



Användning av mikronålar för administrering av vaccin

Tekniken bakom och dess för- respektive nackdelar.

Johanna Unger

Examensarbete i farmaci 15 hp
Receptarieprogrammet 180 hp
Rapporten godkänd: VT 2015
Handledare: Susanne Bredenberg
Examinator: Sofia Mattsson

Sammanfattning

Inledning: Vaccinering är ett framgångsrikt sätt att undvika sjukdom och eventuell påföljande död. Vid vaccinering initieras en respons från immunförsvaret som ger kroppen skydd mot den gällande sjukdomen. Det finns dock anledning till att finna nya vägar att administrera vaccin på då injektioner ger medicinskt avfall, det finns risk för återbruk av sprutor eller stöld av dem. Sprutor kan även upplevas som smärtsamma och behöver ges av utbildad medicinsk personal. Vaccinet i sig kräver kylförvaring för att inte brytas ned och bli overksam. En av de nya vägarna att administrera vaccin på är genom mikronålar (MN) som appliceras på kroppen och bildar mikroporer. Genom dessa mikroporer kan sedan vaccinet ta sig in i kroppen och starta ett immunsvär.

Syfte: Syftet med arbetet är att beskriva de tekniker som ligger i framkant när det gäller forskning om MN vid administrering av vaccin och MN för- och nackdelar.

Metod: Arbetet är en litteraturstudie. Litteraturen har sökts via databasen PubMed och sökmotorn Google med hjälp av fritextsökning och sökord var för sig eller i kombination. Till resultatdelen användes enbart originalartiklar.

Resultat: De olika tekniker som är i framkant i forskningen vid administrering av vaccin är solida MN som används tillsammans med ett plåster fyllt med vaccin, solida MN vars nålar är täckta med vaccin som löser upp sig inne i kroppen, lösliga nålar som löser upp sig vid kontakt med vätskan inne i huden och ihåliga nålar som liknar vanliga sprutor i och med att kärnan är ihålig och vaccinet är laddat inuti dem. Sedan finns det även svällande MN som använder sig av material som sväller vid kontakt med vätska. På så vis fungerar de antingen på liknande sätt som upplösande MN eller som en kanal för vaccinet att ta sig in i kroppen. Den enda tekniken som hittills kommit ut på marknaden är ihåliga MN i form av Intanza® som är ett influensavaccin.

Då ihåliga MN används som ett sätt att administrera vaccin är det väl beprövat och säkert. Nackdelen med den här metoden är att det kräver kylförvaring. De solida MN är enkla att framställa och mycket vaccin kan laddas i plåstret men dosen är högre än vid intramuskulär injektion och plåstret behöver sitta på under en lång tid. De solida MN som är övertäckta med vaccin behöver ingen kylförvaring men det finns en begränsning för hur mycket vaccin som kan laddas på nålarna. Lösliga MN lämnar inget vasst avfall, vissa tillverkningsmetoder är milda mot vaccinet och de behöver inte kylförvaras. Däremot måste hela nålen lösa upp sig och det är viktigt att använda oskadliga och biologiskt nedbrytbara material. För de svällande MN kan hastigheten på frisättningen av vaccinet ändras beroende på val av polymer. Även här är det viktigt med oskadliga ämnen.

Diskussion/slutsats: De tekniker som är ledande i forskningen är ihåliga MN, solida MN med plåster, solida MN övertäckta med vaccin, lösliga MN och svällande MN. Dess för- respektive nackdelar involverar bland annat enkel applicering, immunisering som ger effektivt skydd vid djurförsök och smärtfri applicering. Däremot behövs studier på människa då skillnaden i upplösningshastighet var väldigt stor. En del MN behöver även kylförvaring.

Nyckelord: mikronålar, vaccin, solida, lösliga, ihåliga

Introduktion

Vaccinering

Vaccinering är ett väldigt framgångsrikt sätt att undvika sjukdom och eventuell påföljande död (1). Detta gör att vaccinering även är väldigt kostnadseffektivt för samhället då cirka 6 miljoner människor annars förväntas insjukna och dö varje år till följd av en infektiös sjukdom. Vid vaccinering presenteras kroppens immunförsvar för olika patogener som initierar en respons (2). Vaccinet kan antingen bestå av attenuerade eller döda patogener alternativt av patogena subenheter och ges vanligen subkutant (3). Även andra vaccin håller på att utvecklas såsom vaccin mot vissa cancertyper (1). Dessa nya avancerade läkemedel är inte alltid lämpade att ges subkutant eller via tabletter, då de kan vara pH-känsliga, och behöver nya vägar att ta sig in i kroppen (4).

Problem att ta sig förbi

Tillverkningen av vaccin men även administreringen av den är generellt dyr och besvärlig (3, 5). Injektioner ger medicinskt avfall som behöver tas om hand för att inte riskera återbruk av sprutor eller stöld av dem. Vaccin kräver även kylförvaring för att inte brytas ned och bli oanvändbart (6, 5). I u-länder kan detta vara ett problem då administreringen ofta sker under enkla förhållanden (7). Alternativet är att vaccinet frystorkas men då behövs tillsats av injektionsvätska innan det kan administreras till patienten. Vaccinering kan orsaka både ångest och rädsla hos patienterna på grund av smärtan från nålen (8) och administreringen kräver utbildad personal (1). Ytterligare ett problem med de klassiska vaccinen är att en del av dem är dyra och besvärliga att framställa (3). På grund av detta finns anledning att finna nya vägar att administrera vaccin på. Två metoder som visats vara lyckosamma är intranasal- och oral administrering (5). Virusets som använts genom den första metoden är attenuerat influensavaccin (3) och poliovaccinet är den andra. Trots att dessa administreringssätt är effektiva för dessa virus innebär det inte att de här vägarna fungerar med flera andra virus. Därav finns det anledning att utveckla andra sätt och ett av dessa är genom mikronålar (MN) som appliceras på huden.

Huden

Huden består av flera olika lager, epidermis, dermis och hypodermis (2). Epidermis består i sin tur av flertalet lager där det yttersta kallas stratum corneum (SC) och är det som står i kontakt med omvärlden (9). SC består av döda keratinocyter som ligger lager på lager. Det är generellt mellan 10 μ m till 30 μ m tjockt där diametern på varje cellager är cirka 1 μ m. Tjockleken varierar beroende var på kroppen den mäts och är som tunnast på genitalierna, enbart ca 5-6 cellager, och är som tjockast på hälen som kan ha upp till 86 lager. SC blir oftast grövre ju äldre man blir då cellerna blir mer skadade på grund av yttre påverkan och även tjockleken på cellerna ökar. Däremot minskar ofta underhuds fett som är beläget i hypodermis (2). SC har till uppgift att skydda kroppens organ från yttre påverkan, däribland från olika patogener (1). På grund av detta är huden inte helt genomsläpplig och den maximala storleken på molekyler som kan passera SC tros vara 500kDa. De ska helst även vara lipofila för att på bästa sätt passera barriären (10). De flesta aktiva läkemedelssubstanser är större än så och ofta hydrofila och med en laddning. Huden används redan som ett sätt att administrera olika läkemedel som till exempel genom nikotinplåster, olika smärtlindrande salvor eller p-plåster (2, 13). Men för att kunna leverera läkemedel som normalt sett inte passerar hudens barriär på ett tillfredsställande sätt och i en terapeutisk dos är MN användbart då de bildar mikroporer i SC.

Mikronålar

Redan 1976 presenterades idén om MN av Gerstel och Place (11). De fick då patent på sin idé om en behållare som innehöll läkemedel och hade utskott som penetrerade

stratum corneum, hudens yttersta lager. Genom dessa utskott skulle läkemedlet sedan administreras ut i kroppen hos patienten. Patentet på MN kom 1976 men den första studien som visade på att permeabiliteten genom huden ökade via MN publicerades först 1998 (4). Forskarna tillverkade MN i silikon och använde sig av donerad hud och calcein för att utföra experimenten. Calcein har en molekylvikt på 622,53kDa (12) och är därför bra att använda som modellsubstans för läkemedel då den utan extern hjälp har svårt att passera hudens barriär (4). Genom dessa experiment kom de fram till att mängden calcein ökade upp till fyra gånger in vitro med MN jämfört med kontrollen.

Olika tekniker och tillvägagångssätt

Solida mikronålar

Idag finns det flera olika tekniker för MN att användas på. De kan vara solida och användas tillsammans med ett plåster och tillvägagångssättet kallas då "poke and patch" (1). De solida nålarna penetrerar då huden och bildar mikroporer, MN tas bort och ett plåster som innehåller t.ex. vaccin sätts på ytan. Vaccinet förs sedan in i kroppen genom diffusion tack vare mikroporerna som bildats efter nålarna (15). En variant på de solida MN är att nålarna täcks med läkemedlet som ska administreras, kallat "coat and poke". Väl inne i huden löses läkemedlet upp och frisätts i kroppen.

Solida MN med plåster

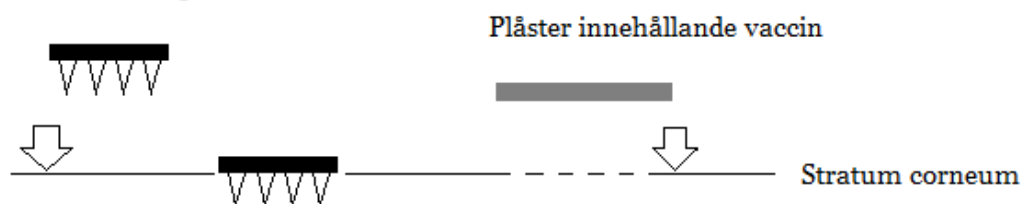


Bild 1 visar "poke and patch".

Solida MN överdragna med vaccin

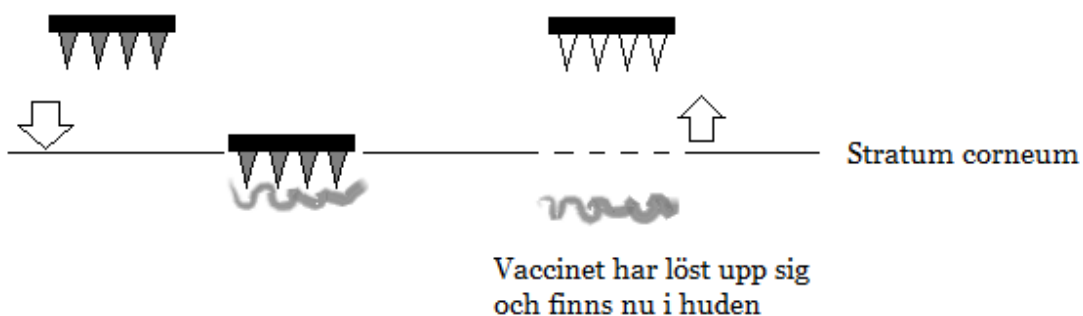


Bild 2 visar "coat and poke".

Mikronålar som löser upp sig

En annan teknik är att använda sig av MN som löser upp sig inne i kroppen, porösa MN eller biologiskt nedbrytbara MN (15). Gemensamt för dessa är att läkemedlet eller vaccinet är inkorporerat i MN och att de måste sitta kvar på huden till dess att läkemedlet har löst upp sig och frigjorts i kroppen. Det här tillvägagångssättet kallas för "poke and release" och är tillskillnad från "poke and patch" metoden en enstegsmetod.

Lösliga MN

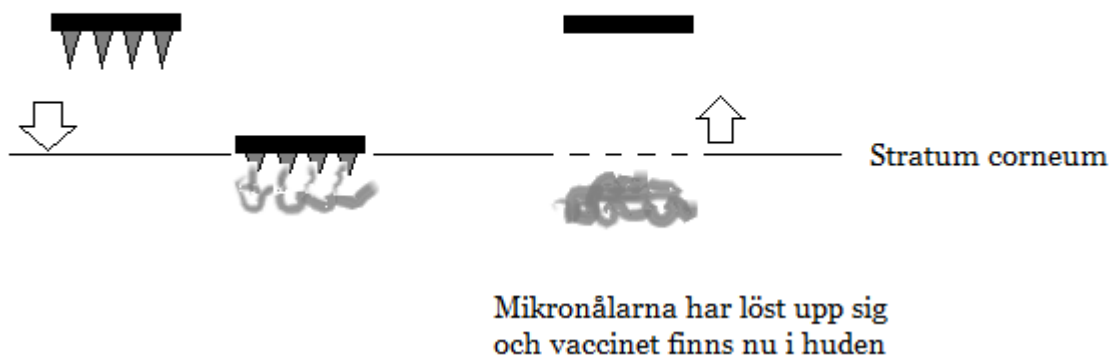


Bild 3 visar "poke and release".

Ihåliga MN

Precis som det låter är ihåliga MN precis just det, ihåliga (15). De liknar vanliga sprutor på det sätt att kärnan är ihålig och vaccinet är laddat inuti dem. Precis som de andra MN bildar de mikroporer i SC och väl inne i kroppen diffunderar vaccinet ut ur håligheterna. Det här tillvägagångssättet kallas "poke and flow".

Ihåliga MN

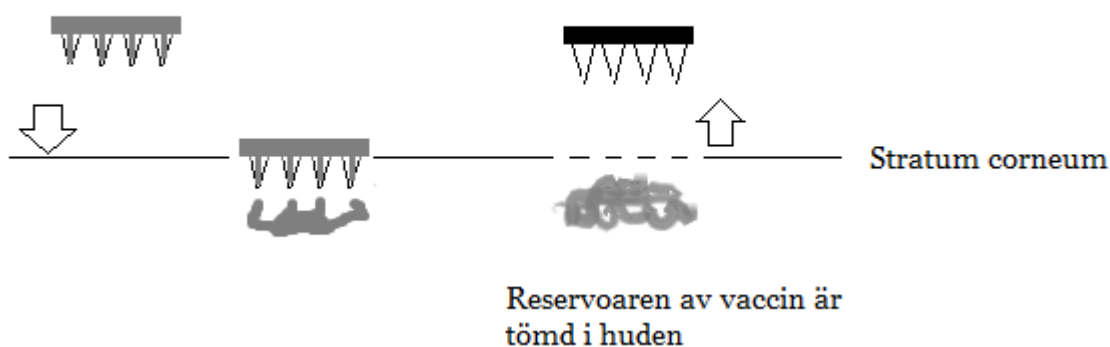


Bild 4 visar "poke and flow".

Mikronålarnas längd

Då SC består av döda celler och mikronålarnas längd är tänkt att penetrera detta lager men inte så mycket längre (4), bör detta vara ett smärtfritt alternativ till subkutana injektioner (13). Då huden i sig inte är helt slät, med både hår och rynkor, och den även är elastisk behöver MN vara ganska mycket längre än vad SC är tjockt (4, 14). Är de för korta finns risk att de inte penetrerar SC då MN kan omgärdas av veckad hud (1). Om detta händer når inte nålarna fram till SC, inga mikroporer bildas och vaccinet kan inte

föras in i kroppen. Längden på mikronålarna kan vara upp till 1mm (1) men själva poren motsvarar endast ca 30 procent av denna (14). Lagret under SC kallas för stratum basale och här finns Langerhanska celler som kan starta ett immunsvaret (3). Träffar molekylerna inte på immunceller tas de upp genom kapillärerna efter att ha diffunderat ned till djupare liggande vävnad, och kommer på så vis ut i systemet (4). Genom att administrera läkemedel genom huden undviks även första-passagen metabolism i levern likväl som nedbrytning i mag-tarmkanalen, vilket sker vid oral administrering (13).

Mikronålarnas utseende

Datorindustrin har öppnat porten för MN då tekniken har gjort det möjligt att tillverka strukturer i nanoskala (15). Idag är det möjligt att tillverka MN med eller utan håligheter och med olika storlekar och geometrier. Geometrin på MN påverkar dess styrka och förmåga att producera mikroporer i huden. För ihåliga MN påverkas även vaccinets flöde ut i huden. Det här gör att utseendet på nålarna är oerhört viktigt och även avgörande för funktionen. Är de för svaga kan de gå av och lämna kvar bitar i kroppen. Applikatorer har även nämnts och studerats, dessa ser till att trycket med vilket MN appliceras är tillräckligt för penetration (14). Då det finns en risk för att toppen på nålarna kan gå av inne i huden är det viktigt med material som är säkra (13). Det är även viktigt att nålarna inte återanvänds på grund av risk för kontamination.

En smärtfri administrering av vaccin genom mikronålar är viktigt då det kan öka den generella viljan att vaccinera sig och sina barn mot olika sjukdomar. Skulle fler välja att vaccinera sig och fler ha möjlighet till att göra det på ett enkelt sätt kunde eventuellt fler sjukdomar utrotas och fler människor räddas genom att undvika epidemier av olika slag. MN kommer eventuellt att kunna appliceras utan sjukvårdspersonal och även eventuellt minska mängden vaccin som förs in i kroppen då immunceller finns i huden.

Tekniken inom läkemedelstillverkning går framåt och nya vaccin tillverkas såsom de mot vissa typer av cancer. Det här leder till att även nya sätt att administrera vaccin på utvecklas då de tekniker som används idag inte alltid är helt kompatibla med de nya vaccinen. Då det forskas på flera olika tekniker inom tillverkningen av MN för administrering av vaccin är det intressant att få en översikt över dessa och dess för- och nackdelar. På så vis kan man förstå var i processen vi befinner oss innan dessa kan komma ut på marknaden.

Syfte

Syftet med det här arbetet är att beskriva de tekniker som ligger i framkant inom forskningen om mikronålar vid administrering av vaccin. Även mikronålarnas för- och nackdelar kommer att belysas. Följande frågeställning har därför valts:

1. Hur fungerar tekniken bakom de mikronålar som är ledande i forskningen vid administrering av vaccin?
2. Vilka för- respektive nackdelar har dessa olika tekniker?

Metod

Det här arbetet är en litteraturstudie. Litteratur har sökts via databasen PubMed med hjälp av fritextsökning och sökord var för sig eller i kombination. Även sökmotorn Google har använts. Till resultatdelen har enbart originalartiklar använts. Litteratursökningen pågick mellan 2015-01-20 fram till 2015-02-15. Översiktsartiklar och även artiklar med blandade tekniker, där mikronålar har använts tillsammans med till exempel ultraljud, har valts bort. Till diskussionen har dock en översiktsartikel använts. I PubMed användes filtret för de senaste 5 åren i de fall där träffarna blev väldigt många. I tabell 1 framgår vilka sökord som har använts, vilka begränsningar de olika sökningarna haft, vilket datum sökningen gjordes och även vilka referenser som valdes ut vid sökningarna.

Fritextsökningen på google innefattar följande ord var för sig, intanza, polyimider, ovalbumin, polyakrylsyra och poly(lactic-co-glycolic acid). De referenser som valdes ut med hjälp av dessa ord var nummer 16, 19, 21, 24 och 25.

Tabell 1. Artikelsökning i PubMed.

Datum	Sökord	Begränsningar	Antal träffar	Valda referenser
2015-01-20	“microneedles” AND “poke with patch”		3	1
2015-01-21	“microneedles” AND “solid” AND “vaccine”	Senaste 5 åren	5	5, 7, 22
2015-01-23	“microneedles” AND “transcutaneous” AND “immunization” AND “microneedle patch”	Senaste 5 åren	3	6
2015-01-27	“microneedles” AND “vaccine”	Senaste 5 åren	2	13
2015-02-04	“poke and patch” AND “vaccine”		3	20
2015-02-05	“microneedles” AND “novel” AND “technology” AND “polymer”	Senaste 5 åren	10	23
2015-02-05	“microneedles” AND “hydrogel swelling”		4	26, 27, 28
2015-02-09	“microneedles” AND “immunization”		5	18
2015-02-15	“intanza” AND “vaccination” AND “influenza”		20	17

Resultat

Ihåliga mikronålar

Ihåliga MN har redan kommit ut på marknaden och används kliniskt för att immunisera patienter med influensavaccin (16). Intanza® godkändes 2009 inom Europeiska Unionen och finns i två olika doser, en för vuxna upp till 59års ålder och en för 60+. Dessa MN är 1,5mm långa och ca 0,25mm breda och appliceras vinkelrätt mot huden. Nålen sitter fast i en plastcylinder med en knapp högst upp (17). Inne i cylindern finns ett system där vaccinet är placerat i ett utrymme precis före nålen. Då knappen pressas ned trycks systemet ihop och vaccinet förs ut genom nålen och in i kroppen. Det är ett enkelt sätt att applicera och kräver ingen specifik utbildning (16). De har även ett inbyggt skydd för nålarna vilket innebär att risken för skador eller kontamination vid borttagande av MN är minimal. Enligt kliniska prövningar har patienter varit nöjda med vaccinering genom MN trots att en lokal rodnad och svullnad har uppkommit efter applicering (18). Rodnaden och svullnaden försvann efter 7-10 dagar.

Poliovaccin är ett annat vaccin som undersöks ifall det är kompatibelt med ihåliga MN (19). MN tillverkas av glaskapillärer, fuserad silica, som är täckta med polyimid för att skydda materialet vid framställning av nålarna. Kapillärerna fylls med flytande silikon för att skyddas. Polyimid är en polymer bestående av imidmonomerer och är värmeresistent och motståndskraftig mot kemikalier (20). MN etsas fram ur materialet och efter 4 timmar har de fått ett koniskt utseende där toppen har en vinkel i likhet med vanliga sprutor (19). Sedan avlägsnas polyimidskyddet genom att sänka ned MN i ett varmt syrabad. Silikonet tas bort genom att spola kapillärerna med aceton. I artikeln nämns inte hur långa eller hur breda MN är utan de använde sig av en applikator för att applicera nålarna på djuren. På det viset trängde MN ner på samma djup vid varje applikation.

Immuniseringen med poliovaccin utfördes på råttor och för att få ett jämnt flöde av vaccin efter applicering kopplades MN ihop med en pump (19). Penetrationsdjupet på MN var 300µm och efter kontroll med intradermal respektive intramuskulär vaccinering påvisade resultaten att immunisering med MN gav lika bra skydd som vid konventionell vaccinering.

Solida mikronålar

Solida MN finns i två olika varianter, antingen används de som de är tillsammans med ett plåster eller så täcks de med en yta av vaccin (1).

Solida mikronålar tillsammans med plåster

MN appliceras på huden för att bilda mikroporer, sedan tas de bort och ett plåster innehållande vaccin tillförs huden (21). Vaccinet diffunderar från plåstret till huden och in i kroppen genom porerna och förs vidare ut i systemet.

Även här finns det olika tekniker som prövas. Två helt olika tillvägagångssätt är MN tillverkade av monokristallin solid silikon med 484 stycken MN på en platta (21) respektive 17 stycken i silikon som sitter i ett plan (1). Den ursprungliga tekniken är densamma men forskarna närmar sig problemet på olika sätt. De 484 MN var placerade på en 1x1 cm stor platta, var 150µm långa och hade ett oktagonalt pyramidalt utseende (21). Plåstret de använde sig av i studien var tillverkat av hydrogel och laddat med hepatit B ytantigen (HBsAg) Appliceringen på huden skedde under 30 sekunder men plåstret satt kvar under 8 timmar. Immuniseringen upprepades efter två veckor. Titring av antikroppar visade att immuniseringen hade fungerat och skyddet var att likställa med vaccinering genom intramuskulär injektion.

I den andra studien var MN flata och rakbladslänkande (1). 8 stycken MN var placerade bredvid varandra i ett plan och bakom dessa fanns en rad med ytterligare 9 stycken MN. Nålna hade en längd på 300µm. MN applicerades för att penetrera SC och därefter tillfördes ett plåster innehållande ovalbumin som är ett glykoprotein och ofta används vid immuniseringsförsök på grund av att det ger ett mildt immunogent svar (22). I den här studien satt plåstret kvar under 2 timmar (1). Forskarna använde sig av både djurförsök och *ex vivo* försök på donerad mänsklig hud. För djurförsöken var artikelförfattarna tvungna att immunisera 2-3 gånger innan alla djur visade på höga nivåer av antikroppar jämfört med en immunisering vid subkutan eller intradermal vaccinering som enbart kräver ett vaccineringstillfälle. Immuniseringarna skedde på dag 1, dag 22 och dag 64. *Ex vivo* försöken på donerad mänsklig hud visade att 7% av mängden ovalbumin som fanns i plåstret hade passerat huden genom mikroporererna.

Solida mikronålar överdragna med vaccin

Det här är en enstegsteknik där vaccinet förs in genom huden tillsammans med MN. Även här finns det flera olika tillverknings sätt både vad gäller MN och själva tekniken med vilken nålna täcks med vaccin.

Samma MN som ovan användes tillsammans med ett plåster innehållande ovalbumin användes till att framställa MN som täcks av vaccin (1). Metoden forskarna använde sig av var att modifiera ytan med aminogrunder som i sin tur derivades till pyridingrunder. Dessa har ett pKa på ca 6,9 och är svaga baser. På grund av detta är de även pH-känsliga vilket utnyttjades genom att inkubera MN i EDTA-buffert tillsammans med ovalbuminet vid pH 5,8. Det ledde till att ovalbuminet band till pyridingrunderna på ytorna. Vid kontakt med huden släpper ovalbuminet från pyridingrunderna och frisätts i kroppen. Dessa MN applicerades på donerad mänsklig hud respektive på möss och togs bort efter en minut. Djuren immuniserades på dag 1, dag 22 och dag 64 och krävde 2-3 immuniseringar innan samma effekt gavs som vid intradermal eller subkutan vaccinering. Försöken på den donerade mänskliga huden visade att 70% av ovalbuminet hade släppt från MN och frisätts i kroppen.

Ett annat sätt att tillverka dessa MN är att använda sig av rostfritt stål (5). MN etsas till sin geometriska form i ett kemiskt bad. Fem MN på rad med en bas på 200µm x 50µm och med en längd på 750µm tillverkades. I det här fallet var det mässlingvaccin som skulle täcka MN och då detta är ett potent vaccin var den totala ytan på MN tillräckligt stor för en dos. Påförelsen av vaccin skedde genom att doppa MN sex gånger i en saltfri fosfatbuffertlösning innehållande mässlingvaccinet och trehalose. Trehalose är en disackarid som stabiliserar mässlingvaccinet genom att förhindra att proteinet denatureras. Vid torkningssteget ersätter troligtvis trehalose vattnet runt de hydrofila proteinregionerna. MN applicerades på ryggen av råttor och lämnades i tio minuter innan de togs bort.

Den här metoden bibehåller aktiviteten av vaccinet enligt den standard som WHO satt upp (5). Vilket betyder att det uppfyller samma kriterier som mässlingvaccin som ges subkutan via en traditionell spruta.

De råttor som immuniserades genom MN hade statistiskt högre titreringar efter tio dagar än den subkutana gruppen hade (5). Men efter 30 dagar låg de lika. Detta tyder på att det immunologiska svaret är något snabbare vid immunisering med MN än vid subkutan administrering. Vaccinering genom MN kan ge samma immunologiska svar som vid subkutan administrering.

Ett tredje sätt att tillverka MN är genom flytande kristallpolymerer (23). Dessa innehöll 320 stycken MN med en pyramidal form som var 500µm höga och satt med 550µm mellanrum på plattan. Även i det här fallet doppades MN i lösningen med

influensavaccin och torkades sedan under 30 minuter i en 37° ugn. De packeterades en och en i foliepåsar. För att testa viabiliteten förvarades ett antal påsar vid 4° C under 8 veckor och ett antal vid rumstemperatur (25° C). Tester visade att de fortfarande var aktiva efter förvaringen. Vid applicering använde de en applikator som gjorde att varje plåster tillfördes marsvinen med en hastighet av 8m/s. MN fick sitta kvar under 15 minuter innan de togs bort. Immuniseringen upprepades efter 3 veckor då en dos oftast inte är nog vid vaccinering. Det visade sig att immunisering med MN gav lika bra svar som vid intramuskulär injektion.

Lösliga mikronålar

Tanken med lösliga MN är att det är en enstegsmetod där nålarna förs in i kroppen och löser upp sig och på så vis frigörs vaccinet. Det finns flera olika tekniker med vilken framställning av lösliga MN är möjlig.

En av metoderna är genom så kallad "droplet-born air blowing"-tekniken. Det här är en mild metod att framställa MN på, utan vare sig UV-strålning eller värme (24). På en flat yta tillsätts först polymer utan läkemedel i ett mönster om 6x9 droppar. Ovanpå dessa tillsätts ytterligare en droppe av polymeren men nu även innehållande läkemedlet. Två likadana plattor förs ihop så att dropparna nuddar varandra och dras sedan isär med en hastighet av 5mm/min för att förlänga dessa utskott. Då rätt längd har uppnåtts tillförs ett symmetriskt luftflöde under fem minuter som gör dem solida. Efter torkningen dras de isär så att två plattor med MN bildas. Läkemedlet är inkorporerat i polymerblandningen vilket gör att det är lätt att få önskad mängd i varje MN genom att se till att alla nålar görs på samma volym polymer. Genom den här tekniken kan MN framställas inom tio minuter. Försök utfördes på djur och MN satt kvar under 60 minuter. Hittills har MN laddade med insulin undersökts, vilket har fungerat. Forskarna anser även att samma teknik kan användas till att leverera DNA, antikroppar, gener eller vaccin.

Ett annat, relativt vanligt sätt att framställa MN på är genom att använda sig av en form där MN gjuts till rätt utseende. I det här fallet använde artikelförfattarna sig av polyakrylsyra (PAA) och poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) till MN (7). PAA används som ytbehandlingsmedel och förtjockningsmedel och joniseras i vatten (25). Det gör att PAA är solid vid tillverkning men då MN förs in i huden och kommer i kontakt med vatten börjar MN att lösa upp sig (7). PLGA är en annan polymer som är biologiskt nedbrytbar och har studerats väl för dess egenskaper som vehikel för leverans av makromolekyler, läkemedel och proteiner (26). Genom att inkapsla vaccin i PLGA partiklar eller i matris av PAA kan både mikro- och makromolekyler levereras oberoende av om de är hydrofila eller hydrofoba (7).

Forskarna tillverkade MN med en höjd på 700µm och en bredd på 250µm vid basen genom att använda sig av en mall som etsas ut av laser (7). Två olika metoder användes för att framställa MN på, mallarna fylldes med mikropartiklar av PLGA och tilläts torka. I ena fallet täcktes mikropartiklarna med en koncentrerad vattenlösning av PAA som trängde ned mellan mikropartiklarna och centrifugerades för att fördela PAA över hela MN. I det andra fallet inkuberades formarna med mikropartiklarna i vacuumugn för att de skulle smälta ihop och bilda en solid massa. Även här täcktes formarna med flytande PAA och centrifugerades vilket ledde till att basen bestod av PAA som snabbt löser upp sig i kontakt med kroppsvätskor. Till dessa försök använde forskarna sig av ovalbumin och testade MN på möss. Vid applicering på möss räckte det med 5 minuter innan nålarna hade löst upp sig.

MN med PLGA mikropartiklar lämpar sig för snabb leverans av vaccin medan de solida PLGA nålarna lämpar sig för kontrollerad och långsam frisättning av vaccin (7). Båda

varianterna genererade ett potent immunsvår som är jämförbart med subkutan immunisering. Forskarna syntetiserade mikropartiklar av PLGA som innehöll vaccin.

Ytterligare en teknik att tillverka lösliga MN på är genom att fylla formar med en blandning av följande material, natriumhyaluronat, Dextran 70 och povidon (6). Längden på MN var 800µm och mikroporerna som bildades av dessa nålar slöts igen efter några timmar. Artikelförfattarna kom fram till att den gav effektiv immunisering av tetanus, difteri och ovalbumin. Djurförsök användes vid immuniseringsförsöken men forskarna testade MN utan vaccin på människa för att demonstrera att MN kan bilda mikroporer i SC. Efter 6h hade nålarna helt löst upp sig medan det i djurförsöken räckte med 1h. Mikroporerna slöts gradvis efter applicering och efter 120min hade huden återhämtat sig. Testpersonerna uppvisade rodnad och lokal svullnad där MN hade suttit men efter 30 dagar var huden helt återställd hos alla. Hos de flesta redan efter 7 dagar. Forskarna utförde allergitester på marsvin som visade att MN komposition inte gav en allergisk reaktion och därför borde vara säker även för människor.

Svällande mikronålar

Även den här tekniken bygger på en enstegsmetod. Den ena metoden kan liknas vid lösliga MN men då forskarna använder sig av hydrogel har den hamnat under kategorin svällande MN. Hydrogel sväller i kontakt med vätska och blir då flera gånger större än sin originalstorlek (27). Den uppsvållda, gelliknande massan bildar ett nätverk av polymerer och fungerar som system för läkemedelstillförsel.

Mikronålarna kan antingen bestå helt och hållet av hydrogel eller ha hydrogel inkorporerat i ett annat material. Donnelly et al tillverkade MN som inte innehåller något vaccin utan till fullo består av hydrogel (28). I den studien tillverkades hydrogelen av PEG 10 000, som är en polymer av polyetylenglykol, och natriumkarbonat. Hydrogelen hälldes sedan i formar och gjöts till MN (29). MN är uppbyggda med en hygroskopisk reservoar bakom själva nålarna som innehåller vaccin och fungerar som en plåsterliknande depå. Då MN penetrerar SC och kommer i kontakt med vätskan i huden börjar de svälla och fungerar då som en kanal mellan reservoaren och huden. Den hygroskopiska reservoaren ökar tillförseln av vätska till MN genom att dra åt sig fukt och därigenom sväller de ännu snabbare (28). MN håller SC öppen och läkemedlet passerar genom osmos förbi de tvärbundna polymererna och vidare ut i huden och ut i systemet (29).

MN fick sitta kvar under 24h medan försök utfördes (28). Det visade sig att plasmanivån i blodet var som högst efter en timme och att nivåerna av vaccin fortfarande var konstanta efter sex timmar.

En annan teknik att använda sig av hydrogel på är genom att omsluta partiklarna med PLGA (27). Vid penetration av SC kommer nålarna i kontakt med vätskan i huden och hydrogelen börjar svälla. Det här leder till att höljet av PLGA börjar gå sönder och mikropartiklarna frigörs. Läkemedlet som finns inne i hydrogelen frisätts genom osmos ut i kroppen. Vid försök på grishud visade det sig att toppen på de flesta MN hade brutits ned efter femton minuter och efter trettio minuter var nålarna nästan helt nedbrutna.

Hydrogelen syntetiserades genom att korslänka poly-N-isopropylakrylamid (PNIPAAm) med N,N'-metylen-bis-akrylamid (MBAm) eftersom de strävade efter en hydrogel som expanderade hastigt vid kontakt med vatten. Calcein användes som modellsubstans och inkorporerades i hydrogelen. Mikropartiklarna fylldes upp, till det antal som var uträknat, i en form och smält PLGA hälldes över dem. De placerades i en vacuumugn under 30 minuter vid ett tryck på 100kPa för att torka. Försök gjordes med

calcein för att undersöka leverans av läkemedel och redan efter 15 minuter uppnåddes ett maximum. Calceinkoncentrationen vid platsen för appliceringen av MN var mycket lägre redan efter en timme, vilket visar på att molekylerna hade diffunderat bort från platsen.

Fördelar respektive nackdelar med de olika teknikerna

I tabell 2 listas en sammanfattning av för- respektive nackdelar med de olika teknikerna.

Fördelar med ihåliga MN

Tekniken är redan beprövad och har visat sig vara effektiv både vad gäller smärtfrihet och funktion (18). Volymen, vad gäller influensavaccin, är mindre än vid konventionell vaccinering (16). Det krävs heller ingen specifik utbildning vad gäller de MN som finns på marknaden.

Nackdelar med ihåliga MN

Nackdel om applikator behöver användas är att denna kan kräva utbildning. En annan nackdel med den här metoden är att vaccinet behöver kylförvaras då det befinner sig i flytande form (6).

Fördelar med solida MN

Solida MN som inte täcks med vaccin är enkla att framställa (5, 21). Det är även enklare att transportera vaccin laddade i plåster än att transportera det i vätska (21). Hydrogelplåstren, som användes tillsammans med de solida MN, tillverkades med hepatit B antigen och bibehöll sin aktivitet till nästan 100% då de förvarades vid 4°C.

Jämfört med vanlig transkutan immunisering utan MN är dosen ca 1/4 vid användning av MN (21). Genom titrering av antikroppar vid upprepade tillfällen visade det sig att mängden antikroppar höll sig stabil under längre tid än vid intramuskulär vaccinering

Nackdelar med solida MN

Hållbarhetstesterna sträckte sig enbart till 3 veckor (21). De solida MN som användes tillsammans med hydrogelplåster har enbart testats på djur. En annan nackdel är att mängden antigen var fem gånger högre än vid traditionellt flytande vaccin som ges intramuskulärt. Det tog även ett antal veckor extra att nå maximala titreringsdosen med den här tekniken. Appliceringstiderna för plåstren var långa för att ge effekt, de satt kvar 2 respektive 8 timmar (1, 21). Ytterligare en nackdel med solida MN är att det krävs mer än en vaccinering för att få ett fullt skydd jämfört med immunisering med spruta som gav produktion av specifika antikroppar direkt (1).

Fördelar med solida MN överdragna med vaccin

En fördel med dessa MN jämfört med solida MN är att de levererar mer antigen under kortare tid och kräver lägre koncentration (1). Då vaccinet är torrt och applicerat på MN behövs ingen vätska för att lösa upp dem (5). Det gör även att transport av MN förenklas då de inte behöver kylförvaras.

Nackdelar med solida MN överdragna med vaccin

Den största nackdelen med dessa är att de har en gräns för hur mycket vaccin som kan beredas på nålarna (6). Torkningsprocessen då MN ska täckas med vaccin kan även skada aktiviteten hos vissa vaccin (21).

Fördelar med lösliga MN

Mikronålar som löser upp sig har den stora fördelen att de inte lämnar efter sig något vasst avfall (24). De polymerer som användes vid tillverkningen av MN med dropp tekniken är biologiskt nedbrytbara, säkra och vattenlösliga. De innehåller exakt mängd läkemedel eller vaccin i varje nål och varken värme eller UV-strålning används vilket gör det till en mild metod.

Fler fördelar med upplösande MN är att torr förvaring av läkemedel underlättar både transport och förvaring (7). MN som testades av DeMuth et al klarade av att förvaras i rumstemperatur under flera veckors tid. MN som tillverkades av PAA och PLGA hade snabb upplösningstid, endast 5 minuter, vilket är fördelaktigt vid applicering.

Nackdelar med lösliga MN

En allmän nackdel är att ju längre tid MN sitter kvar i huden, desto större risk är det för infektion (7). MN som tillverkades av natriumhyaluronat, dextran 70 och povidon hade en relativt lång upplösningstid på 60 minuter (6) precis som MN som tillverkades med dropp tekniken (24). Det är viktigt att använda sig av biologiskt nedbrytbara material som inte ger biverkningar och inte är farliga i det långa loppet (7). Många av studierna har enbart gjorts på djur (6).

Fördelar med svällande MN

Genom att välja olika sorters polymerer kan tätheten på de olika nätverken manipuleras (27). MN som tillverkas av hydrogel och fungerar som en kanal mellan reservoaren och huden är relativt enkla att tillverka (29). Då vaccinet inte behöver inkorporeras i MN kan även en större mängd laddas i reservoaren. Ytterligare en fördel med just dessa MN är att de inte går sönder inne i kroppen (28).

De hydrogelsvällande MN som innehåller både PLGA och hydrogel har den fördelen att den tunna film av PLGA som omsluter hydrogelen skyddar MN mot hög fuktighet (27).

Nackdelar med svällande MN

På grund av att MN löser upp sig och avger partiklar behöver materialet vara biologiskt nedbrytbart och säkert (27).

Tabell 2. Sammanfattning av för- respektive nackdelar med de olika teknikerna.

	Fördelar	Nackdelar
Generellt för alla MN	Smärtfri applicering.	Ju längre tid MN sitter kvar i huden, desto större risk för infektion och irritation.
<i>Ihåliga MN</i>	Finns på marknaden. Mindre volym än vid konventionell vaccinering. Krävs ingen specifik utbildning för applicering.	Användning av eventuell applikator ger ett extra moment. Kräver kylförvaring.
<i>Solida MN med plåster</i>	Enkla att framställa. Enklare att transportera jämfört med vaccin i vätskeform. Dosen är lägre än vid transkutan immunisering. Mängden antikroppar håller sig stabil under längre tid än vid intramuskulär injektion.	Dosen är högre än vid intramuskulär vaccinering. Kräver mer än en applicering för fullgott skydd. Enbart testade på djur. Långa appliceringstider för plåstret, 2 respektive 8h. Kräver eventuellt kylförvaring av plåster.
<i>Solida MN överdragna med vaccin</i>	Levererar mer antigen under kortare tid jämfört med solida med plåster. Kräver lägre koncentration än de solida med plåster. Behöver ej kylförvaras.	Har en gräns för hur mycket vaccin som kan beredas på nålarna. Torkningsprocessen för vaccinet kan skada aktiviteten.
<i>Lösliga MN</i>	Lämnar inget farligt avfall efter sig Biologiskt nedbrytbara polymerer Torrförvaring av MN <i>Dropptechniken:</i> exakt mängd vaccin i varje nål, mild metod för vaccinet, basen innehåller inget vaccin så hela nålen behöver inte lösa upp sig <i>MN av PAA och PLGA:</i> Har snabb upplösningstid.	Enbart djurförsök Lång upplösningstid för de som ej tillverkades av PAA och PLGA
<i>Svällande MN</i>	Kan variera hastigheten med vilken vaccinet levereras genom att välja olika polymerer. <i>Hydrogel som fungerar som en kanal:</i> De är enkla att tillverka. De lämnar inga rester kvar i kroppen. En stor mängd vaccin kan laddas i reservoaren. <i>Hydrogel i mikropartiklar:</i> De är fuktskyddade tack vare filmen av PLGA.	Materialet på MN som löser upp sig behöver vara biologiskt nedbrytbart och säkert.

Diskussion

Syftet med den här studien var att beskriva de tekniker som ligger i framkant vid forskningen om mikronålar vid administrering av vaccin och även belysa dess för- respektive nackdelar.

Metoden som valdes var en litteraturstudie där den främsta litteraturen för resultatet söktes i databasen PubMed. Fördelen med att söka litteratur i PubMed är tillgången till ett stort antal vetenskapliga artiklar. Det går att begränsa sökningen genom att använda sig av olika sökord, antingen ett och ett eller flera tillsammans. Det går även att filtrera sökningen beroende på vad man söker efter. Nackdelen är att vissa relevanta artiklar eventuellt kan försvinna ifall sökorden inte träffar rätt.

De sökord som användes var relevanta för det här arbetet och gav oftast väldigt få träffar. I de fall där artikelträffarna blev väldigt många lades fler sökord till och även ett filter lades till för att begränsa träffarna till artiklar som publicerats de senaste fem åren.

Urvalet av tekniker baserades på den forskning som finns och hur långt de har kommit i utvecklingen av mikronålarna för administrering av vaccin. Ihåliga MN finns redan ute på marknaden i form av influensavaccin (1), en sorts MN övertäckta med vaccin prövas ut i kliniska studier på människa i fas I och fas II (8), hydrogelbaserade MN valdes då de representerar en ny teknik. Då det gäller MN som löser upp sig finns det väldigt många artiklar att välja mellan, vilket kan tolkas som att det är en teknik som är i framkant. De solida MN valdes då de genom djurförsök har visats fungera (21).

Ihåliga MN

Den första frågeställningen handlade om tekniken bakom de MN som är ledande i forskningen vid administrering av vaccin. De tekniker som tas upp här är fem olika huvudtekniker. Bland de fem olika teknikerna finns det ytterligare olika varianter på att framställa MN. För ihåliga MN används redan en sort kommersiellt och den heter Intanza®. De patienter som har vaccinerats med den metoden har varit nöjda (18) och ansett att det varit smärtfritt. Skillnaden mot studien med poliovaccinet är att de använde sig av flera nålar medan Intanza® fungerar som en minispruta med endast en nål. Under studien med poliovaccin använde forskarna sig även av både pump och applikator vilket tolkas som att de inte har kommit så långt i utvecklingen av nålarna. Däremot visade djurförsök på att immuniseringen hade fungerat vilket kan tyda på att även den här metoden kan vara effektiv på människor.

De fördelar som finns med den här metoden är främst att den är väl beprövad och att den både är effektiv och smärtfri. Den enkla appliceringen som inte kräver medicinskt utbildad personal och det inbyggda skyddet för sprutorna gör att det medicinska avfallet blir mer lätthanterligt. Administreringen av vaccinet kan även med enkla instruktioner ges av lekmän. Ytterligare en fördel är att volymen vaccin är mindre än vid konventionell vaccinering. Alla dessa variabler tillsammans gör att det blir billigare vid administreringen men även vid tillverkningen då en mindre mängd vaccin som går åt per patient gör att tillverkningen även kan minskas med tanke på volymstorlek. De MN som används tillsammans med en applikator och pump har nackdelen att om inte applikatorn är väldigt enkel att förstå sig på kan det krävas utbildning av personalen i hanteringen av denna. Beroende på hur applikatorn fungerar och hur enkel den är att manövrera kan det bli problem ifall patienten måste sitta väldigt still. Vid vaccinering av barn kan barnet bli rädd för att det ska göra ont och inte vilja sitta still. Finns det då en applikator som ska trycka på MN kan det upplevas som något obehagligt medan det eventuellt är mindre skrämmande om MN appliceras på huden med hjälp av handkraft.

En stor nackdel för båda teknikerna är att vaccinet är i flytande form och behöver kylförvaras för att inte inaktiveras, precis som konventionellt flytande vaccin. Det gör att vid vaccinering i till exempel u-länder behövs fortfarande kyltransporter och även kylförvaring av vaccin på plats.

Något som är viktigt att tänka på är storleken och utformningen av nålarna då det eventuellt kan vara så att hud kan fastna och täppa till ihålligheterna. Skulle det hända finns risk att vaccinet inte kommer ut i huden och patienten lämnas utan ett fullgott skydd för sjukdomen. Att ha någon slags kontroll på att vaccinet har lämnat nålarna kan vara positivt ifall det skulle visa sig att något fabrikat har fallerat. Det skulle eventuellt kunna ske genom visuell kontroll av MN under mikroskop för att se att vaccinet har lämnat håligheterna.

Solida MN tillsammans med plåster

De solida MN som används tillsammans med plåster skilde sig mycket i utformningen. För den ena metoden användes hundratalet nålar på en platta och i den andra metoden enbart 17 stycken. Något som inte framgår från dessa försök är om det är obehagligt med fler eller färre nålar eller om det inte gör någon skillnad. Att göra en studie på människor för att studera detta vore därför intressant.

Fördelen med dessa är att tillverkningen är väldigt enkel då inget vaccin inkorporeras i MN. Även om plåstren behöver kylförvaras tar dessa mindre plats än om transporten skulle innefatta vätska. Då hållbarhetstester inte utförts under längre tid än 3 veckor är det svårt att veta hur de står sig mot konventionellt hepatit B-vaccin som har en hållbarhet på 24 månader då det förvaras under rätt förhållanden. Då dosen var fem gånger högre vid immunisering med MN ger det inte någon besparing, utan här skulle volymen behöva ökas vid tillverkningen av vaccinet. Om transportkostnaderna sjunker kanske det vägs upp av den ökade tillverkningen och kanske skulle vissa effektiva MN kunna skickas till platser där vaccinering sker under enklare förhållanden. Men den här metoden krävde mer än en immunisering för att få ett fullt skydd jämfört med immunisering med spruta och det kan också vara ett problem vid vaccinering i till exempel u-länder. Om vaccineringsstationen ligger på ett sådant avstånd att det blir svårt att ta sig dit kanske patienter drar sig för att ta sig dit en andra gång. På så vis har de inte fullt skydd och kan därmed riskera att bli smittade. Skulle de tro att de har fullt skydd kan det även vara farligt då patienterna eventuellt utsätter sig för situationer de inte skulle ha utsatt sig för om de visste att de var oskyddade.

I båda dessa fall är appliceringen av MN snabb men plåstret behöver sitta på under längre tid, 2h respektive 8h. Då de ska sitta så pass länge gäller det att informera patienten om varför plåstret ska sitta kvar under längre tid. Risken är annars att de tar bort det i förtid och inte får i sig full dos. Det är även viktigt med bra plåster så att de inte ramlar av innan tiden är ute. Enligt undersökning av mikroporer visade det att dessa började slutas efter 120 minuter (6). Det bör innebära att efter 120 minuter blir det svårare för molekylerna att passera beroende på hur stora mikroporerna var från början och hur snabbt de sluts helt och hållet. På grund av detta är det viktigt att ha en relativt snabb leverans av vaccinet från plåstret.

Solida MN överdragna med vaccin

Det finns flera olika sätt att täcka MN med vaccin. Att använda sig av en pH-känslig metod visades vara skonsamt mot vaccinet och gav en effektiv upplösning vid kontakt med huden. I de två andra fallen doppades MN i vaccinet och tilläts torka. Även dessa tekniker bibehöll aktiviteten i vaccinet och visade även på ett lika bra immunologiskt svar som vid subkutan respektive intramuskulär injektion. Det här visar på att tekniken för att täcka MN med vaccin är acceptabel. Däremot kan det finnas andra, känsligare vaccin som inte klarar av torkningssteget lika bra och därför behövs utvärdering av varje nytt vaccin som testas. Enbart en av dessa tre studier använde sig av donerad

mänsklig hud vid försöken och alla tre använde sig av djurförsök, det vore därför väldigt intressant att undersöka dessa MN på människor.

Då vaccinet är torrt och applicerat på MN behövs ingen kylförvaring vilket underlättar förvaring och transport. Det behövs heller ingen vätska för att lösa upp dem som vid subkutana sprutor där vaccin i pulverform måste lösas upp innan administrering. Nackdelen är att de begränsas av mängden vaccin som kan appliceras på nålarna. Vid potenta vaccin fungerar det bra men i de fall där mängden behöver vara relativt stor kan det tänkas att det blir svårt att få en tillräcklig mängd på MN. Lösningen skulle kunna vara att tillverka väldigt många MN på en platta för att få plats med vaccinet.

Lösliga MN

Ett vanligt sätt att tillverka MN på är genom att använda sig av en form där MN gjuts fram. Då det gäller lösliga MN behöver vaccinet inkorporeras i materialet och metoden behöver därmed vara relativt mild för att det inte ska inaktiveras under tillverkningen. I båda dessa fall var tillverkningen lyckad och immuniseringen var effektiv. I ett av fallen tillverkades MN genom en droppeteknik som var relativt snabb, endast 10 minuter tog det innan MN var klara. Vid eventuell tillverkning i stor skala är en snabb procedur positiv och ekonomisk. Storleken på dropparna kunde även bestämmas med exakthet, vilket innebär att exakt mängd vaccin hamnar i varje nål. Då en droppe utan vaccin utgjorde basen för nålen och ytterligare en droppe ovanpå denna innehöll vaccinet och bildade spetsen på nålen, behöver hela MN inte lösa upp sig. Även om MN är konstruerad för att lösa upp sig helt räcker det med att en viss del av nålen har löst sig för att få full dos. Vid tekniker där vaccinet finns i hela nålen är det däremot viktigt med total upplösning. Vid två av fallen tog det 60 minuter för nålarna att lösa upp sig och i ett av fallen enbart 5 minuter, alla dessa tre var försök på djur. Då MN som framställts genom gjutning testades på människa, visserligen utan vaccin, för att demonstrera att de kunde bilda mikroporer i SC var upplösningstiden hela 6h. Detta visar på att det är oerhört viktigt med försök på människa då upplösningshastigheten kan variera väldigt mycket, i det här fallet tog det 6 gånger så lång tid mot djurförsöken. Det kan även ge en indikation på att de som löste upp sig på 5 minuter i möss eventuellt har en mycket längre upplösningshastighet i människa.

Då dessa MN löser upp sig lämnar de inget farligt avfall efter sig och då vaccinet är förvarat inne i MN underlättar det vid både transport och förvaring. Vid tillverkning av MN som löser upp sig är det väldigt viktigt att använda sig av säkra material vilket gjordes vid dessa tekniker. En av studierna utförde även allergitest på marsvin som visade på att kompositionen av material inte var allergiframjande. Även det här är en enstegsmetod och kan med största sannolikhet appliceras med hjälp av enkla instruktioner.

Svällande MN

De två metoder som redovisas här skiljer sig mycket ifrån varandra. Den ena metoden fungerar ungefär som upplösande MN bara det att hydrogelpartiklarna är omslutna av PLGA. Den andra metoden liknar de solida MN som används tillsammans med plåster, med den stora skillnaden att nålarna fungerar som en kanal mellan en hygroskopisk reservoar och huden. Metoden med upplösande material testades på grisar där nålarna hade löst upp sig helt inom 30 minuter. Där MN fungerade som en kanal fick de sitta kvar under 24h men då plasmanivån var som högst efter en timme tyder det på att appliceringstiden var väldigt överdriven. Med tanke på de tidigare försöken som visade att upplösningshastigheten var högre vid djurförsök än på människa vore det väldigt intressant att göra försök på människor även med dessa lösliga MN.

En stor fördel med dessa tekniker är att polymererna kan varieras för att få olika hastighet på frisättningen av vaccin. Tyvärr användes MBAm för att tvärbinda polymererna vid de lösliga svällande MN, och den kombinationen av ämnen är inte

nedbrytbar i kroppen. Båda teknikerna skulle kunna användas både vad gäller snabb frisättning och långsammare. För att undvika långa appliceringstider kan det vara en fördel att använda de upplösande MN till den långsamma frisättningen. Hydrogelen som fungerar som en kanal är även fördelaktig i de fall stora mängder vaccin behöver komma in i kroppen eftersom en stor mängd kan laddas i plåstret. Det är även en enklare framställningsprocedur med dessa då vaccinet inte behöver inkorporeras i hydrogelen. I båda dessa fall är det medicinska avfallet relativt lätthanterligt. Ingen av teknikerna lämnar vassa nålar efter sig och det är ingen risk för återbruk. Då det är en enstegsmetod kan det även tänkas att det inte behövs specifikt utbildad personal för administrering vid den tidpunkt då produkten är färdigutvecklad.

De MN som hade PLGA som ytterhölje tål hög fuktighet då denna fungerar som en skyddande spärr (27). De andra MN har ingen sådan spärr och kan därmed tänkas vara fukt känsliga vilket innebär att förpackningarna behöver vara motståndskraftiga mot fukt. Då vaccinet är inkorporerat i ett plåster finns det risk för att det även behöver förvaras i kyl.

Något som gäller alla studier inom MN är att fler och längre hållbarhetstester behöver göras. Då vaccin som är i vätska har en hållbarhet på 24 månader och de tester som utfördes sträckte sig över några veckors tid. Troligtvis har många inte kommit så pass långt i utvecklingen av MN att det är relevant men det är väldigt intressant att veta hur länge de klarar sig och om de bibehåller sin aktivitet i rumstemperatur eller om de behöver kylförvaring.

Då dessa nålar är väldigt små, behövs det en reservplan ifall MN skulle gå av eller om tekniken inte fungerar? Troligtvis är tekniken så väl beprövad innan den börjar användas kliniskt att risken är minimal. Men om det sker ett tillverkningsfel och flertalet individer inte blir vaccinerade kan det leda till ett utbrott av olika sjukdomar och det finns risk att individen exponerar sig för smitta i tron att den har ett immunologiskt skydd. I de fall där MN löser upp sig är det enkelt att se om spetsarna är kvar eller inte, men i de fall där nålarna till exempel är täckta med vaccin är det svårt att veta om allt har levererats.

Om nålar skulle gå av även om de är konstruerade att inte göra det behöver materialet vara säkert. Det är även viktigt att de lösliga MN är oskadliga i större mängder ifall det krävs mer än en immunisering och det är något som görs varje år, som till exempel vid influensa vaccin. Det är även viktigt att använda säkra material även om nålarna är solida då det är material som förs in i huden och annars kan orsaka irritation och allergisk reaktion.

Många av teknikerna som är i framkant av forskningen inom tillverkning av MN fungerar vid djurförsök. Alla har dock inte gjort studier på leverans av vaccin men ett första steg är att undersöka ifall konstruktionen fungerar. Viktigt att tänka på är att studier på människa och på djur kan skilja sig åt. Det kan därför vara av stor vikt att pröva ut sin konstruktion på donerad människohud till en början för att sedan gå vidare till försök på människa. En fördel är att använda sig av material som redan klassas som säkra för att på så vis undvika ytterligare tester.

I en översiktsartikel från 2014 analyserades data för att förutse vilka tekniker av MN som det kommer att forskas på i nära framtid (8). Författarna använde ett program som analyserade den data som fanns och räknade ut om antalet artiklar skulle öka eller minska framöver. Enligt den artikeln tenderar studierna om solida MN att öka medan de ihålliga tenderar att minska i antalet publicerade artiklar. På lösliga MN fanns för lite data för att kunna göra en prognos och de svällande MN fanns inte med i mätningen.

Slutsats

De tekniker som är ledande i forskningen är ihåliga MN, solida MN med plåster, solida MN övertäckta med vaccin, lösliga MN och svällande MN. Dess för- respektive nackdelar involverar bland annat enkel applicering, immunisering som ger effektivt skydd vid djurförsök, smärtfri applicering, kylförvaring, lång upplösningstid och långa appliceringstider. Däremot behövs försök på människa då skillnaden i upplösningshastighet var väldigt stor. Det är inte helt enkelt att förutse vilken eller vilka tekniker som har störst potential i framtiden. Det troliga är att det blir en blandning av tekniker där olika metoder slår sig in på olika marknader. Det kan tänkas att det blir en blandning av svällande, lösliga och MN som är täckta med vaccin. De svällande har en stor fördel av att kunna manipulera frisättningen av vaccin genom att tillverkaren väljer hur polymererna tvärbinds. Det går även att ladda en relativt stor mängd vaccin beroende på vilken metod som används. Men då dessa troligtvis behöver kylförvaring kan de lösliga MN och de MN som är täckta med vaccin användas vid de tillfällen där vaccinet är potent och dosen inte är särskilt stor. Då vaccinet på dessa MN är i ett torkat tillstånd kan de komma att användas vid till exempel vaccinering i u-länder där förhållandena kan vara väldigt enkla.

Tack

Tack till Susanne Bredenberg för handledning under detta arbete. Tack även till min underbara familj som har stöttat mig under den här tiden.

Referenser

1. van der Maaden K, Varypataki EM, Romeijn S, Ossendorp F, Jiskoot W, Bouwstra J. Ovalbumin-coated pH-sensitive microneedle arrays effectively induce ovalbumin-specific antibody and T-cell responses in mice. *Eur J Pharm Biopharm.* 2014 Oct;88(2):310-5
2. Saladin, KS. *Anatomy & Physiology; the unity of form and function.* 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2012.
3. Warger T, Schild H,Rechtsteiner. Initiation of adaptive immune responses by transcutaneous immunization. *Immunol. Lett.* 2007 Mars 15;109(1):13-20
4. Henry S, McAllister DV, Allen MG, Prausnitz R. Microfabricated Microneedles: A novel approach to transdermal drug delivery. *J Pharm Sci.* 1998 Aug;87(8):922-5.
5. Edens C, Collins ML, Ayers J, Rota PA, Prausnitz MR. Measles vaccination using a microneedle patch. *Vaccine* 2013 Jul 25;31(34):3403-9
6. Hirobe S, Azukizawa H, Matsuo K, Zhai Y, Quan YS, Kamiyama F et al. Development and clinical study of a self-dissolving microneedle patch for transcutaneous immunization device. *Pharmaceutical research* 2013 Oct;30(10):2664-74
7. DeMuth P, Garcia-Beltran WF, Ai-Ling ML, Hammond PT, Irvine DJ. Composite dissolving microneedles for coordinated control of antigen and adjuvant delivery kinetics in transcutaneous vaccination. *Adv funct mater.* 2013 Jan 14;23(2):161-172
8. Cheung K, Das DB. Microneedles for drug delivery: trends and progress. *Drug deliv.* 2014 Dec 23:1-17
9. Böhling A, Bielfeldt S, Himmelmann A, Keskin M, Wilhelm KP. Comparison of the stratum corneum thickness measured *in vivo* with confocal Raman spectroscopy and confocal reflectance microscopy. *Skin Res Technol.* 2014 Feb;20(1):50-7
10. Tuan-Mahmood TM, McCrudden MTC, Torrisi BM, McAllister E, Garland MJ, Singh TRR et al. Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery. *Eur J Pharm Sci.* 2013 Dec 18;50(5):623-37.
11. Gerstel MS, Place VA. Drug delivery device. US Patent No 3,964,482. 1976.
12. Product specification Co875 Calcein. Sigma-Aldrich. Hämtat från: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/co875?lang=en®ion=SE> [citerad 2015-01-29].
13. Sullivan SP, Murthy N, Prausnitz MR. Minimally invasive protein delivery with rapidly dissolving polymer microneedles. *Adv Mater.* 2008 Mar;20(5):933-938.
14. Pegoraro C, MacNeil S, Battaglia G. Transdermal drug delivery: from micro to nano. *Nanoscale.* 2012 Mar 21;4(6):1881-94.
15. van der Maaden, Jiskoot W, Bouwstra J. Microneedle technologies for (trans)dermal drug and vaccine delivery. *J Control Release.* 2012 Jul 20;161(2):645-55.
16. Medical and scientific fact sheet. Intanza, the first microneedle vaccine against influenza. www.sanofipasteur.com
http://www.sanofipasteur.com/Documents/PDF/Fact_Sheet_Intanza_EN_2013-09.pdf [Citerad 2015-02-09]
17. Leroux-Roels I, Weber F. Intanza (®) 9 µg intradermal seasonal influenza vaccine for adults 18 to 59 years of age. *Hum Vaccin Immunother.* 2013 Jan;9(1):115-21.
18. Eizenberg P, Booy R, Naser N, Mason G, Stambouljian D, Weber F. Acceptance of Intanza® 9µg intradermal influenza vaccine in routine clinical practice in Australia and Argentina. *Adv ther.* 2011 Aug;28(8):640-9

19. van der Maaden K, Trietsch SJ, Kraan H, Varypataki EM, Romeijn S, Zwier R et al. Novel hollow microneedle technology for depth-controlled microinjection-mediated dermal vaccination: A study with polio vaccine in rats. *Pharm res.* 2014 Jul;31(7):1846-54
20. Brust Gregory. Polyimides. www.pslc.ws The University of Southern Mississippi, Department of Polymer Science. <http://www.pslc.ws/macrog/imide.htm> [Citerad 2015-02-09]
21. Guo L, Qiu Y, Chen J, Zhang S, Xu B, Gao Y. Effective transcutaneous immunization against hepatitis B virus by a combined approach of hydrogel patch formulation and microneedle arrays. *Biomed microdevices* 2013 Dec;15(6):1077-85
22. Ovalbumin. www.invivogen.com. <http://www.invivogen.com/ovalbumin>. [Citerad 2015-02-09]
23. Kommareddy S, Baudner BC, Bonificio A, Gallorini S, Palladino G, Determan AS et al. Influenza subunit vaccine coated microneedle patches elicit comparable immune responses to intramuscular injection in guinea pigs. *Vaccine.* 2013 Jul 25;31(34):3435-41
24. Kim JD, Kim, M, Yang H, Lee K, Jung H. Droplet-born air blowing: Novel dissolving microneedle fabrication. *J control release.* 2013 Sep 28;170(3):430-6
25. Terselius Björn. Polyakrylsyra. www.ne.se. Nationalencyklopedin. <http://www.ne.se.proxy.ub.umu.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/polyakrylsyra> [Citerad 2015-02-09]
26. Makadia HK, Siegel SJ. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers* 2011 Sep 1;3(3):1377-1397
27. Kim MY, Jung B, Park JH. Hydrogel swelling as a trigger to release biodegradable polymer microneedles in skin. *Biomaterials* 2012, 33: 668-678
28. Donnelly RF, McCrudden MTC, Alkilani AZ, Larrañeta E, McAlister E, Courtenay AJ et al. Hydrogel-forming microneedles prepared from “super swelling” polymers combined with lyophilized wafers for transdermal drug delivery. *PLoS one* 2014 Oct 31;9(10):e111547
29. Donnelly RF, Mooney K, McCrudden MTC, Vicente-Pérez EM, Belaid L, González-Vázquez P et al. Hydrogel-forming microneedles increase in volume during swelling in skin, but skin barrier function recovery is unaffected. *J pharm sci.* 2014 May;103(5):1478-86



Kemiska institutionen
901 87 Umeå, Sweden
Telefon : 090-786 50 00
Texttelefon 090-786 59 00
www.umu.se