen om att möjligheten finns att man kan ha blivit påverkad av något under kriget kan leda till ovanliga symptom (Nisenbaum *et al.*, 2000).

3) Resultat från miljöförstöring runt om i världen. De senaste 20 åren har fler och fler patienter sökt för oförklarliga multipla symptom som kan härledas till miljön (Burke, 1999).

2.2. Dagens hot

Kemiska stridsmedel är fortfarande ett hot för mänskligheten. Nerv- och senapsgaser är de mest kända och de mest använda massförstörelsevapnen. Förutom att orsaka akut skada uppkommer flera fördröjda effekter som varken är kliniskt eller patologiskt väldefinierade. Efterverkningar på miljön och människan av dessa substanser blir mer och mer viktiga och leder antagligen till kroniska följsjukdomar hos allt levande som finns i de regioner där substanserna har använts.

Det är också möjligt att radioaktivt material kan komma att användas i fientligt syfte. Man använder sig då av s.k. ”dirty bombs”, vilka är konventionella sprängladdningar spetsade med ett radioaktivt ämne som sprider radioaktivitet i relativt låga koncentrationer i miljön. Människor utsätts då för låga doser av radioaktivitet, vilket kan öka långsiktiga risker för bl.a. cancer och fortplantningen.

2.3. Ur svenskt perspektiv

Sveriges ökande engagemang i internationella fredsfrämjande insatser medför en markant ökad risk för svensk trupp/personal att bli exponerad för NBC-stridsmedel eller andra agens av NBC-liknande karaktär. Under vissa förhållanden (liknande de som rådde under Gulfkriget) finns ett hot om användning av massförstörelsevapen, medan i andra situationer kan risken för exponering snarare bero på olyckor eller bristande säkerhet vid t.ex. kärnkraftverk eller kemiska industrier. I den breddade hotbilden som accentuerades efter den 11 september 2001, där såväl stater som subnationella terrorgrupper kan ha ambitioner att sprida massförstörelsevapen, kan en NBC-händelse inträffa i hela skalan från fred till kris och krig. Samtidigt har det nya krigs- och katastrofscenariot inneburit en högre komplexitet i tänkbara exponeringar för ett brett spektrum av smittämnen, farliga kemikalier och strålning.

2.4. Exponering, effekt, verifiering

De ökade kraven på säkerhet för svensk personal vid internationella fredsbefrämjande insatser har inneburit att hänsyn även måste tas till exponering för hälsovådliga ämnen som i sig inte ger upphov till ett akut sjukdomstillstånd. Det är fullt tänkbart att exponering för låga doser NBC-ämnen eller upprepad exponering för andra hälsovådliga ämnen initialt ger upphov till endast ringa eller försumbara symtom men på lång sikt förorsakar kroniska skador och sjukdomar. Att bestämma om en person verkligen har exponerats för en farlig kemikalie och om så är fallet, hur hög dos och hur länge är svårt och leder till stor osäkerhet. Flera faktorer kan ha en stor inverkan på den effekt substansen har på individen som exponerats. Temperatur, luftfuktighet, hudtyp, exponerad yta, yttre skydd, förbehandling, vindstyrka och riktning, substansen form (vätska eller gas), individens kondition, känslighet plus flera andra faktorer gör uppskattningen av den dos man utsätts för som ett komplext problem. Synergistiska effekter kan förekomma, oberoende av hur exponeringen sker. För att kunna bedöma riskerna med en människas sammantagna exponering behövs såväl kunskap om exponeringen som om ämnenas farliga egenskaper var för sig och tillsammans.

2.5. Riskbedömning

Det finns inget tvivel om organofosfaters akuta toxiska effekt på det humana nervsystemet, däremot vet man väldigt lite om effekter av kronisk exponering vid låga doser (Fulco *et al.*, 2000; Trojan *et al.*, 1999). Studier på långsiktiga förändringar av lågdos-exponering för NBC-stridsmedel eller andra hälsovådliga ämnen är därför nödvändiga för att undvika osäkerhet om orsak till sjukdomssymtom som uppstår långt efter hemkomst från krigszon. För att kunna verifiera eller dementera exponering är det viktigt att kunna analysera biologiska prover från humant material. För preventiva åtgärder och adekvat medicinsk behandling gäller det att finna specifika markörer för exponerat ämne så tidigt som möjligt efter exponering (Zhitkovich & Costa, 1998).

Den toxikologiska forskningen är av stor betydelse för utvecklande av verktyg och metoder för risk- och farlighetsbedömningar och för forskning om samband mellan dos/respons och exponering. Andra strategiskt viktiga frågor är att utveckla kunskapsunderlaget för kemiska ämnen och ämnesgrupper som kan komma att utgöra ett hot, samt att ta fram kunskap om kriterier och metoder för snabb riskbedömning av dessa ämnen.

2.6. FOIs kompetens och internationella betydelse

Genom att nyttja och vidareutveckla den befintliga forskningen vid FOI NBC-skydd ingår hela NBC-området i denna forskningsinsats vilket skapar en helhet i konceptet. Motiv för att skapa en samordnad NBC-strategi är att teknologier och i viss mån även biologiska modeller kommer att samutnyttjas. Närliggande metodologiska och biologiska frågeställningar finns framförallt inom N- och C-området där verksamheterna i stor utsträckning kan integreras. Forskningsprojektet **Humanexponering och riskanalys** kommer även att sträva efter nationella och internationella samarbeten.

I samtliga internationella sammanhang har det vetenskapliga underlaget stor tyngd. Frågor rörande effekter av kemikalier på miljö och människors hälsa har brännande aktualitet inom EU och i andra fora. En förutsättning för att Sverige skall kunna påverka svensk personals arbetsmiljö är att vi har tillgång till experter som kan göra riktiga bedömningar av hälsorisker med NBC-stridsmedel och andra liknande agens, baserade på relevanta forskningsresultat av hög kvalitet.

3. Målsättning

Syftet med forskningssatsningen är att säkerställa totalförsvarets behov av kompetens inom området humanverifikation och riskanalys vid exponering för NBC-stridsmedel och andra agens av NBC-liknande karaktär.

Målsättningen är

- att genom experimentell forskning utveckla metoder för verifikation av NBC-exponering i biologiska prover.
- att skapa underlag för bedömning om exponeringen har medfört allvarlig skada som kräver akut medicinsk behandling eller om det finns risk för utveckling av långsiktiga icke-akuta effekter.
- att stärka befintliga nätverk och utveckla nya för forskningssamarbete med såväl nationella som internationella aktörer inom området.

4. Uppdragsgivare/finansiär

År 1: Försvarsdepartementet (Fö). Finansiering utanför Fö ska undersökas. Intressenter är bl.a. Generalläkaren, Socialstyrelsen, KBM och FM.

5. Betydelse för totalförsvaret

Att kunna verifiera exponering för NBC-stridsmedel och/ eller liknande agens, samt att bedöma riskerna för dessa är av starkt intresse internationellt. Kunskap för totalförsvaret inom detta område är därför av stor betydelse, vilket kan säkerställas genom kompetensuppbyggande forskning. Vid FOI NBC-skydd bedrivs idag en omfattande biomedicinsk forskning med inriktning på studier av biologiska effekter och medicinskt skydd mot NBC-stridsmedel. Därutöver finns en bred kompetens inom området NBC-analys. Samordnade insatser inom dessa områden tillsammans med den kunskap som finns om NBC-frågor utgör en god plattform för uppbyggnad av **Humanexponering och Riskanalys** som forskningsområde. Avsikten är att etablera en forskningsverksamhet av hög relevans för totalförsvaret där utnyttjande och i vissa fall framtagande av nya teknologier för analys av biologiska prover utgör en central del. Detta förslag på forskningsprogram inom området **Humanexponering och Riskanalys** kommer att leda till utveckling av metoder för verifikation av NBC-exponering i humana prover och dessutom ge underlag för medicinsk bedömning och behandling. Genom att i metodutvecklingen även inkludera metoder som kan vidareutvecklas för snabb verifiering i fält, kan erhållna resultat omsättas till en operativ funktion i det planerade NBC-kompaniet eller andra insatsstyrkor. Kunskapen nyttiggörs genom expertstöd till andra försvarsmyndigheter och för regeringens behov samt i vissa fall genom information till allmänheten. Projektet bidrar även med expertkunskap till annan Fö-verksamhet vid FOI.

6. Projektbeskrivning/Arbetsplan

Humanexponering och riskanalys, HERA

I projektet humanexponering och riskanalys inryms en framtidsorienterad forskningsverksamhet med långsiktig ambition att etablera en strategisk plattform inom området för hälsorisker vid långtidsexponering för låga doser av NBC – agens.



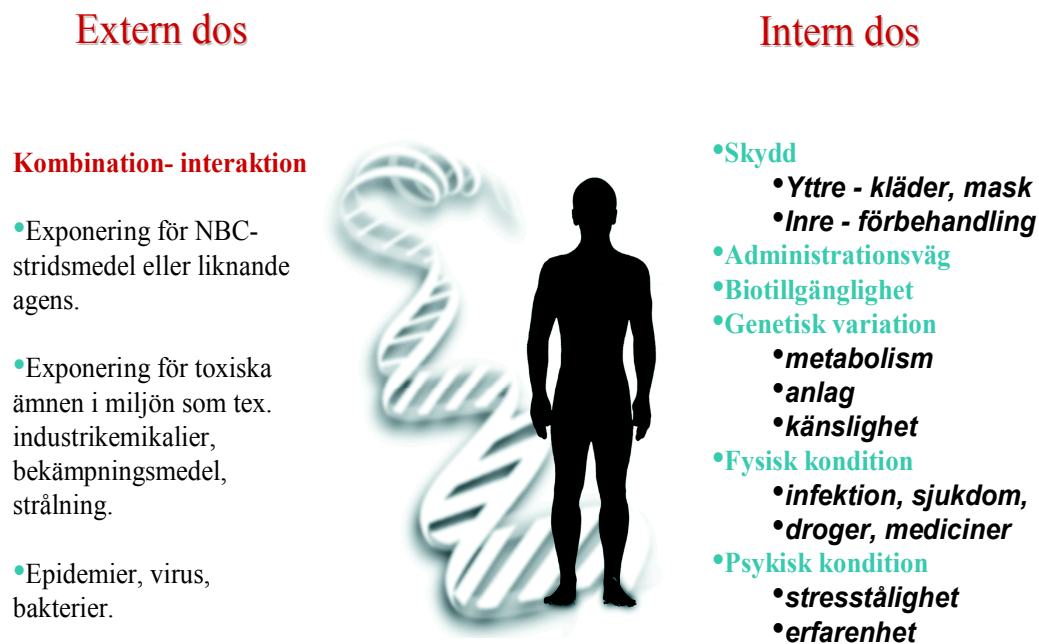
Inom ramen för den plattformen kommer en molekylärbiologisk och genetiskt inriktad verksamhet att successivt byggas upp med målsättningarna att 1) Studera hormonella, immunologiska och neurologiska störningar i organismen; 2) Identifiera specifika tidiga och sena biomarkörer för att verifiera en exponering; 3) Studera komplexa exponeringssystem och 4) Kartlägga samspelet mellan exponering för NBC-ämnen och individens nedärva benägenhet att drabbas av svåra skador. Denna forskning avser att hålla en hög vetenskaplig nivå och genomförs i stor utsträckning i internationellt samarbete. Struktureringen av den strategiska forskningsplattformen framgår av figuren ovan.

6.1. Extern dos - intern dos – individuell känslighet

Traditionellt har riskbedömning för human exponering av toxiska substanser utförts och förutspått genom att analysera omgivningen. Idag vet vi att den externa dosen inte är den samma som den biologiskt aktiva dosen.

Trots att olika individer utsätts för samma exponering kan genetiska skillnader i metabolism leda till väsentliga skillnader i dos vid målorganet och på så sätt ge olika nivåer av svar. Även när dosen vid målorganet är densamma, kan väsentliga skillnader i svar noteras hos individer på grund av olika grad av nedärvd biologisk känslighet. Biomarkörer för känslighet kan spegla de nödvändiga eller genetiska faktorer som påverkar svaret vid en exponering.

I framtiden är det sannolikt så att de arvsanlag som påverkar prestationsförmågan, känsligheten för biologiska och kemiska agens samt läkemedel kan identifieras. Detta gäller även den individuella känsligheten för omgivande miljö, stress och sjukdomar. I framtiden är det därför viktigt att ta hänsyn till både genetiska faktorer och individuell känslighet när man utför en riskbedömning.



Den externa dosen påverkas av flera faktorer som också interagerar med varandra och kan ha synergistiska effekter. Till exempel kan individer samtidigt exponeras för flera NBC-agens plus industrikemikalier, bekämpningsmedel och sjukdomar.

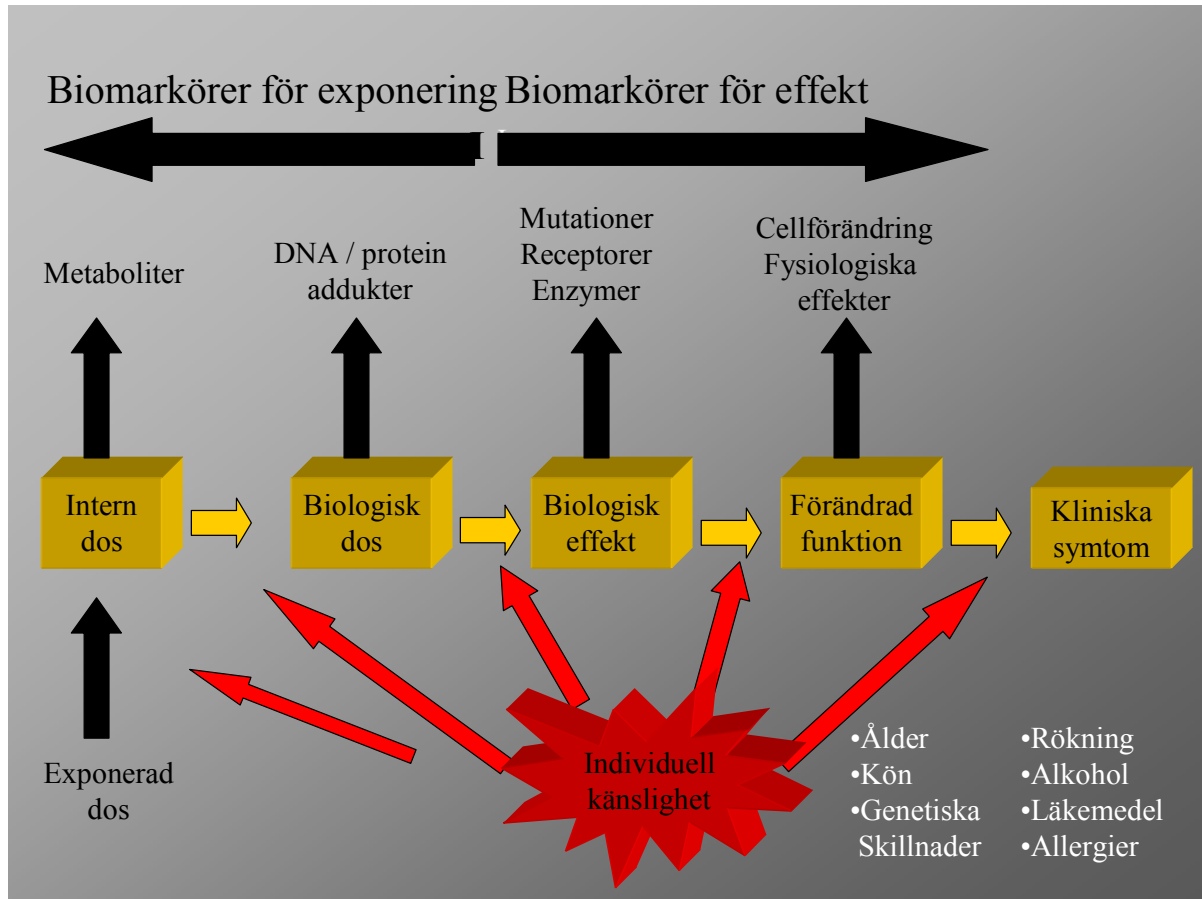
För att göra en riktig riskbedömning av en individs totala exponering krävs kunskap om både hur man blivit exponerad, samt om substansernas enskilda och sammanlagda toxicitet.

6.2. Biologisk övervakning och biomarkörer för verifikation av förgiftning

Biologisk övervakning kan delas upp i tre olika delar: (a) biologisk övervakning av *exponering*, (b) biologisk övervakning av *effekt* och (c) biologisk övervakning av *känslighet*.

a) Biologisk övervakning av exponering

Biologisk övervakning av exponering kan delas upp i (a) övervakning av *intern* dos och (b) övervakning av *effektiv* dos.



Övervakning av intern dos: Med biologisk övervakning av intern dos menas att ett agens eller dess metabolit mäts i något biologiskt prov. Oftast analyseras urin eller blod men det är även möjligt att analysera utandningsluft, avföring, fettvävnad, hår, naglar, saliv eller bröstmjölk. Metoderna kan dels vara specifika och dels ospecifika.

De *specifika metoderna* innebär att kemikalien eller en metabolit till denna analyseras. Denna typ av metod utgör huvuddelen av de metoder för biologisk övervakning som används rutinmässigt. De *ospecifika metoderna* används som indikatorer på exponering av en hel grupp av kemikalier. Tyvärr har de ospecifika metoderna en stor interindividuell skillnad vilket leder till att dessa tester endast kan användas på gruppnivå och ej användas till att uppskatta individuella exponeringar.

Övervakning av effektiv dos: Dessa metoder visar *direkt* eller *indirekt* på mängden kemikalie som finns på det ställe där denna utövar sin verkan. Det mest kända exemplet är mätning av kolinesteras efter exponering för nervgas. På senare tid har metoder för att uppskatta exponering för genotoxiska föreningar tagits fram genom att mäta addukter mellan kemikalien och makromolekyler. Metoderna kan visa direkt på halten bundet till DNA genom

att mäta addukter mellan kemikalien och DNA. Ofta har man dock valt en mer indirekt metod genom att i stället analysera halten addukt till proteiner. Fördelen med detta är att addukterna med proteiner ofta är mer stabila och visar därmed på en längre tids exponering. DNA-addukterna utsätts däremot för en ständig reparation.

b) Biologisk övervakning av effekt

Det finns många potentiella markörer som kan visa på biokemiska effekter från en kemikalie. Dessa kan delas in i två olika kategorier: (a) markörer som visar på en *patologisk effekt* och (b) markörer som visar på effekter som är *reversibla och ofarliga*. Biologisk övervakning av effekt innefattar av definition endast den senare kategorin.

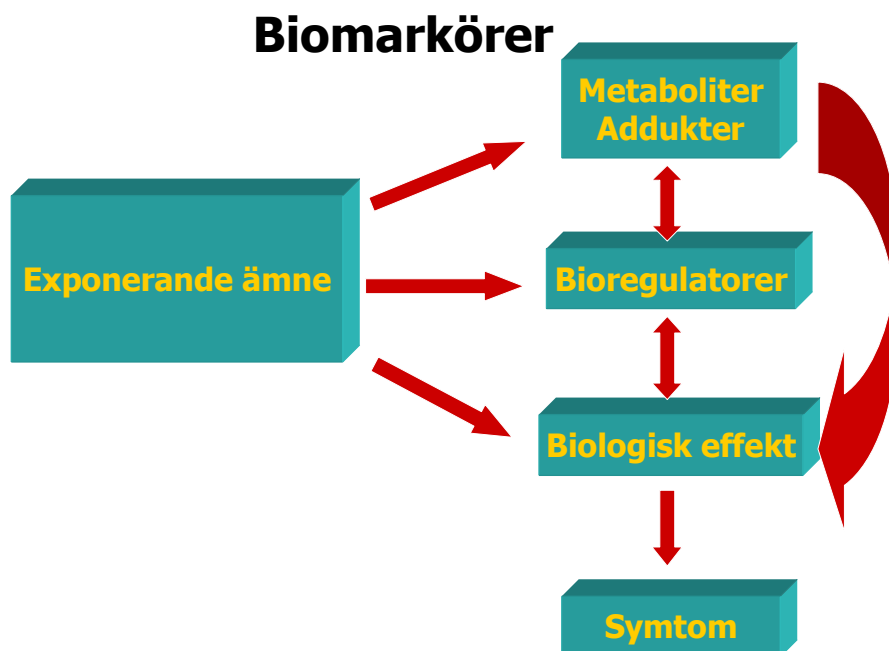
c) Biologisk övervakning av känslighet

Dessa markörer visar på en individuell känslighet på exponering för ett visst ämne och kan påverkas av till exempel alkohol, ålder, kön mm. Den snabba utvecklingen inom molekylärbiologin de senaste åren kommer att ge nya metoder för biologisk övervakning av känslighet.

Inverkan av toxikokinetik

Toxikokinetik beskriver kemiska ämnens öde i organismen. Detta studeras genom att mäta främmande kemiska ämnen och deras metaboliter i blod, urin och saliv.

Toxikokinetisk data är mycket viktig för utarbetande av biologiska övervakningsmetoder och för toxikologisk riskbedömning. Den framför allt viktigaste parametern är halveringstiden för en kemikalie, dvs. den tid det tar för en kemikalie att minska till hälften i kroppen. Denna parameter visar dels på när ett biologiskt prov ska tas och dels på vilken exponeringstid provet speglar.



Figuren ovan beskriver den kaskad av skeenden som startar i en organism efter exponering av främmande substans. Figuren visar även på inbördes beroende.

6.3. Aktuella frågeställningar för projektet Humanexponering och Riskanalys

Hur kan man i en experimentell djurmodell följa exponerings- resp. effektmarkörer vid förgiftning med låga doser NBC-agens?

Avsikten är att utveckla en råttmodell där man med telemetrisk utrustning kontinuerligt kan följa fysiologiska parametrar som EEG, EKG, blodtryck, andning, kroppstemperatur och aktivitet. Låg dos exponering ska ske med hjälp av en osmotisk pump inopererad under huden som kontinuerligt frisätter den substans som ska studeras.

Hur mäter man tidiga tecken på kroniska effekter av lågdosexponering av NBC-agens?

Avsikten är att utveckla och använda känsliga metoder för att tidigt kunna påvisa markörer som förutspår sena effekter av en exponering.

Exempel:

- Funktionsgenomik, klarläggande av de olika genernas funktioner. I och med att samtliga gener är kända hos en organism är det t.ex. möjligt att på ett systematiskt sätt studera hur yttrycket av alla gener som är aktiva i en viss vävnad förändras vid olika tillstånd. Den analysteknik som används brukar kallas mikromatris (eng. *microarray*).
- Proteomik, analys av de proteiner som kodas av de enskilda generna. De analystekniker som används är bla 2D-gel, MALDI och SELDI.
- Biodosimetri, bestämning av stråldoser i biologiskt material
- Biomarkörer för
 - hormonell påverkan
 - inflammation
 - neurologisk skada

Hur tas kemiska ämnen upp och vad händer med dem i kroppen?

Detta studeras genom att mäta främmande kemiska ämnen och deras metaboliter i blod, urin och saliv.

Denna kunskap är en viktig del i toxikologisk riskbedömning, t.ex. för att extrapolera

- från yttre exponering till måldos
- från yttre exponering till biologiska exponeringsmarkörer
- från djur till människa
- från höga doser till låga doser
- mellan olika administreringsvägar

Faktorer som kan påverka upptag och omsättning, är tex:

- Genetiska faktorer
- Kön
- Fysiskt arbete
- Tobaksrökning
- Alkohol
- Medicinering

Hur påverkas hälsoeffekten av NBC-agens om genetiska skillnader i känslighet finns?

Den snabba utvecklingen inom molekylärbiologi ger nya möjligheter att finna biomarkörer för individuell känslighet som kan användas i riskbedömning.

Avsikten är att studera:

- Polymorfism, dvs variationer i befolkningens gener som styr biotransformationen och deras samband med risk för sjukdom
- Sambanden mellan yttre exponering, måldos och tidiga effekter hos grupper med olika genetiska varianter.

Aktuella exponeringsfaktorer:

Projektet kommer i första hand att inrikta sig på förgiftning med nervgasen VX parallellt som organofosfat pesticiden klorpyrifos studeras.

När de olika metoderna är etablerade och substanserna studerade var för sig är tanken att multiexponeringar ska studeras där joniserande strålning blir en av dessa.

6.4. Organisation och Metodik

Projektet delas in i fyra aktivitetsområden som på flera sätt samarbetar och delar teknologier.

I. Tokikologisk/fysiologisk registrering av kronisk exponering för låga doser av kemiska agens *in vivo*

Identifiera markörer för effekt av kemiska stridsmedel och/eller andra toxiska agens genom registrering av fysiologiska parametrar som EEG, blodtryck, andning, temperatur och rörelser i djurmodeller. En ny telemetrisk utrustning behövs för att kunna göra detta på vakna djur under en längre tid. Effektmärkare ska även identifieras i blod och urin, med inriktning på hormonella, neurologiska och immunologiska störningar.

II. Tokikologisk/fysiologisk registrering av kronisk exponering för låga doser av kemiska agens *in vitro*

Identifiering av markörer för effekt av kemiska stridsmedel och/eller toxiska agens i humana cellinjer som neuroblaster och lymfocyter. Utveckla en modell för blod-hjärnbarriären *in vitro* för att studera olika agens påverkan på permeabiliteten hos densamma.

III. Analys av biologiska prover för verifiering av förgiftning med kemiska agens

Identifiering av markörer för exponering av kemiska stridsmedel och toxiska industrikemikalier. Utveckling av metoder för och analys av metaboliter och markörer i bl.a. blod och urin. Retrospektiv exponeringskontroll genom påvisande av specifika DNA-och protein-addukter mer etablerad (GC, GC-MS) och ny metodik (LC-MS, MALDI). Att utvärdera och utveckla metoder för storskalig screening av biologiskt material för biomarkörer som snabbt kan indikera exponering av OP.

IV. Exponering för strålning

Utveckling av metoder med hjälp av biologiska markörer för verifikation av akut exponering för låga och moderata doser av radioaktiv strålning, samt retrospektiv verifikation av radioaktiv exponering (biodosimetri). Studera kromosomala avvikelser vid både akut och kronisk exponering för låga och höga doser av radioaktiv strålning med traditionella metoder, den dosimetriska metoden och FISH (fluorescence in-situ hybridization), liksom även en ny metod (PCC, premature chromosome condensation).

År 1 (2004):

- Etablera experimentell djurmodell för att studera effekter av lågdosexponering av VX (se nedan).
- Etablera *in vitro* modell för att studera lågdosexponering och långtidseffekter.
- Utifrån litteraturstudier identifieras kandidatmarkörer.
- Initiera metoder för analys av kandidatmarkörer i serum och urin.
- Initiera metodik för storskalig screening av protein- och genuttryck i syfte att identifiera nya markörer.
- Delprojekt IV är redan etablerad på FOI och fortsätter med pågående verksamhet.

År 2 (2005):

Studierna från år 1 fortsätter och kompletteras ytterligare med

- Studera andra kemiska agens som tex pesticider
- Studera toxikokinetik/toxikodynamik
- Studera dos-respons
- Validering av kandidatmarkörer i djurexperimentella exponeringsmodeller.
- Påbörja proteomik- och genomikanalyser av serumprover från djurförsök.

År 3 (2006):

Studierna från år 1 och 2 fortsätter och kompletteras ytterligare med

- Studera multipla exponeringar för toxiska agens
- Studera olika upptagningsvägar i kroppen för toxiska agens.
- Studera individuell känslighet
- Upprätta modellprogram för att kunna prediktera substansers interna dos och toxicitet.
- Utvärdera de testade biomarkörernas möjlighet att ge information om typ av kemisk exponering och grad av skada. Korrelation med sjukdomsparametrar.
- Identifiera nya kandidatmarkörer.

Djurexperimentell modell för långtidsstudier

Flera moment är oerhört viktiga vid långtidsstudier av förgiftning med låga doser på vakna djur.

1. att undvika moment som för råttorna är stressande
2. att göra kontinuerliga registreringar av fysiologiska parametrar vid exakt samma tidpunkter på dygnet.
3. att administrera den substans man vill studera i en kontinuerlig dos

För att undvika ovanstående störningar kommer en ny djurmodell att sättas upp inom projektet HERA där följande åtgärder vidtas

1. Djuren skall skötas av för dom känd personal i rum frånskilt från andra djurrum. Ljus och värme enligt bestämda normer. Fri tillgång till vatten och föda.
2. Telemetrisk mätning är en ny teknik som utvecklats vilket minskar påverkan på djuren som till exempel stress och lidande. Telemetri innebär att man på det sövda djuret opererar in en mikrogivare, som kontinuerligt mäter fysiologiska funktioner, t ex blodtryck, och skickar det trådlöst till mätsystemet. En liten dosa, ca 2x1 cm, opereras in i djuret. Dosan innehåller mätapparat och en radiosändare, vars signaler uppfattas av en mottagare som ansluts till en dator. Detta innebär att djuren kan röra sig fritt och

att man har fortlöpande kontroll över djurens tillstånd. För vidare information se <http://www.cerb.fr/Telem.htm>

3. Osmotisk pump som innehåller den substans man skall studera placeras under bedövning i nacken eller i buken, och levererar preparatet i doser som kan ställas in på förhand. Pumpen fungerar på så sätt att i ett hölje runt behållaren som innehåller själva substansen finns koncentrerad NaCl. När vatten genom osmos kommer in i höljet pressas behållaren ihop och preparatet trycks ut. Detta system har visat goda resultat med kontinuerlig dosering och få bieffekter. Doserna kan ställas in på förhand genom att välja olika storlekar på pumpen. För vidare information se <http://www.alzet.com/>

7. Referenser

- Burke, D., The recent excitement over genetically modified food. In: Bennett P., Calman K. (eds). *Risk communication and public health*. Oxford: Oxford Medical Publications, 1999: pp. 140–151.
- Elson, E., Report on possible effects of organophosphate “low-level” nerve agent exposure. Unpublished memorandum for the Deputy Assistant Secretary of Defense for Health Affairs (Clinical Services). Undated.
- Fulco, C., Liverman, C., Sox H. (eds). *Gulf War and health: Volume 1. Depleted uranium, sarin, pyridostigmine bromide, vaccines*. Washington DC: Institute of Medicine, 2000.
URL<http://www.gulflink.osd.mil/pest_final/index.html>
- Marrs, T.C., Maynard, R. L., Sidell, F.R., A History of Human Studies With Nerve Agents by the UK and USA. Chapter 5 in “Chemical Warfare Agents.” 1996, John Wiley & Sons Ltd. Chichester, England.
- Nisenbaum, R, Barrett, D.H., Reyes, M., Reeves, W.C., Deployment stressors and a chronic multisymptom illness among Gulf War veterans. *J Nerv Ment Dis* 2000; **188**: pp.259–266.
- Perrotta, D.M., Long-term health Effects Associated with Sub-clinical Exposures to GB and Mustard. Armed Forces Epidemiological Board, 1996.
- Roy, M., Koslowe, P., Kroenke, K., Magruder, C., Signs, symptoms and ill-defined conditions in Persian Gulf war veterans: Findings from the Comprehensive Clinical Evaluation Program. *Psychosom Med* 1998; **60**: pp. 663–668.
- Sidell, Frederick R., Hurst, Charles G., Long-term health effects of nerve agents and mustard. In Textbook of Military Medicine: Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare (eds. F.R. Sidell, E.T. Takafuji and D.R. Franz). Department of the Army, Office of the Surgeon General and Borden Institute: Washington, D.C., pp. 229-246, 1997.
- Trojan, D.A., Collet, J.P., Shapiro, S., Jubelt, B. *et al.* A multicenter, randomized, double-blinded trial of pyridostigmine in post polio syndrome. *Neurology* 1999; **53**: pp. 1225–33.
- Winkenwerder, Jr. W., Environmental Exposure Report: Pesticides Final Report April 17, 2003.
- Zhitkovich, A. and Costa, M., Biologic markers. *Environmental and Occupational Medicine*. Third Edition, edited by William N. Rom. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1998, pp. 177-186.

8. Reserapporter

8.1. Medical and Biological Aspects of Chemical Weapons Stockpile Demilitarization, August 25-29 2003, Volgograd, Ryssland

Författare: Gudrun Cassel

Sammanfattning

Via Mats Könbergs kontakter med den ryska federala myndigheten "MedBioExtrem", som har ett ansvar för medicinska frågor i anslutning till den ryska CW-destruktionen, fick vi en inbjudan till en konferens "Medical and Biological Aspects of Chemical Weapons Stockpile Demilitarization" i Volgograd under augusti 2003. Där redovisades ett klart behov på den ryska sidan av olika former av kontakter och stöd för att på ett bra sätt klara de medicinska behoven i anslutning till destruktionsplatserna. Konferensen hade 125 deltagare från 7 länder däribland ett antal intressanta och kunniga forskare från Ryssland, personer som var värda att skapa bra kontakter med. I det stora hela inser jag att de har mycket att berätta rörande hälsoeffekter på befolkningen som har eller har haft kontakt med kemiska stridsmedel.

Valentina Rudneva från ISTC i Moskva inledde konferensen med att peka på behovet av både nationellt och internationellt gångbara lösningar på problemen runt destruktion av kemiska vapen.

Första sessionerna handlade sedan mycket om gränsvärden för kemiskt avfall. Fick inte helt klart för mig vad dessa gränser var. Men att man klart överstiger dessa värden i närheten av de plaster när man nedmonterar och förstör kemiska vapen visades. Många undersökningar från området runt lagren i Gorny diskuterades. Där man låg högt över gränsvärden. Märkligt var att för lewisit var det hygieniska gränsvärdet mycket lägre än i USA. I övrigt överensstämmer värdena bra mellan de både stora länderna som båda har krav på destruktion av kemiska stridsmedel.

MD Boris Filatov från Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology diskuterade i sitt anförande runt övervakning och registrering av hälsoproblem runt olika anläggningar. I studier gjorda på befolkningen i Gorny har man hittat höga halter av arsenik och andra tungmetaller. Preliminära resultat rörande sjuklighet hos tonåringar och barn i Krasnopartizansk regionen visade på högre grad av tex anemi i jämförelse med kontrollregioner som Ershovsk och Pugachevsk.

Dr. Britanov höll ett föredrag om erfarenheter från de första destruktionerna av alkylterande ämnen. Där hade halter långt över tillåtna gränsvärde mäts upp. Han visade hur man tekniskt hade byggt upp speciella övervakningssystem för medicinsk - hygienisk kontroll.

Professor Alexandrov som var chef för miljötoxikologerna vid "Research Institute of Hygiene, Toxicology and Occupational Pathology" i Volgograd. Han pratade sig varm för alla fall av exponerade patienter och påstod sig ha mängder av data om detta. Visade bl.a studier där man hittat dominerande så kallad autoimmun lik metabolisk reglering (ca 34%) i

grupper som varit akut förgiftade av OP. Medan också icke akut förgiftade visade på samman tendens om än lägre procenttal (ca 29%).

De har också visat på kromosomstörningar men tyvärr kunde jag inte bedöma hur realistiska deras resultat kan vara. Men jag tycker det är värt att fortsätta diskussionerna med denna grupp. Han var mycket intresserad att tillsammans med **Dr. Ludmila Ustinovich**, som studerat immunostimulatorers effekt på nervgasförgiftningen, besöka det svenska BC symposiet i Göteborg nästa år.

Organofosfaten VX inverkan på pre och post natal utvecklingen av fostret likaväl som spermakvaliteten var för mig något nytt. Det var 2 forskare från Volgograd, **Dr. Tochilkina** och **Dr. Maslennikov** som visade upp tankvärda resultat av sina studier.

”Research Institute of Hygiene, Occupational and Human Ecology” i St. Petersburg var representerade av 2 personer, **Dr. Andrew S. Radilov** och hans underordnade ”Senior Researcher” **Dr. Nikolai Goncharov**. Dessa båda presenterade intressanta arbeten som handlade om biologiska markörer för 8-10 olika gifter i en blandning. Toxikometri efter VX och sarin exponering med, som de påstod, klara bevis för toxisk påverkan. Goncharov presenterade resultat från långtidsförsök på djur där 9 mån kronisk exponering av VX. Han påvisade en hel del relationer mellan molekylära, cellulära och systemiska effekter vid kronisk förgiftning som kan förklara en del av neuropatologin man kan se. De var mycket angelägna om kontakter med oss. Har erhållit en lista på 30 förslag av studier de vill göra.

Från ”Institute of Toxicology” i St.Petersburg var **Prof. Alexandrov Petrov**, chef för Psychofarmakologiska laboratoriet närvarande. Han presenterade deras medicinska skydd mot kemiska vapen. Tyvärr var översättaren något förvirrad så jag missade mycket av innehållet. Försökte skriva av de ryska OH bilderna men detta var inte så lätt. Har kontaktat Petrov och ingett önskemål om kopia på OH bilderna. Hoppas de kommer. Det var annars de vanliga Aminostigmin, benactylin, scopolamine, apophen, pentafine, galantamin och oximerna; Karboxim, TMB-4, HI 6, Toxogonin, 2-Pam han pratade om.

De hade gett ut Guidelines för behandling av nervgasskadade där man refererat symptom till rekommendation till behandling.

På mötet deltog också **Bitr. GD för GosNIIOKhT** (State Scientific Center of Russian Federation ”State Research Institute of Organic Chemistry and technology”) **Dr FOKIN** och 2 av hans medarbetare.

MD Olga Y. Yarmash ansvarig Chef för katastrofenheten (Regional Commeteé of Medical Service Department of Emergency) i Volgograd berättade lite om deras erfarenheter inför planläggningen av katastrofberedskapen.

Det framkom att vid incidenten i Moskva, när fentanyl användes vid terroristattacken mot teatern, var ledningsfunktionen katastrofalt dålig. Det fanns ingen upprättad kontakt mellan de olika aktörerna i området vilket medförde fördröjningar i omhändertagandet av patienter med behov av akutsjukvård. Därför ser man idag över samordnings- och ledningsfunktionen vid stora katastrofer.

8.1.1. Rekommendationer

Vi vill gärna se mer av resultaten från alla ryska grupper som jag ovan kortfattat redovisat deltagit i mötet. Detta skulle vara till nytta för vår verksamhet och kanske bespara oss från onödigt arbete. Eftersom de inte alltid publicerar sig i internationella tidskrifter är det

av stort värde att knyta kontakter för att bättre kunna värdera deras resultat. Därför arbetar vi vidare med att försöka arrangera en Workshop i Moskva.

8.2. BioMEMS and Nanotech World 2003, August 25-26 2003, Washington D.C., USA

Författare: Karin Hjalmarsson

Sammanfattning

Konferensen var framför allt inriktad på utnyttjande av nanoteknik och fluidik för att utveckla sensorer och system för analys. Några exempel kom dock på applikationer med relevans för identifiering av biosignaturer och biomarkörer.

Ca 230 deltagare vid konferensen, varav ca 40-50% kom från industrin. Mer än 90% av deltagarna var från USA. Ett flertal av presentationerna finns som pdf-fil på CD-skiva som delades ut.

1. Plenarföreläsningar, 8 st

Under föredraget "Integrated nanosystems for real-time analysis of cancer cells" (M.L. Roukes, Applied physics and Bioengineering, California Institute of Technology) presenterades NanoSystems Biology Alliance (NSBA), vilken är en sammanslutning mellan Caltech och UCLA. De har en hemsida (www.nanosysbio.org). Målet för alliansen är att möta utmaningar för att etablera ultrasnabb diagnostik (bl a av cancer) genom att integrera nanoteknik, mikrofluidik, cancer biologi och immunologi. Som grund skall ligga den molekylära responsen av normala och "sjuka" celler och immunsystemet under start och framåtskridande av ett sjukdomstillstånd. Ett systembiologiskt angreppssätt skall användas inkluderande koordinerad mätning av molekylära signaturer för gener och proteiner.

2. Nanoteknik

Nanotechnology in drug delivery and therapy, 3 föredrag

Molecular Surface engineering for the biological interface, 3 föredrag

Interfacing cells with micro and nano technologies, 3 föredrag

Nanoassays and probes, 2 föredrag

3. BioMEMS

Biochip design, 3 föredrag

Ett intressant föredrag var "*DNA chip flow cell design issues and concepts for integrated sample amplification and labeling*" (M.R. McNeeley, BioMicro Systems, Inc., Salt Lake City, USA). Det presenterades ett nytt koncept (MAUI system) för provupparbetning och hybridisering i en mikroarrayapplikation. Genom detta system skall både känslighet och reproducerbarhet ökas. Första generationens system utvärderas för närvarande av 12 laboratorier.

Mass spec interface, 3 föredrag

Ett intressant föredrag var "*Automated nanoelectrospray mass spectrometry: A chip-based strategy for high-throughput bioanalysis*" (T. Corso *et al*, Advion BioSciences, Inc., USA). Målet för gruppen är att utveckla metoder och utrustning för "high-throughput"

bioanalytisk förmåga. Applikationerna som visades baseras på chip-baserad nanoelektorspray masspektrometri. ESI chipet är en array av 100 munstycken som kan användas sekventiellt för att spraya individuella prov i 96-håls plattor. Angivna applikationer var t ex identifiering av biomarkörer (serum-baserad diagnostik av äggstockscancer). Utfördes genom att 20 µl serum (spätt 1000 gånger) överfördes till brunnar i 96-hålsplatta. Analys i masspektrometer, med efterföljande dataanalys utnyttjande ProteomeQuest mjukvaran för identifiering av skillnader mellan kontroll och cancerprov. Masspektrometern som utnyttjades var en Micromass Q-TOF micro. Modellen hade en känslighet om 87 %, specificiteten var 84 % och det gick att identifiera 10 av 11 patienter med stadium 1 av äggstockscancer.

Innovations in microfluidic design, 3 föredrag

Minimally invasive technologies, 3 föredrag

4. Clinical applications, Applying MEMS to medicine, 5 föredrag

5. Funding opportunities in the federal government

6. Posters, 31 posters presenterades

Fokus för de flesta posters låg på utveckling av nya sensorer (biosensorer, biochip), framför allt för detektion/analys av bakterier, virus och toxiner. För projektet intressant poster var "*Quantitative protein expression profiling of the NCI-60 cancer cell lines using "reverse phase" protein lysate microarrays*" (Nishizuka *et al*, Genomics and Bioinformatics Group, Laboratory of Molecular Pharmacology, National Cancer Institute, National Institutes of Health). Tidigare har gruppen använt 2-D PAGE och cDNA mikroarray för att undersöka expressionsprofiler på protein och RNA nivå. Nu har gruppen utvecklat en proteinlysats mikroarray med >600 spots. Arrayen inkluderar 60 cellinjer som spottats i 10 2-stegs spädningar. För att kvantifiera individuella proteiner i spotten har monoklonala antikroppar använts (tillsammans med Catalyzed Signal Amplification). Mer än 50 monoklonala antikroppar (motsv >50 olika proteiner) har använts. Gruppen har använt tekniken för att identifiera markörer vilka skiljer mellan tarm- och äggstockscancer med okänd bakgrund.

8.2.1. Rekommendationer

Då flera av de områden och tekniker som belystes vid konferensen har stor framtida relevans för möjligheten att analysera och detektera måste utvecklingen inom området följas.

8.3. Research, Technologies and Applications in Biodefence, August 26-28 2003, Washington D.C., USA

Författare: Karin Hjalmarsson

Sammanfattning

Konferensen var tämligen mager och gav ingen komplett bild av vad som händer inom Biodefence-området i USA. Dock kom för HERA-projektet en del intressant information, speciellt vad gäller möjligheten att identifiera biosignaturer.

1. Overview session

Fem föredrag av övergripande karaktär

2. Emerging company showcase

Elva föredrag varav ett är intressant ur HERA-projektets synvinkel.

"Detecting microbial signature profiles using gene expression time series analysis" (B. Goertzel, Biomind LLC, USA). Föredraget beskrev Biomind AI, en integrerad bioinformatik mjukvara. Kopplar allmänna databaser för att få ny information. Programmet försöker identifiera intressanta regulatoriska mönster. Programmet utgår från en tidsserie av genuttrycksvärden och ger som "out-put" en lista på regler som karakteriserar mönster som finns i in-data. Mjukvaran har testats på publicerade experimentella data (Boldrick *et al*, 2002, PNAS 99:972-977). Uttrycket av ca 10 gener kan avslöja om en person är infekterad (*B. pertussis*, *S. aureus*).

3. Detecting and characterizing biological agents

Fyra föredrag varav 1 intressant: *"Complex biosignatures of infection"* (R. Lyons, University of New Mexico Health Science Center, Albuquerque, USA). Talade om de olika elementen av biosignaturer: Genomik, Proteomik, Patologi och Fysisk undersökning. Föredraget berörde alla dessa fyra elementen. Presenterade försök som gjorts med 30 musstammar, varav 9 var knock-outs. Analyserade 10 möss per stam under en tidsperiod som varade mer än 40 veckor. För analysen användes Luminex assay (multiplex). Antalet datapunkter som erhöles översteg 100 000, vilka analyserades för att upptäcka markörer. Fastställde först base-line, för att utesluta proteiner vilkas variation var alltför stor. Kunde identifiera fyra proteiner (Apo A1, IgA, FGF-Basic, Ribosomal P Ab) av 75 (lista över dessa finns i pdf-fil) vars uttryck avslöjar om en mus har högt eller lågt blodtryck. Arbetet finansieras av DARPA. Ett konsortium (Biosignature Consortium) har bildats i vilket UT Southwestern, Univ of New Mexico och Lawrence Livermore ingår.

4. Stimulating immune response, developing vaccines and therapeutics

Fem föredrag av marginellt intresse för HERA-projektet.

5. Poster session

Nio poster presenterades vid mötet.

8.3.1. Rekommendationer

De arbeten som redovisades av B Goertzel och R Lyons bör följas upp.

8.4. CAN/SWE/NL Workshop on Human Verification, October 9-10, 2003, TNO-Prins Maurits Laboratory, Rijswijk, the Netherlands

Författare: Eva Arvidsson, Anders Bucht och Sten-Åke Fredriksson

Sammanfattning

Inom det trilaterala samarbetet som Sverige-Kanada-Holland bedriver har initiativ tagits till en workshop inom området humanverifikation. Mötet syftade till att diskutera gemensamma intressen för att kunna starta upp samarbetet.

De tre länderna presenterade sina forskningsprogram inom området (se bifogad CD-skiva) varefter deltagarna samlades i två diskussionsgrupper för att utröna samarbetsmöjligheter. Efter summering valdes kontaktpersoner: NL: Marijke Mol, SWE: Gudrun Cassel, Karin Hjalmarsson och CAN: Barry Ford, Yvonne Severs.

Mötet var väl arrangerat och givande.

Sammanfattning av diskussionsgrupperna B/C-metoder och C-utveckling.

Ben van Baar (TNO-PML), Barry Ford (DRDC, Toronto), Martine Polhuijs (TNO-PML), Karin Hjalmarsson (FOI), Indra Svensson (FOI), Henk Benschop (TNO-PML), Daan Noort (TNO-PML), Marcel van der Schans (TNO-PML), Sten-Åke Fredriksson (FOI)

Ben van Baar utsågs att leda och sammanfatta.

B-området

Inom B-området finns ett generellt intresse hos **NL, Can och Swe** att utveckla microarray-tekniken för infektions-detektion och diagnos. Detektion av biomarkörer är ett intresseområde för **NL och Swe**.

Barry Ford informerade att **Canada** utvecklar ett svin-chip.

NL: planerar ett projekt för diagnos av infektion genom att identifiera immunrespons-peptider i MHC klass II-komplexet med masspektrometriska tekniker kombinerade med sökningar av proteindatabaser.

Swe: ett projekt pågår att undersöka om diagnostiska *F. tul*-markörer utsöndras i urin från patienter med tularemidia. För den närbesläktade *Legionella* finns en enzymatisk immunoassay för ett urinantigen av kolhydrattyp. Tidigare resultat har också indikerat ett antigen i urin från tularempatienter (Eur. J. Clin. Microbiol. 1987, 3 (6) 318-319). Vi söker med LC-MS/MS efter urinmarkörer relaterade till *F tularensis*.

C-biomarkörer

Swe planerar att starta en studie av effekter av **lågdosexponering för VX**. Råttor kommer att exponeras för kontinuerlig låg dos under upp till 3-månader. VX administreras via en osmotisk pump och djuren följs via telemetri (temperatur, andning, aktivitet, blodtryck m m) och EEG. Under försökens gång tas blodprover som sedan analyseras för intern dos och ett antal parametrar för att kunna mäta/verifiera effekterna av exponeringen.

NL är intresserade av att analysera prover från dessa försök efter metaboliter och proteinaddukter. NL har lång erfarenhet av metodutveckling på området och har metoder uppsatta för att analysera prover från större försöksserier.

Mätningar av VX i blod begränsas av den låga stabiliteten (halveringstid sekunder till minuter). Vid lågdosexponering förväntas dessutom mycket låga koncentrationer. VX metaboliseras antagligen relativt snabbt till bland annat etyl-metylfosfonsyra (EMPA) som kommer att utsöndras i urinen. EMPA är förmodligen stabil i urinprov och det är förmodligen möjligt att följa exponeringen med analys av EMPA.

Med Fluoridreaktiverings-metoden kan exponering för nervgaser detekteras efter en relativt lång tid, jämfört med analys av intakt nervgas i blod eller metaboliter i urin (halveringstid timmar). NL har utvecklat en metod för exponeringskontroll baserat på fosforylerat butyrylkolinesteras (Chem. Res. Toxicol. 2002 Apr;15(4):582-90). Butyrylcholinesteras isoleras med affinitetskromatografi (procainamid som ligand). Hämmat esteras detekteras med LC-MS/MS efter enzymatisk klyvning; active site-peptiden lokaliserar och sekvenseras med MS/MS, masskiftet för den fosforylerade serinenheten ger en indikation på identiteten av inhibitorn.

VX uppvisar spontanreakivering i likhet med t ex etylsarin, som kan påverka utvärderingen av exponeringsmätningarna. Spontanreakivering av hämmat enzym begränsar tiden för hur länge proteinaddukter kan detekteras. För VX anges upp till 20 dagar, medan för andra upp till 50 dagar, vilket närmare motsvarar den förväntade livslängden för butyrylkolinesteras i kroppen.

Detektionsgränsen för fluoridreaktiveringsmetodiken uppges motsvara en inhiberingsnivå av den enzymatiska aktiviteten (butyrylcholinesteras i blod) ned till 0.05 % (!), d v s vid sådana nivåer att inga akuta effekter har börjat uppstå.

Inom OPCW fanns tidigare ett initiativ att starta en interlaboratoriekalibrering för utveckling och implementering av analysmetoder för biomarkörer. På grund av strykningar i budgeten sedan ett par år tillbaks ligger detta f n i träda.

Övriga ämnen förutom de vanliga kemiska stridsmedlen ventilerades; BZ, lewisiter, adamsit, CS, CR, fentanyl etc. Toxiska industrikemikalier (TIC).

MS-baserad metodik är ofta generisk. Möjligheter finns att inte enbart **verifiera exponering för kända ämnen** och vissa möjligheter till kvantitativ information utan även identifiering av okända ämnen. Det har tillämpningar för exempelvis organofosfater (insekticider) och alkylerade ämnen.

Sammanfattning av diskussioner i gruppen Biomarkörer

Eva Arvidsson (FOI), Anders Bucht (FOI), Gudrun Cassel (FOI), Daniel Johansson (FOI), Marijke Mol (TNO-PML), Govert P van der Schans (TNO-PML), Yvonne Severs (DRDC, Toronto), Daniela Stricklin (FOI (deltog under första hälften)), Agnes Tan (TNO-PML), Marijke Valstar (Ministry of Defence, NL (deltog under första hälften)), Annica Waleij (FOI), Diana Wilkinson (DRDC, Ottawa)

Diskussionen inleddes med att formulera det gemensamma målet: att underlätta för insatspersonal att upptäcka om de utsatts för skadlig exponering. Till detta behöver vi först och främst ökade kunskaper om biomarkörer. Därefter diskuterades skillnaden mellan biomarkörer för effekt och biomarkörer för exponering och det slogs fast att intresset för

denna diskussionsgrupp låg i biomarkörer för effekt. Svårigheten att få prover från insatspersonal togs upp men gruppen var ändå enig om att det bästa är att kunna få prover från militära styrkor även innan de ger sig ut i fält. Dessa prover skulle då sparas utan åtgärd och endast tas fram om ett prov från en exponerad individ behöver kompletteras med ett utgångsvärde. Förutom att använda blodprover att söka biomarkörer i föreslogs hud (G van der Schans) och saliv (G Cassel). Att få tillgång till humana prover i forskningssyfte ansågs vara osäkert p.g.a. de etiska tillstånd som krävs i förväg. Helst vill man ha prover från patienter som exponerats på ett kontrollerat sätt, t ex strålningsbehandlade cancerpatienter. En viktig del i samarbetet är därför att dela med sig av prover, både från exponerade djur och från människa. Hur man bäst transporterar sådana prover behöver diskuteras ytterligare.

Diskussionen började sedan fokuseras mer på de olika gruppernas intressen och ett mer konkret samarbete. Alla var överens om att det man ultimata vill kunna ta fram är en indikeringssticka som lätt kan användas i fält. Marijke Mol vill starta en screening av biomarkörer för toxiska ämnen så som Gulf-krigsrelaterade substanser, kolmonoxider, jetbränsle m m och hon vill använda sig av lymfocyter för identifiering av effektmarkörer. Diana Wilkinson riktar in sig på biomarkörer för strålning och vill undersöka blod, serum, saliv och urin. De har påbörjat en studie av hantering och förvaring av olika prover. Ett gemensamt intresse mellan Sverige (A Bucht och G Cassel) och Holland (M Mol) är biomarkörer för exponering av pesticider. Det visade sig att det finns olika metoder etablerade hos de olika grupperna vilket kan utnyttjas gemensamt.

8.4.1. Rekommendationer

De förslag till samarbeten som kom upp är:

B-området

- Gruppen föreslog att inrätta en diskussionsgrupp – Biomarkers for B. Gruppens uppgift till att börja med föreslogs vara att sammanställa en bibliografi över fallstudier, antibiotika samt litteraturreferenser över biomarkörer m m.

Vid nästa Workshop bör gruppen utse en koordinator samt sammanställa tillgänglig bibliografi.

C-biomarkörer

- Barry Ford (**Can**) visade intresse att använda **svin-chippet** på prover från VX-studien. I övrigt avsåg Barry utveckla svinmodellen för exponering för multipla agens; t ex senapsgas och G-ämnen. Man avser att framför allt intressera sig för exponering för nivåer där akuta effekter syns.
- Prover från patienter exponerade för organofosfater efterlystes. (kontakta Birgitta Liljedahl).
- Samordning av investeringar i dyr utrustning diskuterades. Analysmetoderna för biomarkörer är ofta baserade på kostsam masspektrometrisk utrustning. Eftersom biomarkörer för toxiska föreningar oftast förekommer i låga koncentrationer, kan utrustningens känslighet och upplösning och sådana faktorer avgöra om man kan få ett meningsfullt resultat för unika prover t ex från nervgasexponerade personer. Instrumentutvecklingen medför att prestanda ökar för varje år, så **samutnyttjande av utrustning** ses som en möjlighet för analys av speciellt svåra prover. Genom att

diskutera och samordna investeringsplanerna mellan labben kan vi öka tillgången till modern utrustning. Resonemanget fördes främst mellan NL och Swe.

Biomarkörer

- I Umeå finns råttmodell för organofosfatexponering som kan användas i forskningssyfte. Prover från den modellen kan screenas med hjälp av SELDI hos FOI och 2D-gel+masspektrometri hos TNO-PML. Barry Ford (Suffield, Kanada) erbjöd (vid senare tillfälle) analys med mikroarrayteknik. Även FOI visade intresse att delta i uppbyggnad av mikroarray. I Umeå används också mikroflödesteknik baserad på analys av stora paneler cytokiner med flödescytometer (E Arvidsson och D Stricklin). Dock finns de kit som används i dagsläget endast för analys av prover från mus eller människa. För utprovning av mikroflödesteknik är det därför lämpligare att använda befintliga musmodeller vid FOI för exponering av alkylterande ämnen och radioaktiv strålning. Denna teknik är också mycket intressant för studier av effektmärkörer i humana blodlymfocyter.
- G van der Schans erbjöd sitt protokoll för snabb indikering av exponering genom detektion av enkelsträngsbrott hos DNA. Det bästa är att sätta upp metoden i det egna labbet.
- Yvonne Severs får humana prover i början av 2004. Det rör sig om en provtagning av ubåtspersonal och exponering för koldioxid och eventuella andra föroreningar i inomhusmiljön (t ex dieselavgaser). Hon delar gärna med sig om det redan då finns tid och pengar att ta hand om proverna.

8.5. 5CTDC 5th Congress of Toxicology in Developing Countries, November 10 - 13, 2003. Guilin, China

Författare: Daniel Johansson och Indra Svensson

Sammanfattning

Konferensen gav en bra bild av den undermåliga kemikaliehantering som finns i nästan alla utvecklingsländer, över svårigheterna men också möjligheterna att hantera pesticider och andra riskkemikalier i dessa områden. Det finns mycket gifter som används så gott som totalt fritt i vissa länder medan andra kommit längre med kontroll och regler. Många människor skadas/dödas årligen av förgiftningar, akuta och kroniska. Vår syn på kemikaliehantering och våra problem är bara en nysning i jämförelse. Men det pågår många utvecklingsprogram med stöd från industriländerna även om man i många fall har lång väg att vandra.

Konferensen var välorganiserad och kvaliteten på föredragningarna var övervägande god (undantag fanns) och de närvarande forskarna från utvecklingsländerna var ambitiösa och presenterade god och relevant forskning.

Plenary lectures

Challenges to developing countries after joining WTO: risk assessment of chemicals in food.

Jun-Shi Chen, Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China.

FAO/WHO uppmuntrar sina medlemsländer att ta fram egna gränsvärden för tillsatser och gifter i mat baserat på en ordentlig riskbedömning. Detta dels för att försöka värna om den egna befolkningens hälsa men även för att uppnå en rättvis handelssituation. I den här presentationen påpekades vikten av att varje land gör en egen exponeringsbedömning utifrån sina förutsättningar. Även om det rör sig om ämnen där toxiciteten är känd och gränsvärden är framtagna av organisationer som JECFA (tillsatser i mat) och JMPR (pesticider) är det upp till varje land att bedöma vilka halter deras befolkning utsätts för. Som exempel nämndes att om man beslutade att sänka det max tillåtna gränsvärdet för aflatoxin i livsmedel från 20ug/kg till 10ug/kg skulle detta i Europa medföra en minskad risk för levercancer motsvarande 2 personer/1 000 000 000 invånare. Å andra sidan skulle man i Kina, där man konsumerar en större mängd livsmedel innehållande alfatoxin, minska fallen med 17,83 cancerfall/100 000 invånare, vilket verkligen belyser vikten av exponeringsbedömningen.

Tobacco control in the 21st century

Vera da Costa e Silva, Tobacco Free Initiative Program, World Health Organization, Geneva, Switzerland.

Rökningen är ett växande folkhälsoproblem i tredje världen. För närvarande svarar tredje världen för ungefär hälften av de ca 5 miljoner rökningrelaterade dödsfallen i världen varje år. Enligt en prognos kommer den totala siffran att ha stigit till 10 miljoner dödsfall per år varav 70 % av dessa skulle ske i utvecklingsländerna redan år 2020. Rökning är nu den näst största riskfaktorn för död i Kina efter högt blodtryck men före kolesterol. Förutom de direkt medicinskt inducerade skadorna som rökning medför ger tobakskonsumtion också indirekta effekter. Som exempel kan nämnas att i Bangladesh skulle 10,5 miljoner människor slippa lida av undernäring om pengarna användes till mat istället för tobak. Tobaksbolagen kritiserades för att designa så kallade modercigaretter som påstås ge ett ökat beroende, samt för att marknadsföra lightcigaretter som syftar till att vilseleda konsumenterna att tro att denna typ av cigaretter är mindre skadliga, vilket det inte finns några som helst bevis för.

Världshälsoorganisationen WHO har i samarbete med the Framework Convention on Tobacco Control (FCTC) tagit fram riktlinjer för hur man bäst kan minska tobaksmisshuset. Som de viktigaste faktorerna kan nämnas att kontrollera smuglingen, höja priset (en skatt som ligger på ca 2/3 av det totala priset rekommenderas), skapa utrymme för rökfria inomhusmiljöer, lagstifta om varningstexter samt införa reklamförbud. Dessa faktorer bedöms vara grunden för att komma tillrätta med den ökade tobakskonsumtionen i tredje världen.

Pesticide poisonings in developing countries – challenges and opportunities

Tim Meredith, International Program on Chemical Safety (IPCS, WHO/ILO/UNEP), Geneva, Switzerland

Förgiftningar orsakade av bekämpningsmedel är ett världsomfattande problem, som är särskilt påtagligt i utvecklingsländerna. Under åren 1970-1999 såldes 2 800 miljoner kilo

pesticider i världen varav 40 % till tredje världen. Den största ökningen sker i Afrika, Asien, Syd- och Centralamerika samt områden kring östra Medelhavet. Organofosfater orsakar omkring 80 % av alla rapporterade yrkesrelaterade förgiftningar i Centralamerika, ändå anses antalet icke rapporterade fall av organofosfatförgiftningar vara så högt som 90 %. Trots att pesticider har använts under lång tid och i stora mängder saknas mycket kunskap om omfattningen av de skador och sjukdomar som orsakats av denna användning. Detta beror främst på svårigheterna att kontinuerligt mäta och övervaka pesticidförgiftningar även i den industriella delen av världen. Tillgängliga data från ad hoc-studier är ofta otillräckliga och innehåller sällan information som räcker för att utreda problemets natur och omfattning. Därför finns det ett behov av att samla in stora mängder data under strikta betingelser för att kunna genomföra ordentliga studier på pesticidexponeringar och förgiftningar. WHO/IPCS satsar nu på att genomföra sådana studier med hjälp av standardiserade protokoll för datainsamling. Bland annat ska både akuta och långtidseffekter undersökas, liksom en uppskattning av effekterna på folkhälsan (både positiva och negativa). Vikten av att informera användarna om att använda skyddsutrustning mm poängterades också.

The role of poison control centers in children's environmental health

Irma R. Makalinao, Department of Pharmacology and Toxicology, University of the Philippines College of Medicine, Philippines

Giftinformationscentraler, (fritt översatt från poison control centers, PCC) runt om i världen har visat sig vara mycket värdefulla för att stärka säkerheten kring giftiga kemikalier. Under lång tid har dessa centraler fokuserat på akuta förgiftningstillstånd. Det finns massor av information om skador som kan uppkomma hos barn om olyckan är framme. Det är väl känt att barn är känsligare än vuxna för många typer av förgiftningar och kan ta skada även vid betydligt lägre exponeringar än vuxna. Barnens unika känslighet för olika gifter i omgivningen beror av flera faktorer. Bland annat blir barn ofta mer exponerade, sett till kroppsvikt, än vuxna i och med att de har ett högre intag av mat och vatten samt större andningsvolym per kilo kroppsvikt. Dessutom leker barn mer på marken där det kan finnas en ökad risk för exponering av gifter från jord, mattor och även vissa pesticidångor. Av dessa anledningar är det viktigt att utreda vilken exponeringssituation barn i olika regioner befinner sig i. Det är också önskvärt att närmare undersöka effekten av kroniska kombinerade kemiska lågdosexponeringar bland barn. Giftinformationscentralerna har en viktig roll i utvecklingen av sådana projekt.

Genomics in environmental health research – opportunities and challenges.

Kenneth Olden, National Institute of Environmental Health Sciences, National Institute of Health, Department of Health and Human Services, Research Triangle Park, NC 27009, USA

Interaktionen genetik-miljö diskuterades som nästa stora projekt nu när sekvenseringen av det humana genomet är fullbordad. Toxikogenomik som man har valt att kalla detta nya fält syftar till att använda sig av genteknologi för att utreda vilka gen-miljö-interaktioner på det molekylära planet som ligger bakom komplexa sjukdomar så som cancer, diabetes, astma mm. Jämförande molekylära studier mellan miljöresponsgener från olika arter kommer att öka förståelsen för den komplexa interaktionen mellan gener, miljön och människors hälsa.

Symposium

Arsenic contamination of drinking water in developing countries.

De första fallen av arsenikförgiftning via dricksvattnet uppdagades i Taiwan 1968. Ca 2 000 000 kineser har på detta sätt blivit exponerade för höga halter arsenik och ca 20 000 har diagnostiserats med arsenism. De högsta halterna i Kina har man hittat i inre Mongoliet. Där har man också den högsta prevalensen av hudcancer. Man har även upptäckt en synergistisk effekt med fluoridförgiftning vilket hittills bara har observerats i Kina. I en amerikansk studie har man påvisat ett samband mellan arsenik i dricksvattnet och en rad cancerformer varav lungcancer överraskande nog var den vanligaste.

Arsenik metaboliseras i flera steg innan det kan utsöndras via urinen. Det andra reduktas-steget skiljer sig väldigt mycket åt mellan olika arter. Det är därför svårt att hitta relevanta djurmodeller för arsenikförgiftning. Primatstudier har visat att det även skiljer mycket mellan människa och apa. Man har också påvisat stora skillnader mellan olika populationer hos människa.

Occupational health challenges in developing countries

Företagshälsovård startades i Kina i mitten av 50-talet, strax efter utbildandet till folkrepubliken Kina. Den kom dock inte att vara igång på riktigt förrän i början av 80-talet i samband med Kinas ekonomiska reform. Ambitionerna är att täcka in hela skalan över yrkesmedicin, industri-toxikologi, industrihygien, yrkesergonomi, psykologi etc. Detta har resulterat i en klar förbättring av arbetsförhållandena även om det är långt kvar till WHO's "global strategy of occupational health for all". Presentationen gav en inblick i strukturen och organisationen av yrkeshälsovården. 1,3 miljarder kineser skall omfattas och idag är cancer och andningsvägssjukdomar de dominerande dödsorsakerna. Många skadas/dödas av industrikemikalier, både akuta förgiftningar och kroniska. Det finns statistik från 1980 och framåt. Hälso- och sjukvårdskostnaderna har ökat 5ggr på 20 år. Idag sker en minskning av antalet anställda i staten och en ökning i stad och region. Detta medför en risk för klart minskade satsningar på arbetsmiljö. Det finns en ambition om att forma en säker och hälsosam arbetsmiljö för alla.

2,4 miljarder arbetare i utvecklingsländerna är inte i närheten av det arbetarskydd och hälsostandard som definieras av ILO och WHO. 2,2 miljoner dödsfall per år beräknas bero på arbetsrelaterade förgiftningar och olyckor. Samarbetet kring arbetsskydd mellan industrialiserade och utvecklingsländer har pågått i över 30 år men i betydligt mindre skala än inom andra områden. – Vilket är paradoxalt eftersom inget land kan räknas med en hållbar utveckling utan att ha en frisk och produktiv arbetskraft. Presentationen gav en del vinklar kring vilka principer och förutsättningar som måste gälla i fortsättningen för att förbättringen av arbetslivsfrågorna och den socioekonomiska utvecklingen ska ta bättre fart.

Pesticides and health risks in developing countries.

Pesticider har visat sig ha enorma fördelar för människan i förebyggande av sjukdomar och skydd av jordbruksprodukter. Som exempel kan nämnas att på 1940-talet dog 80 000 indier i malaria varje år medan idag endast ca 1 000 personer dör, till del beroende på att pesticider har använts mot mygg. Pesticider visade sig dock snart (inte så förvånande) vara toxiska för många organismer, inklusive människan, både akut och kroniskt. Bland skador på människan kan räknas upp nervsystemet, cancer, lever, njure, immunsystemet, fertilitet och

fosterutveckling. Diskussionen runt pesticiders toxicitet är i vissa sammanhang kontroversiell, det finns ekonomiska intressen som styr och mörklägger.

Det finns dock ett antal regler och riktlinjer för användning av pesticider. 1985 antog FAO "The International Code of conduct on the distribution and use of pesticides". Koden var den första internationella standarden för kemikalier för skydd av människan och miljön. Koden har sedan dess utvecklats och innehåller nu handhavande av pesticider med fokus på riskreducering, skydd av människa och miljö, skydd för en uthållig utveckling av jordbruk och även ett koncept för livsstil. Föredragningen kommenterade inte efterlevnaden av koden i utvecklingsländerna.

Ett mycket intressant föredrag hölls av Alan Boobis från England som under många år har studerat långtidseffekter av pesticider. Idag satsas mycket forskning på toxiska och genetiska profiler, känsliga markörer och statistiska metoder för att bedöma pesticiders effekter.

Contribution of lifestyle factors for acquired susceptibility to environmental disease in developing countries

I det här symposiet diskuterades en rad redan kända riskfaktorer för att utveckla cancer som har med livsstilen att göra; rökning, kostsammansättning, stekytemutagener och fetma för att nämna några. Men även brist på spårämnen i kosten, till exempel selen, belystes. Att den genetiska sammansättningen har betydelse är ju inte heller direkt något nytt. Den som stack ut lite grand var Lynette R. Ferguson från Nya Zeeland som istället för riskfaktorer talade om en kostsammansättning som motverkade uppkomsten av cancer genom att innehålla mycket antimutagener. Dessa verkar genom att antingen förhindra upptag av mutagener (t ex vissa typer av kostfibrer), genom att påverka metabolismen (broccoli och lök) eller fungera som antioxidanter (tomat, kiwifrukt och citrusfrukter).

Workshops

Waterborne diseases versus chlorination by-products

Kontaminerat dricksvatten, dålig hygien och mat är de vanligaste spridningskällorna för patogena mikrober i utvecklingsländerna. I dessa länder dör många människor, främst barn, till följd av gastrointestinala infektioner orsakade av orent vatten. De flesta patogener kan kontrolleras genom att klorera vattnet. Kloreringsprocessen ger dock upphov till biprodukter som kan vara hälsovådliga. Trihalometaner, haloättiksyror och klorohydroxyfuranoner kan nämnas bland de mest undersökta carcinogena biprodukterna i djurförsök. Det har visat sig att en och samma förening kan ge upphov till olika typer av cancer beroende på vilken djurart man använder sig av i försöken. Till exempel ger kloroform njurtumörer i både råttor och mus men levertumörer endast i mus. Detta gör det svårt att extrapolera resultaten från djurförsök till människa. I Taiwan har man gjort en studie där man har jämfört invånarna i 14 kommuner med klorerat dricksvatten med invånarna i 14 kommuner med icke-klorerat dricksvatten. Studien antyder en positiv korrelation mellan klorering av dricksvatten och incidens av rektalcancer, lungcancer, blåscancer och njurcancer. Ingen korrelation mellan klorering och födelsevikt kunde påvisas. Sammantaget anses det att man inte ska överdriva riskerna med klorering med tanke på vilka konsekvenser det får att inte rena vattnet från de mikrobiella patogenerna.

Poison control services in developing countries

Giftinformationscentraler (GC) har utpekats som en av nyckelfunktioner i utvecklingen av kemikaliesäkerheten. I många utvecklingsländer finns inga GC och

workshopen beskrev de svårigheter och utmaningar som man står inför när nya GC ska etableras. I många fall handlar det om mycket basala frågeställningar. En talande bild från Ghana visade en man mitt i gruvmiljö iklädd sin personliga skyddsutrustning – ett par shorts.

Föredragningarna beskrev arbetet med att starta GC i Ghana, Kina och Sydamerika.

Outdoor and indoor air pollutants in developing countries.

Som titeln för workshopen antyder handlade det om luftföroreningar såväl inomhus som utomhus. I en studie som gjorts hade man jämfört utomhusluften i Shanghai mellan åren 1990-1999. Det visade sig att halterna av SO₂ och TSP hade sjunkit med ca 50 % under tioårsperioden. Å andra sidan hade NO_x stigit med ca 50 %. I Xuanwei i Yunnan-provinsen i Kina eldar man mycket med kol inomhus under dåliga ventilationsförhållanden. Inomhusluften är mycket dålig och incidensen av lungcancer är extremt hög. Den starkast bidragande faktorn till de höga talen för lungcancer anses vara de polyaromatiska kolvätena. Även djurförsök där man exponerade råttor för dieselpartiklar diskuterades i denna session.

Evaluation of genetic risks of environmental compounds using laboratory models with human cells.

Många cellinjer förlorar enzymerna som behövs för nedbrytning av toxiner. Detta har man delvis löst genom att tillsätta S9 fraktioner från mus/råtta. Vissa humana cellinjer har dock behållit denna förmåga och verkar vara lovande verktyg för genotoxiska studier. Eftersom de är humana är det troligt att enzymernas specificitet speglar människans in vivo. t ex den humana lymphoblastoma linjen MCL-5 har förmåga att bryta ner substanser (aflatoxiner, nitrosaminer, heterocykliska aminer) till DNA-reaktiva metaboliter. Andra aktiva cellinjer beskrivs också i samband med metoder med olika endpoints, t ex single cell elektrofores och mikrokärn-analys.

Primära humana celler redovisades också som användbara för genotoxiska studier, perifera lymfocyter, oral-buccal mucosa celler, uroteliala celler och cervixceller.

En grupp från Kina presenterade sina studier av humana och mammala celler för att kartlägga komplexa blandningar av miljögifter.

Toxicology Information resources session

I den här sessionen diskuterades diverse toxikologiska informatikresurser som finns tillgängliga på internet. Databaser och sökverktyg för såväl forskare som miljöskyddsinspektörer och allmänhet behandlades.

The National Library of Medicine bedriver ett program de kallar för Toxicology and Environmental Health Information Program (TEHIP). Programmet syftar till att samla och organisera toxikologisk information för att göra denna publikt tillgänglig via online-databaser. De primära databaserna finns samlade under det webbaserade TOXNETsystemet (<http://toxnet.nlm.nih.gov/>) och bland dessa märks den vetenskapligt kvalitetskontrollerade Hazardous Substances Data Bank och TOXLINE med över 3 miljoner referenser till toxikologisk litteratur. Annan information som omfattas av TEHIP är bland annat alternativ till djurförsök och en toxikologisk ordlista

Tre huvudsakliga varianter av resurser angående human exponering och riskanalys behandlades:

1. Mejlinglistor som t ex RISKANAL och RISKSCI
2. Web-baserade övningsprogram för exponeringsbedömning t ex Haz-map och Toxicology tutor på NLMs hemsida (<http://sis.nlm.nih.gov/>).
3. Informations sajter om exponeringsbedömning. Till exempel Alliance for Chemical Awareness (ACA) och Human and Environmental Risk Assessment project (HERA)

Postersession

Postersessionen var indelad i 4 områden;

- A) Chemical, biological and physical toxicants.
- B) Systemic, organ and molecular toxicology.
- C) Clinical toxicology, pharmacology and therapeutics.
- D) Analytical methods, toxicity testing and risk assessment.

Tyvär lovade abstractsamlingen mer än vad sessionen kunde leva upp till. Av ca 250 abstracts satt ca 50 postrar uppe och dessa var organiserade på ett väldigt dåligt sätt. Två postrar lyckades dock etsa sig fast i mitt minne från postervisningen. Den första presenterades av Dr Pope från Oklahoma som hade resultat som visade att råttor tålde somanförgiftning sämre om de fick dricka sockerlösning som skulle motsvara en burk läsk för en soldat. Den andra var en poster av Dr Asuman från Ankara som visade att patienter med typ II diabetes har lägre nivåer av paraoxonas, ett enzym som bryter ned organofosfater. En intressant studie skulle vara att undersöka om det kan finnas en korrelation mellan blodsockerhalt och paraoxonasnivåer.

Det fanns dessutom en annan poster som har en intressant koppling till vårt HERA projekt:

Dose-effect relationship of low dose combinations of the pesticides cypermethrin and methyl parathion on endocrine hormone levels and immune functions in rats. En kinesisk grupp från School of Environmental Medicine i Kunming har studerat dosrelaterade effekter av två relevanta pesticider i kombination och lågdos (oral tillförsel varje dag) på tyroidea hormoner, reproduktionshormoner och immunfunktioner hos råttor. Postern visade att en månads behandling har effekt på organvikter, endokrina hormoner (förhöjning) och immunsystemet (försämrande) medan kroppsvikten inte påverkades.

8.5.1. Rekommendationer

Mycket arbete finns gjort inom pesticidområdet, även inom lågdos och lång exponeringstid. En hel del av det är dock inte helt överförbart till våra frågeställningar. De studier som vi planerar inom HERA är komplexa och kommer förhoppningsvis att ge betydligt bredare bild av vad som händer i djuret och vilka markörer man skall koncentrera sig på. Inför de studier av pesticider och pesticid-kombinationer som planeras inom HERA är det viktigt att vi koncentrerar oss på exponeringar (ämnen, koncentrationer, mm) och analyser som tillför ny unik kunskap och inte blir en komplettering/upprepning av tidigare gjorda studier.

8.6. IInd Moscow International Congress, Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development, November 10-14 2003, Moskva

Författare: Karin Hjalmarsson

Sammanfattning

Kongressen var inriktad på bioteknik i den vida betydelsen. Den täckte därför områden som medicin, jordbruk, växter, livsmedel, industriella applikationer, miljö, geoteknik, finansiering, utbildning och säkerhetsfrågor. Det pågick flera parallella sessioner varför det var omöjligt att täcka hela kongressen. Detta försvårades också av språkproblem (nästan allt presenterades på ryska). Viss verksamhet som presenterades är av högsta vetenskapliga kvalitet, dock är annat av mycket kända kvalitet.

En del av det som presenterades är av intresse för HERA-projektet (se nedan).

Första kongressen hölls 14-18 oktober 2002. Antalet deltagare uppgick då till över 2120 personer, kom från Ryssland och 34 andra länder (bl.a. USA, Storbritannien, Israel, Nederländerna, Japan, Grekland, Tyskland, Frankrike, Sverige, Mongoliet, Italien, Finland, Belgien, Iran, Turkiet, Bulgarien samt fd Sovjetrepubliker). Inom ramen för kongressen hölls ett symposium "Russia-EU: State and Prospects of Cooperation in the Field of Biotechnology". Vid denna antogs ett Memorandum, innehållande förslag om att skapa ett Ryssland-EU consortium av bioteknikspecialister. Samtidigt med kongressen pågick en utställning, "BioTech World-2002", med 112 företag från 12 länder.

Kongressen i år hölls 10-14 november i "House of Government of Moscow", Novy Arbat 36, Moskva. Antalet deltagare kan ha varit som år 2002 och deltagarna kom från 38 länder. Det verkade som att de flesta utländska deltagarna antingen kommer från f.d. Sovjetrepubliker eller är inbjudna föredragshållare alternativt har pågående samarbeten med ryska forskare. Från Sverige var vi 2 deltagare.

Kongressen är för rysktalande. Alla föredrag av ryssar hölls på ryska och simultantolkades till engelska. I stort sätt alla bilder i dessa föredrag hade rysk text. Med några få undantag var postrarna på ryska. I den parallellt hållna företagsutställningen var majoriteten av materialet på ryska.

Många föredrag handlade om genetisk modifiering av växter. Många inbjudna utländska gäster representerade detta område. En klar irritation fanns över EU's hållning gällande GM-växter/produkter

Kongressen var indelad enligt följande:

Plenary Session	"Fundamental researches and biotechnology"
Section 1	"Biotechnology and Medicine"
Section 2	"Biotechnology and Agriculture"
Section 2.1	"Biotechnology in Plant Breeding"
	Round Table "Biosafety of Transgenic plants. Problems of regulation"
Section 2.2.	"Biotechnology in Animal Breeding"
Section 2.3.	"Biotechnology in Plant-Microbial Interaction"
Section 3	"Biotechnology and Industry"
Section 4	"Biotechnology and Environment"
Section 5	"Biotechnology and Food Products"

Section 6	“Biocatalysis and Biocatalytic Technology. Nanotechnology”
Section 7	“Biogeotechnology”
Section 8	“Innovation, Finances, and Business in Biotechnology”
Section 9	“Biotechnology and Education”
German-Russian Tuberculosis Workshop	“Biotechnology Approaches of Human Infections”
Joint Russian-Finnish Symposium	“Experience and Prospects of the Russian-Finnish Cooperation in the Field of Biotechnology”
Plenary Session	“Problems of Biosafety. Bioethics”

Plenary Session

Prof VT Ivanov (Chef, Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moskva) hälsade alla välkomna och introducerade **Andreas Pluckthun (Zurich universitet, Schweiz)** som förste talare.

Andreas Pluckthuns föredrag handlade om protein engineering (antikroppsfragment – scFv, och syntetiska proteiner baserade på repeat proteiner). Han beskrev också ett sätt kallat Ribosome display för att länka mRNA och protein, och ett sätt att selektera för stabila proteiner (ta bort SS-bryggor, selektera för stabilitet, re-introducera SS-bryggorna). Han visade exempel på proteiner baserade på Ankyrin repeat proteiner (33 aa i anti-parallella alfa-helixar separerade av beta-hairpin). Dessa proteiner är lätt uttryckbara i *E. coli*, stabila, och bindningen är i lägre nM skalan. De har randomiserade positioner för selektion. Ribosome display metoden går att använda för dessa.

En fråga ställdes huruvida proteiner är jämfört med aptamerer. Pluckthuns svar var att aptamerer har två nackdelar: 1) nukleinsyra är känsliga för nukleaser, och 2) aptamerer är negativt laddade och kommer därför att riktas mot positivt laddade ytor (vilket begränsar deras target-range).

Andra föredraget hölls av **GB Elyakov**, från **Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far East Branch of RAS, Vladivostok**. Han berättade om Vladivostok-institutet och deras forskningsintresse som klart ligger åt att leta efter biologiskt aktiva substanser från havslevande organismer i syfte att utveckla nya läkemedel. Institutet har kontakter med bl.a. USA och Australien och även samarbete med företag (bl.a. Novartis Pharma och ett företag i Storbritannien vars namn aldrig nämndes). Institutet har ett forskningsfartyg ”Akademik Operin”, institutet byggdes 1967 och har idag 14 laboratorier.

Vid institutet finns kompetens för syntes, akvakultur, cellkultur och fermentering. Institutet har 9 patent och 3 produkter ute på marknaden. Det pågår kliniska försök med eventuella nya produkter. Speciellt fokus finns på *Echinodermata*. Institutet har idag >500 substanser som karakteriserats. Vid institutet finns även en kollektion av marina mikroorganismer omfattande ca 7000 bakteriestammar och 1000 svampstammar.

Bland de toxiner han nämnde kan följande räknas upp: Briostatin-1 (anti-tumör, kliniska försök), Tetrodotoxin (sades ha två källor: fisk samt via symbios mellan bakterie och svamp), Palytoxin, Maitotoxin (överförs till människa via fisk), Zikonitid (från *Conus*, smärtstillande), Galatoxin A1 och B1, Varatsin C (anti-tumör, skall starta kliniska försök), Nya typer av lipider, Polykarpin, samt RTX-A och RTX-SII.

Tredje föredraget hölls av **ED Sverdlov, Institute of Molecular Genetics, RAS, Moskva**. Han talade om ”*Genomic Biotechnologies*”. Föredraget handlade om metoder för att titta på skillnader i uttryck: DNA microchip, Subtraction hybridization, och Differential display. Han pratade framför allt om den andra metoden. Det visades resultat från försök där man analyserat skillnader i genuttryck vid virala infektioner. I arbetet samarbetar de med Vektor, Novosibirsk, och USA (NIH).

Det sista föredraget på måndagen hölls av fransmannen **M Lazdunski, Institut de Pharmacologie Moleculaire et Cellulaire-CNRS-660, Valbonne, Frankrike**. Han pratade om jonkanaler som targets för läkemedel (t ex NaV och CaV- men framför allt pratade han om K-kanaler).

Det finns 4 varianter av K-kanaler: voltage-dependent, Ca-dependent, ATP-sensitive och O₂-sensitive. Mer än 75 gener kodar för K-kanaler och till detta skall tilläggas olika typer av associerade subenheter. Han pratade en del om Inward rectifiers (har 2 transmembran domäner, är G-protein kopplade, är ATP-beroende, och är tetramera).

Ex som visades: ACh + musc. AChR ger blockering pga aktiveirng av K-kanalen GIRK ACh + musc. AChR + toxin ger ingen blockering

Han talade sedan om TREK-1 kanalen. Denna är mekaniskt känslig (känner av en böjning i membranet, C-terminalen av subenheten är sensor) och känslig för värme.

Han talade också om medel för neuroprotektion i samband med ischemi: Riluzole (gör att K-kanalen öppnas, vilket leder till blockering av frisättning av Glu-genom hyperpolarisering).

En annan K-kanal som nämndes var ASIC-kanalen. Denna påverkas av lågt pH som uppstår vid inflammation, träning (mjölksyra), vävnads”försurning”. Denna kanal ger upphov till smärta. Blockeras av bl.a. Flurbiprofen, Ibuprofen och aspirin.

Poster

Alla postrarna, förutom en, var på ryska och poster-ägarna var inte alltför bra på engelska. Jag talade dock med VA Belyavskaya, Vector, Novosibirsk, som hade en poster med titel ”*Application of SNP markers technology for host/pathogen genomics studying in bovine leukemia virus (BLV) infection*”. De hade tittat på olika boskapslinjer, med eller utan infektion, och mätt visa substanser i blod (framför allt cytokiner) och analyserat SNP-markörer i utvalda gener. Korrelation kunde göras (för vissa gener) med känslighet för infektion (bl.a. IL-8, iNOS, IFNG)

Section 1 ”Biotechnology and medicine”

Sektionen var uppdelad i Plenary session och tre sessioner (”Perspective. Biotechnological tendencies in medical diagnostics. PCR diagnostics, Biochips”, ”Antibiotic resistance and new antibacterial preparations”, ”Genetically engineered and conjugated vaccines”).

Plenary session

AM Egorov, Chemistry Faculty, MV Lomonosov Moscow State University

”*Horizons of medical biotechnology*”

AI Archakov, Director, Institute of Biomedical Chemistry RAMS

”*Postgenomic technologies: the present and the future*”

Egorov var co-chairman med *AI Miroshnikov, Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moskva*

De inledande föredragen var av överblickande karaktär. I det andra föredraget nämndes lite om institutets verksamhet och resultat. Institutet arbetar bl.a. med att ta fram inhibitorer till dimeriseringen av HIV-proteaset. De har samarbete med utländska företag. De är också en del i HUPO. De är speciellt intresserade av profiler kopplade till cancer (ovarier, livmoder, bröst). Han pratade om multi-protein mönster för diagnos. Institutet tittar även på molekyl detektorer, AFM protein nanoarray. Ev har de samarbete med Belgien.

Session 1 Perspective. Biotechnological tendencies in medical diagnostics. PCR diagnostics, Biochips

VM Govorun, Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of RAMS

“Modern technologies for human genotyping analysis”

Talade om behovet av effektiva och billiga metoder för genotypning. Gick igenom olika metoder för SNP-analys.

OO Favorova, Russian State Medical University

“New biotechnological approaches to diagnostics and treatment of Multiple sclerosis”

Gick igenom olika gener för vilka SNP-analys kan användas för diagnos av MS. Visade att kombinationer av markörer är bra för diagnos.

(TNF-238-B1/TNF-308-A2/CTLA4-G: 17,4 % och ca 9 % med MS)

(DR18/TGFbeta1-509-C/CTLA4-G: 18 % och <10 % med MS)

LP Kuzmina, RAMS Institute of Occupational Health

“Genetic studies in occupational health”

Fokuserade föredraget på kronisk bronkit och gener som skulle kunna vara kopplade till detta. Pratade om bl.a. detoxifierande gener: CYP1A1-P450 1A1, GST M1. Då det vid bronkit uttrycks mycket proteaser hade de även studerat sådana (mutationer, PCR).

AB Chetverin, Institute of Protein Research, RAS

“Overcoming the PCR diagnostics problem by the molecular colony technique” (fanns även som poster)

Hade tagit fram en metod som skulle vara känsligare än vanlig PCR för kliniska prover med mycket bakgrunds-DNA. Gick ut på att target-DNA göts in i polyakrylamidgel och att PCR:en kördes i denna. Därefter blotting till nylonmembran och hybridisering med radioaktiv probe (på min fråga sades att de skulle nu testa med fluorescerande probe).

Detektionsgränsen sades vara 1 DNA molekyl och 3 RNA molekyler i ett 0,1 ml blodprov.

Publicerat i *Biotechniques* 33, 150-, <http://rna.protres.ru>

VI Tishkov, Chemistry Faculty, MV Lomonosov Moscow State University, Moscow

“Diagnostic DNA-microchips for pathogens and antibiotic resistance definition”

Talade om DNA-chip för diagnos av antibiotikaresistens och bakteriestammar.

Ingår i konsortium ”Stuttgart GenoMik Competence Network” som består av ryska institut (Dept Chemical Enzymology, Lomonosov Moscow State University och National Research Center for Antibiotics, Moscow) tillsammans med företaget Eppendorf och fyra tyska institut (Robert Koch, Univ Stuttgart, X, Y).

Har tagit fram chip för TEM, SHV, GyrA, ParC, Staph, Enterococcus. Avsett för kliniska prov.

Har identifierande chip för 18 stammar (nocosomial)

YuD Ivanov, VN Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry RAMS, Moscow

“Revelation of antigen/antibody complexes by methods of optical biosensors and atomic force microscopy”

Gick igenom något som liknade BiaCore samt ett system som utnyttjade AFM och cantilevers för detektion. Hade testat med HbsAg och HepC. Samarbetat med IBMH och State Medical University, båda Moskva.

BB Dzantiev, AN Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow

“Membrane analytical systems for medical diagnostics”

Talade om membranbaserade system med polyelektrolyt som “membranbärare”. Mesta delen av tiden talades om immunokromatografimetod, som även vidareutvecklats till ett automatiskt bärbart system (ev tillsammans med Puschino?).

Testats bl.a. för detektion av *Legionella pneumophila* och ett antal narkotiska preparat. Ger svar inom 10 min och detektionsgränser ligger på ca 1000 Legionella celler och ca 250 ng/ml av morfin. Systemet har även satts upp för *Francisella tularensis* tillsammans med Obolensk.

Session 2 Antibiotic resistance and new antibacterial preparations

Helmut Hahn, Free University of Berlin, Tyskland

“Resistance to new antimicrobial drugs – a challenge for medical microbiology”

Gjorde en genomgång av problemet med antibiotika resistens i världen.

T Ulrichs, MPI for Infection Biology, Berlin, Tyskland

“Novel drug targets in antimycobacterial therapy”

Visade på tre sätt att hitta nya antibiotika:

- 1) genetiska krav för *in vivo* växt. (Exempel isocitrat lyas som krävs för fettsyresyntes *in vivo*)
- 2) skyddsstrategier (SigF inhibitorer, sigma faktor som behövs för RIF resistens)
- 3) bakterie-värd interaktioner

Tryckte på att vi måste känna allt om organismen (genom, proteom, transkriptom, HTS-proteomik) för att hitta nya target.

D Ostrovsky, Bakh Institute of Biochemistry, Moscow

“Investigation of novel metabolic pathways in bacteria in search of better biosafety”

Talade om isoprenoid biosyntes. Inhibitorer i biosyntesvägen skulle kunna vara nya antibakteriella substanser.

AP Kaplun, MV Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow

“Nanoparticles for delivery of medical and diagnostic preparations as the models for transport systems in organisms”

Föredraget handlade om liposomer och modifiering av dessa för styrning.

Jim Brandle, Ontario, Canada

“Molecular pharming”

Talade om uttryck av IL-10 i tobak. Plantmaterialet skall ätas (det är en låg-nikotin variant) för att behandla Inflammatory Bowels Disease (t ex Crohn's disease). Har testats i möss. Utvecklingen drivs av ett företag, Plantigen.

Session 3 Genetically engineered and conjugated vaccines**NG Puchkova, Institute of Immunology, Moscow***“Conjugated polymer-subunit vaccine Grippopol: technology, application, efficiency, prospects”**“New conjugated influenzal vaccine, obtained with conservative antigen virus use”*

Talade om hela historien för utvecklingen av vaccinet GRIPPOL (influenza vaccin) som drivits av ett konsortium av flera institut.

Talade bl.a. om den högmolekylära polymeren Polyaksidonium som används som bärare. Den är immunostimulerande.

GMP-produktion i fabrik nära Ufa.

Pratade också om utveckling av nya polyvalenta influensvacciner. Interna antigen.

PG Aparin, Institute of Immunology, Moscow*“Enteric polysaccharide vaccines based on bifunctional molecules”*

- 1) Ny princip för konjugerade vacciner. ”Polyakcidonium” för konjugering
- 2) Isolerat ett fragment av LPS med accepterbara negativa effekter. Behöver ej tillsätta adjuvans, tillräckligt bra ändå.

IG Siderovich, Institute of Immunology, Moscow*“Conjugated anti-HIV vaccine”**“HIV worse than plague”*

Har tagit fram en vaccin kandidat som håller på att testas. Består av fusion mellan p24-gp41 som kopplats till ”Polyakidonium”, vilket gav 10 x högre immunsvär. Kan mäta upp cellproliferation efter en (1) immunisering i möss. Inducerar bildandet av antikroppar. Har bra neutraliserande effekt. Tror de kallar vaccinet ”Vichepol”.

Sera från HIV-infekterade människor reagerar med fusionsproteinet.

EC Severin, Research Center of Molecular Diagnostics and Therapy*“Conjugated vaccines based on heat shock proteins”*

Arbetar med att utveckla anti-tumör vacciner. Har fuserat E7 proteinet (tumör associerat protein) med Hsp70 (även testat med andra HSP proteiner). Djurstudier har visat att fusionsproteinet leder till att tumörer minskar i omfattning.

Tanken är att Hsp70 skall styra E7 till APC, där det sedan kan presenteras på ytan och ge upphov till immunsvär.

Section 3 ”Biotechnology and Medicin”**VN Yarygin, Russian State Medical University, Russian Ministry of Health, Moscow***“Tissue cellular systems: biotechnological aspects”***LI Korochkin, Institute of Gene Biology RAS, Ryssland***“Genetic engineering approach to the regulation of human stem cells differentiation”*

Presenterade resultat från flera institut, de flest under RAS men även Uppsala univ. fanns med. Nämnde ett företag – Virola (?). Stroma celler från benmärg som fås att differentiera med hjälp av specifika inducers.

Gick igenom arbete som gjorts med Drosophila som modell.

SE Severin, Moscow Research Institute of Medical Ecology, Moscow

"The use of xenogenic cells in immunotherapy of tumor-associated diseases"

Talade om vaccinering mot tumörer (melanoma). Hade tagit human-melanomceller som göts in i en gel (4% polyakrylamid) som lades subkutant hos möss. Detta hade god effekt. Erhöll produktion av lymfocyter riktade mot musens melanomceller. Har även gjort försök på människa (visade bilder). Har nu påbörjat Fas 1 kliniska försök.

GT Sukhikh, Research Center for Obstetrics, Gynaecology and Perinatology, RAMS

"Tissue-specific human stem cells: producing and prospects of their application"

M Marcacci, Instituti Ortopedici Rizzoli, Bologna, Italien

"Repair of bone defects with autologous cultured bone marrow stromal cells"

Hade tagit hydroxylapatit (HA) och tillsatt bone progenitor celler. Testat först på fårmodell och sedan gått in i människa. Visade ett flertal patienter med benbrott som behandlats. Kliniska försök startade 2001.

Session 6 "Genetic Engineering for Medicine and Biotechnology"

AI Miroshnikov, Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

"Insulin: the past, present and future"

Miroshnikov talade om den lyckade historien med att utveckla kommersiell produktion av insulin i Sovjet/Ryssland. Proteinet uttrycks i *E. coli* som ett fusionsprotein med ProteinA och med InsulinA-B-C. Insulin A-B-C har modifierats så att klyvning genererar moget Insulin. Sade att produktionen skulle ha gjorts i Kazakstan (på 80-talet), men på grund av att Kazakstan 1991 blev ett eget land kunde inte detta göras. Produktion har därför satts upp på institutet ? (Shemyakin & Ovchinnikov). Fanns en gammal anläggning som behövde moderniseras, vilket gjordes 1988. Har genomgått alla kliniska försöksfaser, och kan producera insulin för att täcka Moskvas behov. Väntar nu på det slutliga godkännandet för att börja sälja. Är villiga att överföra tekniken till andra.

Framtid: tagit fram varianter av insulin, bl.a. tetramert med högre stabilitet.

AV Maksimenko, Russian Cardiology Research-and-Production Center, Ministry of Health

"Are the sources of biotechnological thrombolytics exhausted?"

Talade om arbete med Pro-urokinase (Purolase) och hur de arbetad med att ta fram denna. De har utgått från uPA och modifierat denna i N-terminalen. Purolase har bättre egenskaper än uPA och tPA.

SN Kochetkov, VA Engelhardt Molecular Biology Institute, RAS

"Recombinant enzymes for anti-virus preparation screening"

Talade om HIV RT och HCV RNA polymeras och försöken att hitta nya inhibitorer till dessa.

SV Kostrov, Institute of Molecular Genetics RAS, Moscow

"Modified enzyme constructing for the biotechnology"

Gick igenom försök att hitta/skapa enzym med ändrade egenskaper. Gav några exempel: (1) tagit cellulosa-bindande domänen från glykosyl hydrolas och fuserat denna till laktas. Kan därigenom immobilisera fusionproteinet på en cellulosa-fiber – användning för att ta bort laktos från mjölk, (2) scrambling av delar från två proteaser för att hitta ett värmestabil

proteas, (3) ändrat strukturen för Glu-endopeptidas, samt (4) letar efter kollagenas som är aktivt vid låga temperaturer.

NM Smirnov, Saint-Petersburg State University, "BIOTECH" Ltd, Saint-Petersburg
"Production of human recombinant proteins on the base of yeast systems"

Talade om expressionsystem i *Pichia pastoris*. Har uttryckt bl.a. IL-2, godkänt som läkemedel.

VO Popov, AN Bakh Institute of Biochemistry RAS

SS Shishkin, AN Bakh Institute of Biochemistry RAS

A Grigoriev, Institute for Biomedical Problems RAS

MP Kirpichnikov, Chair of Bioengineering, Biological department of Lomonosov MSU, Moscow

"Myostatin – a new potential target to increase muscle hypertrophy"

Redogjorde för verksamhet i syfte att kontrollera myostatin (MSTN), tillhörande TGF-beta familjen. Påverkar tillväxten av muskelmassa. Finns olika sätt, talade bl.a. om försöken att hitta antagonister till MSTN samt att de ev skulle ta fram iRNA för att påverka transkriptionen.

Har upptäckt polymorfism i genen för MSTN.

GE Pozmagova, Center of Bioengineering RAS, Moscow

"PGEk – a new recombinant protein vector for therapy"

Proteinvektorn består till största delen av huEGF domänen, den N-terminala delen har modifierats till en DNA-bindande domän. Dessutom har styrsignal (KKKRRKVE) till cellkärnan inkorporerats. Har testat administration av antisense nukleotider *in vitro*, med lika gott resultat som vid lipofektion. Flera institut har varit inblandade i arbetet, alla under RAS.

Section 6 "Biocatalysis and Biocatalytic Technology. Nanotechnology"

SD Varfolomeyev, Chemistry Faculty, MV Lomonosov Moscow State University, Moscow

"Biocatalysis: new resource technologies"

Talade om den kommande energibristen i världen (Post-Oil Era) och vad som skulle kunna göras åt denna. Vid Moskavs universitet tittar man på: (1) CO₂-reduktion, (2) nya typer av polymerer, (3) nya bränslen, bl.a. biobränslen, samt (4) nya typer av bränsleceller (biokatalysatorer).

VA Bykov, NTMDT Co., Ryssland

"Potential of atomic force microscope in molecular biology"

NT-MDT består av flera företag vilka utvecklar AMF och applikationer bl.a. för biologisk forskning. Har en websida: www.ntmdt.com

GB Khomutov, Faculty of Physics, Moscow State University, Moscow

"Organized planar biomolecular and hybrid organic-inorganic nanostructures"

Talade om artificiella membran/filmer med inkorporerade nanostrukturer. Arbetade med nanokompositer, amfifila polyelektrolyter, monolagerstrukturer och inkorporerade nanostrukturer. Gav exempel på: (1) cytochrom C, electron tunneling, (2) Pd-strukturer i LB-lager, (3) 2 lager LB-filmer, DNA komplex, och (4) DNA/CdSe Quantum-stavar komplex, Quantum-stavar.

IA Rhyzikov, Institute for Theoretical and Applied Electrostatics RAS, Moscow
“New opportunities in functional and intelligence materials technology”

AA Yaroslavov, Chemical Department, MV Lomonosov Moscow State University, Moscow
“Molecular design of nanofilms composed of lipids, enzymes and synthetic polyelectrolytes”
Föredraget handlade om liposomer med polära/laddade fettsyror eller inkorporerade proteiner. Dessa kunde fås att klustras genom att tillsätta en polykatjon. Genom detta kunde man ladda liposomerna mer effektivt (ökad transport genom membranet).

Section 2.1 ”Biotechnology in Plant Breeding”

YuL Dorokhov, Moscow State University, Center “Bioengineering” RAS, Institute of Genetic and Cell Engineering NAU, Ukraina

“Synthesis of pectin-methylesterase interferes with replication and movement of Tobacco mosaic virus”

Isolerat och sekvenserat genen för PME. ProPME inhiberar TMV reproduktion. Stimulerar produktion av siRNA och inhiberar MP-mediad Pd-gating. Inhibering av PME leder till en ökad produktion av TMV.

A Pandey, Center for Biotechnology, Allahabad, India

“Tools and techniques associated with molecular markers and its advancements”

Gick igenom en massa PCR-tekniker som kan användas. Verkade bara ha arbetat med ett fåtal av dessa.

YuF Drygin, IPCB Moscow State University, Moscow

“Highly sensitive technology for molecular detection of viroids and plant viruses; construction of devices for large-scale diagnostics”

Talade om PSTVd projektet som hade till syfte att ta fram metod för massdiagnostik och som kan användas i fält. Det tidskonsumerande steget var provberedningen. Hade för detta ändamål tagit fram en manuell press som genererar tillräckligt mycket ”sap” för analys. Använder en ny chaotropisk substans istället för GuSCN för rening av nukleinsyran, talade inte om vilken. Hade tagit fram en minikolumn kassett med ny typ sorbent, passar 96-håls plattor. Eluatet kan även användas för PCR. Hybridiserade med probe inmärkt med dien-Pt. Känsligheten är <1 pg RNA.

AM Starodubtseva, Centre “Bioengineering” RAS, “Doka-Gene Technologies”, Moscow

“Construction of transgenic potato varieties with novel agro-technical properties”

Arbetar med tre projekt: (1) Colorado skalbagge resistens, (2) X,Y virus och PSTV resistens, samt (3) “Late Blight” resistens. I 1 och 3 har mikrobiella gener utnyttjats. Gick igenom 1 mer detaljerat: använde B.t. delta-endotoxin, transgena potatisar (har USA patent).

Joint Russian-Finnish Symposium “Experience and Prospects of the Russian-Finnish Cooperation in the Field of Biotechnology”

T Korpela, University of Turku, Finland

“At the interface of Russian-European Union Life Science: experiences by the Finnish-Russian Joint Biotechnology Laboratory”

P Heikkila, Development Director, Raisio Feed, Raisio, Finland*“Histidine rich feed for diary cows – a case of a successful Finnish-Russian R&D project”****Chemical department, Helsinki University, Helsinki, Finland****“Application of electrochemoluminescence in diagnostics”****MF Mineeva***, *“Development and in vitro application of enzyme biotest system for screening, evaluation of biological activity and safety of biotechnology products and natural biologically active compounds”*

Talade om utvecklingen av en bioassay utnyttjande antioxidant enzymer. Glutation reduktas och NADPH oxidas. Kunde påvisa immunostumulering (aktivering eller inhibering). Letat efter aktiva substanser i växtextrakt.

ES Severin, Director, Research Center of Molecular Diagnostics and Therapy*“Development of novel concepts of immune- and PCR diagnostic methods”*

Talade inte om detta utan om “targeted delivery of drugs” för anti-cancer terapi. Institutet har studerat olika sätt för detta: vehiklar, toxiner (Resperkrins ?), receptor-medierad endocytos. Föredraget beskrev det sista sättet. Pratade om alfa-fetoproteinet och dess receptor, som ej finns på normala celler dock på cancerceller. Gjort fusioner alfa-fetoprotein med substanser eller antisense oligonukleotider. Bl.a. antisense mot telomeras. Har erhållit god effekt.

Plenary session “Problems of Biosafety. Bioethics”***MP Kirpichnikov, First Deputy Minister, Ministry of Industry, Science and Technology of the Russian Federation****“Legislative base of genetic engineering activity and the tendency of its development”*

Talade om internationella och europeiska överenskommelser/direktiv. EU fokuserar på användningen av GMO medan US, CAN fokuserar på konstruktionens säkerhet. Tre saker påverkar: (1) Säkerhet, (2) Etik, och (3) allmänhetens åsikt. Den tredje ser man som inadekvat, social påtryckning på grund av ekonomiskt tryck ”save their own business” .

Colorado-skalbaggen är ett stort problem i Ryssland.

GMO ≠ bioterrorism, det är olika problem

Lag antogs 2000, denna adresserar säkerhetssystem, riskbedömning och registrering.

Tre ministerier behandlar dessa frågor:

Ministry of Industry, Science, and Technology (safety of GMO, Biosäkerhet- har ett speciellt department)

Ministry of Health Care, säkerhet hos produkterna, läkemedlen

Ministry of Agriculture, fröer och växter.

Finns 82 kommissioner som behandlar Biosafety.

Internationella standards har gett rutiner för inspektioner och registrering (МКВГИД, har en websida <http://www.iacgea.ru>)

Viktiga problem är: post-registrering monitoring, monitoring av miljön, monitorering av människans hälsa, intellektuella rättigheter, uppfinnares rättigheter, överföring av teknologi (kan man ta patent på levande organismer, naturliga substanser?)

Måste ha en konstruktiv debatt med samhället.

Forskaren är ansvarig för forskningen, kunskapen. Staten, samhället är ansvarigt för användningen av kunskapen.

Kommer i framtiden lägga stor vikt vid övervakning efter registrering.

BG Yudin, Director, Human Research Institute of RAS, Russia

“Ethical problems of contemporary biotechnologies”

Etiska problem idag:

(A) Vad är socialt accepterat uppträdande? Drog exempel:

(1) behandling av hyperaktiva barn med Prozak.

(2) Föräldrars önskan om pojkar, leder till överskott av män, vilket sedan leder till social stress.

(B) Science har blivit Techno-science. Affärer och ekonomi styr. Forskarna måste skaffa sig egna pengar. Vad händer med grundforskning?

(C) Individens behov styr, produkten vänder sig till enskilda konsumenter. Leder till aggressiv marknadsföring.

I Ryssland saknas en motsvarighet till USAs ”Presidential Committee of Bioethics”.

A Vlavianos-Arvanitis, Biopolitics International Organization, Greece

“Peace and the environment – Biotechnology as a powerful tool”

VA Tuteljan, Chief-Scientific Secretary Presidium of RAMS, and Director, Research Institute of Nutrition, Ryssland

“Biotechnologies and food: medical and ethical problems”

Ansåg Ryssland ligger före Europa då man preparerat befolkningen för bioteknikprodukter. Använt sig av massmedia och utbildning.

LV Kalakoutskii, Deputy director, GK Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Puschino, Ryssland

“Handling of microorganisms: rules explicit and implicit”

Talade egentligen om hur vi får formella regler och föreskrifter att tillämpas i praktiken.

Startade med att prata om klassificeringen av mikroorganismer och de ändringar som tillkommit under senare år. Pratade om vikten av att ha standard/referensstammar och att dessa förvaras/lagras på riktigt sätt så att de bevaras i originalform.

Pratade även om Containment och Protection av stammar. Sade att spridning/överföring av stammar måste ske under kontroll. Sade att hantering av patogena organismer måste ske under noggrann övervakning.

Det mesta av föredraget skall ha publicerats i Journal of Science.

KG Skryabin, Director, Center of Bioengineering RAS, Ryssland

“Plant world and genetic engineering”

Höll ett brandtal för försvaret av användningen av transgena växter. Ingen förståelse över huvudtaget för EU:s inställning. Sade att de som idag använder GM-växter kommer att vara framtida vinnare.

Gick igenom flera exempel på vad som introducerats i växter och vad dessa kan producera. Sade att inte en enda transgen växt är registrerad i Ryssland.

AV Barmintsev, Moscow State University, Moskva

“Transgenic fishes”

Pratade om teknologin för att göra transgena fiskar.

8.6.1. Rekommendationer

Kongressen gav ingen heltäckande bild av pågående verksamhet i Ryssland med relevans för HERA-projektet. Dock presenterades verksamhet från vissa institut vilket borde följas upp. Exempel är:

Institute of Molecular Genetics, Moskva. ED Sverdlov presenterade verksamhet där de undersökt skillnader i genuttryck vid virala infektioner. Institutet samarbetar med Vektor, Novosibirsk och USA.

Vektor, Novosibirsk. VA Belyavskaya presenterade en poster beskrivande verksamhet där de tittat på infektionskänslighet hos boskap genom att analysera substanser i blod (framför allt cytokiner) och SNP-markörer för utvalda gener.

Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry. VM Govorun talade om SNP-analyser.

Russian State Medical University. OO Favorova talade om SNP-markörer för diagnos av MS.

Institute of Occupational Health. LP Kuzmina talade om kronisk bronkit och gener som skulle kunna vara kopplade till detta.

8.7. Joint Service Scientific Conference on Chemical & Biological Defense Research, November 17-20, 2003. Baltimore, USA.

Författare: Rune Berglind

Sammanfattning

Denna konferens har stark anknytning till U.S. Army Edgewood Chemical Biological Center och de olika försvarsgrenarna. Inriktningen är den samma som den konferens vi håller vart tredje år i Sverige, Symposium on Protection against Chemical and Biological Warfare Agents". Deltagarantalet var ca 400 och majoriteten kom från försvarsforskningen och försvarsindustrin i USA. Endast en liten del kom från övriga världen. Jag ensam representerade Sverige.

Konferensen var uppdelad i 14 olika sessioner, varav en var postersession. De sessioner och postrar som jag främst intresserade mig för var dem med anknytning till medicinskt skydd, egenskaper hos BC- och simili-ämnen, behandlig, nya teknologier samt toxikologi. I anslutning till denna konferens kommer en CD ut med proceedings.

De sessioner som jag hoppades skulle ge nya rön var bl.a. "Medical Protection, Therapeutics och Toxicology". Både rubriker och abstracts gav intrycket av att ge ny information om kemiska vapen.

Organofosforföreningar

Två föredrag handlade om att utnyttja 'rekombinant scavenger' för acetylkolinesteras som skydd mot förgiftning av bl.a. soman. Principen för att detta skydd ska verka är att det sätts in före förgiftningen, d.v.s. som profylax. I djurförsök har det visats att enzymet höjde toleransen för bl.a. soman. Det nya var att enzymet var humant och ej inducerade till antikropps bildning samt kunde produceras i stora kvantiteter hos lakterade djur. Tanken är att

enzymet skall utvinnas ur mjölken. Användbarheten av detta system togs inte upp under föredraget (Huang *et al.*, Chambers *et al.*). En profylax som beskrevs var PANPAL som är en blandning av pyridostigmin, benactyzinklorid och trihexaphenidyle. Denna kombination hade en skyddsfaktor på 3,3 vid exponering för soman. Om dessutom HI-6 eller atropin gavs efter exponeringen för soman höjdes denna skyddsfaktor ytterligare (Kassa *et al.*).

En möjlig substans som skulle kunna användas i behandling av nervgasexponerade är ”Brain derived neurotrophic factor (BDNF)” som uttrycks i nerver i samband med att skada uppstår i dess omgivning. Dess verkan är att mildra effekten och rädda celler i det skadade området. Upprepad exponering (1/dag, 5 dagar/vecka i 2 veckor) för VX i låga doser (0,2 till 0,4 LD50) har visats öka uttrycket av BDNF mRNA och anses vara en anpassning för att förhindra cellskador (Pizarro *et al.*).

Biokemiska förändringar i blod, EEG, muskeltonus hos minigris som exponerats akut för sarin (5 – 35 mg/ m³) i tio minuter beskrevs i ett anförande. Grisarna exponerades i en kammare för sarin i gasfas. On line registrerades EEG, EKG, blodtryck och andning. Här noterades en sänkning i grundfrekvensen i EEG under exponeringen. Denna sänkning återgick till det normala 30 minuter efter avslutad exponering. Blodglukos steg markant efter avslutad exponering liksom hjärtfrekvensen. P-R intervallet i EKG förändrades. Analys av blodet visade att nära 100% gasen återfanns i blodkropparna (Hulet *et al.*).

Korrelationen mellan inhiberat acetylkolinesteras (AChE) i blod och i hjärna undersöktes på marsvin som exponerats för subakuta doser soman i upp till två veckor. Korrelationen mellan inhiberingen av AChE i blod och i hjärnvävnad var hög när aktiviteten var sänkt med 12 till 50%. Var inhiberingen AChE högre än 50% i hjärnvävnad var korrelationen i relativ aktivitet mellan hjärna och röda blodkroppar låg (Andersen *et al.*).

Postersessionen var till en del repetition av föredragen, vilket var trist. Det var främst kolinesterasstudierna som var repeterade som posters.

En poster visade att möss som under en tvåveckorsperiod exponerats för VX (subakuta doser) förlorade förmågan att hitta hem i ett s.k. ”open field test”. Mössens simförmåga reducerades även den. Återhämtningen till kontroldjurens beteende tog minst två månader (Lumley *et al.*).

Den poster som avvek från alla andra handlade om växtreaktatorer för reaktivering av AChE och ChE som inaktiverats med organiska fosforföreningar. I studien hade ett stort antal växter med kolinesteraser undersökts med avseende på reaktatorer av just kolinesteraser. En av de få som stod vid sin poster lovade att sända sin avhandling som behandlade detta ämnesområde (Thakur *et al.*).

Tre posters (Petras *et al.*, Price *et al.*, Williams *et al.*) tog upp apoptosis och exponering för soman. I korthet visade undersökningarna att en mycket hög dos soman (1,6 x LD50) inducerade apoptotiska reaktioner i hjärna hos råttor. Markörer som analyserades var caspas-3 och intracellulär adhesionsmolekyl-1 (ICAM-1), vasculär adhesionsmolekyl (VCAM-1), IL-1 och IL-6).

En intressant poster visade en datormodell (modellering) för somanförgiftning där omsättningen av substans och biokemiska/toxiska parametrar var uttryckt som parametrar i fyra olika viktiga ”compartments” hos marsvin. Modellen gav möjlighet att på förhand

indikera möjliga scenarios vid förgiftning av nervgaser. Förutsättningarna var att försöksdjuret är karakteriserat och att substansens egenskaper är kända (Trap *et al.*).

Genomgående för de flesta föredragen och posters var att för verifikation av nervgas i vävnad gjordes s.k. fluoridaktivering av substansen. Metoden användes för de flesta vävnader som analyserades med avseende på intern dos.

Senapsgas

Ett antal föredragshållare och posters redovisade resultat från forskning om senapsgas och dess effekter, verkningsmekanism, detektion i biologiskt material samt skydd mot skador på hud. Främst rapporterade forskarna med olika detaljrikedom om induktinosvägen för apoptos och necros av hudvävnad som exponerats för senapsgas. Av allt att döma har forskningen kommit närmare beträffande orsakssambanden mellan de intracellulära och intercellulära kaskadreaktioner som följer på exponering för senapsgas och gasens inneboende egenskaper. Detta forskningsfält bör följas i väntan på att hudforskningen återupptas vid FOI NBC-skydd (Chen *et al.*, Cowan *et al.*, Jin *et al.*, Ray *et al.*, Zhanag *et al.*).

Föredrag av intresse

Andersen, S.M., Nguyen, L.K., Moran, A.V., Wolf, L., Clark, C.R., Hanssen, K.A., Sipos, M.L. Inhibition of blood cholinesterase activity is a poor predictor of acetylcholinesterase inhibition in brain regions of guinea pigs exposed to repeated doses of low levels of soman

Chambers, C., Gaiter L., Tipparaju, P., Luo, C., Bansal R., Sun, W., Kerchofer, R., Doctor, B.P., Saxena, A. Comparison of biochemical and pharmacokinetic properties of native and recombinant bovine acetylcholinesterase

Cowan, F.M., Smith, W.J., Moran, T.S., Parris, M.M., Williams, A.B., Sciuto, A.M. Sulfur mustard- and phosgene- increased IL-8 in human small airway lung cell cultures: Implications for medical countermeasures against inhalation toxicity

Kassa, J., Fusek, J., Krejcová, G., Ševelová, L., Bajar, J. The efficacy of the Czech original prophylactic mixture, called PANPAL, as pharmacological pre treatment of tabun or soman-poisoned rats of mice

Huang, Y.J., Lazaris, A., Cerasoli, D.M., Bellemare, A., Leduc, M., Breuillard, S., Lenz, D.E., Karatzas, C.N. Expression of recombinant human BChE (ProtexiaTM) in the milk of transgenic mice

Hulet, S.W., Jakubowski, E.M., Forster, J.S., Miller, D.B., Benton B.J., Muse, W.T., Way, R.A., Edwards, J.L., McGuire, J.M., Scotto, J.A., Burnett, D.C., Gaviola, B.I., Jarvis, J.R., Evans, R.A., Matson, K.L., Crouse, C.L., Manthei, J.H., Mioduszewski, R.J., Thomson, S.A. Toxic effects of a whole-body inhalation sarin (GB) vapour exposure in the gettingen minipig

Jin, X., Ray, R., Xu, G., Chin, J., Ray, P. Studies on mustard-simulated proteases and inhibitors in human epidermal keratinocytes (HEK): Development of antivesicant drugs

Lumley, L.A., Saviolakis, G.A., Robison, C.L., Dawood, M.Y., Midboe, E., Prolonged inhibition of motor activity following repeated exposure to low levels of chemical warfare agent VX

Petras, J.M., Mog, S.R., Sipos, M.L., Moran, A.V., Yourick, D.L. Neurology and neuropathology studies of sub acute exposure to soman: Initial findings

Pizarro, J.M., Saviolakis, G.A., Midboe, E., Bah, M.J., Alagappan, A., Meyerhoff, J.L., Shah, J.D., Chang, W.E., Robison, C.L., Lumley, L.A. Repeated exposure to low levels of the chemical warfare agent VX activities cell survival related gene in mouse brain

Price, R.A., Williams, A.J., Velarde, L.C., Koplovitz, I., Schultz, S.M., Chen, R., Tortella, F.C., Dave, J.R. Studies on neuronal apoptosis following soman exposure in the rat

Ray, R., Bhat, K.R., Rosenthal, D.S., Benton, B.J., Anderson, D.R., Holmes, W., Petralli, J.P., Hamilton, T., Ray, P., Smith, W.J. Antivesicant strategies based on DNA repair and apoptosis; Chen, Y., Zhang, P., Caridha, D., Smith W.J., Chiang, P.K. 3-Deaza-aristeromycin (DZAri), an inhibitor of methylation, abrogates apoptosis induced by sulfur mustard in human keratinocytes

Thakur, S.S., Garcia, G.E., Leader, H.N., Moorad-Doctor, D., Gupta, R., Gordon, R.K., Doctor, B.P. Detoxification of chemical warfare agents by the plant cholinergic system

Trap, H.C., van der Schans, M., de Jong, L., Langenberg, J.P. A validated four compartment PBPK model for the toxic P(-) isomers of the nerve agent soman in the guinea pig using labview

Williams, A.J., Berti, R., Price, R.A., Velarde, L.C., Koplovitz, I., Schultz, S.M., Tortella, F.C., Dave, J.R. Inflammatory gene response in rat brain following soman exposure

Zhanag, P., Chen, Y., Caridha, D., Smith, W.J., Chiang, P.K. Molecular mechanisms of sulfur mustard vesicant-induced cell death: Early and late cell responses

8.7.1. Rekommendationer

Den trend som kunde skönjas var att exponeringstiderna för organiska fosforföreningar var längre och att exponeringen försiktig. De effektmarkörer som redovisades i både föredrag och posters var inriktade på inflammation. Dessa markörer indikerar ett relativt akut tillstånd och representerar inte lågdos-exponering. För att inte duplicera andra forskares fynd bör vi mer gå på sub-kronisk exponering, sena effekter och markörerna får vi söka i respons på DNA-induktionsnivå. En mycket intressant inriktning är vilka mekanismer som verkar skyddande på oskadade celler och hur denna skyddande mekanism triggas. Här bör en allvarlig studie göras på om behandling alltid är av godo för den som är förgiftad. När det gäller senapsgas och liknande ämnen arbetade många med att kartlägga kaskaden av reaktioner som leder till blåsbildning. Målsättningen med denna inriktning är att lindra eller förhindra uppkomsten av blåsor som följd av senapsgasexponering. Om vi skall arbeta med senapsgas så bör vi inte fokusera på kaskadreaktionen och blåsbildningen utan på den fråga som bl.a. Lars Trogen under flera år försökt få gehör för: Kan senapsgas inducera cancer och hur går denna induktion till?

Konferensen kommer att åtföljas av ett Proceedings som är digital. Min avsikt är att kopiera denna och skicka ut till dem som önskar ett exemplar.

9. Slutlig kommentar

Grundläggande medicinsk och toxikologisk forskning är en förutsättning för att Sverige skall kunna driva NBC-frågorna i internationella fora på ett välgrundat och övertygande sätt.

Nya forskningsinsatser motiveras bl.a. av att komplexiteten i förekomst och effekter på ekosystem, organismer, inklusive människan, och arvs massa av miljöföroreningar blir allt mer svåröverskådlig. Ett nytt hot i form av långlivade kemikaliers lågdoseffekter har kommit i förgrunden. Andra riskbedömningsproblem är t ex effekter på hormonsystemen, nervsystemets utveckling och immunsystemets funktioner hos djur och människa.

Den toxikologiska forskningen är av stor betydelse för utvecklande av verktyg och metoder för risk- och farlighetsbedömningsprocesser och för forskning om samband mellan dos/respons och exponering. Andra strategiskt viktiga frågor är att utveckla kunskapsunderlaget för prioriterade kemiska ämnen och ämnesgrupper samt att ta fram kunskap om kriterier och metoder för riskbedömningar.

Ur totalförsvarets perspektiv är denna forskning mycket viktig för att 1) förhindra framtida hälsoeffekter för exponerad personal vid internationella operationer och 2) för att bedöma möjligheten av slumpmässig koppling mellan exponering för låga doser av NBC-agens och långtidseffekter.

9.1. Samarbeten

Ett ökat nationellt och internationellt samarbete inom området kommer att eftersträvas. Metoder för molekylärbiologiska analyser kommer till viss del att sättas upp vid FOI NBC-skydd, men i stor utsträckning eftersträvas att samarbeta med universitet och högskolor där sådana teknikplattformar har byggts upp.

Samarbete rörande biodosimetri diskuteras med KI i Stockholm.

Inom N-området finns idag ett etablerat samarbete med *Armed Forces Radiobiology Research Institute* i USA. Möjligheterna att driva humanexponering och riskanalys som ett bredare internationellt samarbetsprojekt undersöks för närvarande, i första hand med Storbritannien, Holland och Kanada.