3D-printing, een nieuwe dimensie voo

3D-printing, een nieuwe dimensie voor de 3V's

Over 3D-printing, innovatie en alternatieven voor dierproeven

3D-printing, een nieuwe dimensie voor de 3V's

Over 3D-printing, innovatie en alternatieven voor dierproeven

NKCA Briefrapport 100253001

Colofon

© NKCA 2013
Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Nationaal Kenniscentrum Alternatieven voor Dierproeven (NKCA), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

Maaike van Zijverden, NKCA
Petra van Kesteren, RIVM/VSP
Sophie Deleu, NKCA

Met dank aan de 3D-printing expert-groep van het RIVM

Contact:
Dr. M. van Zijverden, NKCA
maaike.van.zijverden@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van Ministerie Economische Zaken

Inhoudsopgave

Inhoudsopgave–3

Samenvatting–4

Summary–5

1 Introductie 3D-printing–7

2 3D printing en innovatie, en het effect op de 3V's–11

3 Discussie en aanbevelingen–17

4 Referenties–19

Samenvatting

3D-printing is een verzamelnaam voor innovatieve technieken die de laatste jaren een sterke groei laten zien. Sommigen spreken van een nieuwe industriële revolutie.
Ondanks dat de techniek nog volop in ontwikkeling is, zijn de mogelijke toepassingen wijdverspreid. Hieronder vallen ook (bio)medische toepassingen, zoals medische hulpmiddelen, geneesmiddelen, medisch onderzoek en ontwikkeling van nieuwe in vitro testen. In combinatie met andere innovatieve technieken en ontwikkelingen, zoals organ-on-a-chip, tissue engineering, synthetische biologie en stamcellen, heeft 3D-printing een sterke potentie om bij te dragen aan de 3V's Vervanging, Vermindering en Verfijning van dierproeven. Zo kunnen geprinte organen-op-een-chip (van menselijke oorsprong) worden ingezet voor toxiciteits- en effectiviteitstesten van bijvoorbeeld medicijnen. Dat levert relevante data en spaart dieren. Maar misschien zal het effect van innovatie wel het grootst zijn middels de 4^{e} V, de V van Vermijding of Voorkoming. Waar steeds meer kennis over het functioneren van het menselijk lichaam beschikbaar komt, raakt uiteindelijk het proefdier overbodig. Daarvoor moeten wel volop de vruchten van innovatieve technieken geplukt kunnen worden. Daartoe dienen de volgende aandachtspunten:

- *Vergroot het inzicht in en onderbouw de link tussen innovaties en 3V (monitoring en evaluatie):* multidisciplinaire kennisdeling en het vaststellen en meten van indicatoren voor effect-monitoring van de 3V's zijn daarin cruciaal. Experts op het gebied van innovatie kunnen, naast de 3V-experts, binnen het Nationaal Comité (NC) deze taak, die aan de vraag om maatschappelijke verantwoording tegemoet komt en gelieerd is aan het opstellen van "best practices", op zich nemen.
- *Maak de link tussen innovaties en 3V beter bekend:* middels communicatie-activiteiten vanuit het NC, en middels onderwijs
- *Investeer in innovatief onderzoek:* waarvan een positief effect op de 3V's (en de 4^{e} V) aannemelijk is gemaakt (zie onder eerste bullet hierboven, monitoring en evaluatie), en leg actief verbanden tussen onderzoeksgebieden.
- *Vergroot het inzicht in potentiele voor- en nadelen van 3D-printing:* koppel horizon scanning data aan inzicht in mogelijke voor- en nadelen van innovaties in een risk governance-proces. Hierin komen naast traditionele risicobeoordeling (bv potentiele fysieke risico's als deeltjesuitstoot), sociaal-ethische aspecten (bv verbetering van de mens) en onduidelijke wetgevingsaspecten aan bod, en zijn beslissingen gezamenlijk gedragen door stakeholders.

Summary

3D printing is a collective term for innovative techniques that have rapidly developed in the last few years. Some talk about a new industrial revolution.

Even though the technique is still in the process of development, there are wide ranging potential applications. These include medical and biomedical applications such as medical devices, pharmaceuticals, medical research, and the development of new in vitro tests. Together with other innovative techniques such as organ-on-a-chip, tissue engineering, synthetic and biological stem cells, 3D printing has great potential to contribute to the 3Rs – replacing, reducing and refining animal experiments.

For instance, printed organs-on-a-chip (of human origin) can be used in toxicity and efficacy testing of medicines. This would provide the data needed and save on the use of laboratory animals. However, perhaps the greatest impact of innovations would be in avoiding and preventing animal experiments as a whole. When more knowledge about the physiology of the human body is available, animal experiments will finally no longer be necessary. Thus, advances in innovative technologies have to be used to the fullest extend to make reduction and prevention of the use of animal experiments possible.

In this respect, attention needs to be given to the following aspects:

- *Gaining more insight into and underpinning the link between innovation and 3R (monitoring and evaluation):* It is therefore essential to have multidisciplinary knowledge exchange and to establish and measure indicators for effect monitoring of 3Rs. Innovation experts and 3R experts could work together to provide more insight into the impact of innovations on 3Rs, which is closely related to the Committee's task of of preparing best practices.
- *Making the link between innovations and 3Rs better known:* by means of communication activities by the National Committee and by means of education*;*
- *Investing in innovative research:* in which the positive effects on 3Rs and preventing and avoiding animal experiments are demonstrated (see above under monitoring and evaluation), and by establishing active interaction between research areas.
- *Increasing insight into the potential benefits and disadvantages of 3D printing:* link horizon scanning data with insights into the potential benefits and disadvantages of innovation in a risk governance process. This covers not only traditional risk assessment (potential physical risks such as particle emissions), but also social-ethical aspects (such as improvements for people) and unclear legal aspects, and leads to decisions jointly carried by stakeholders.

1 Introductie 3D-printing

Driedimensionaal (3D) printen, ook wel “additive layering/manufacturing” genoemd, is de verzamelnaam voor technieken waarmee driedimensionale objecten gemaakt kunnen worden. De oervorm van 3D-printen bestaat al meer dan 25 jaar, maar de technologie raakt steeds verder ontwikkeld en het gebruik is de laatste jaren sterk gestegen. Het wordt goedkoper, kwalitatief beter en toegankelijker, naast professionals nu ook voor het publiek. Daarnaast zijn er steeds meer toepassingen denkbaar, en is er sprake van 3D-printing als push-market: de technologie is klaar, nu is het zaak de vraag naar de toepassingen te vergroten.

3D-printen wordt al veel vooral toegepast voor conceptontwikkeling bij bedrijven om modellen te creëren. Hierbij kan gedacht worden aan toepassingen voor mode, architectuur, speelgoed, maar ook kunst. De meest uiteenlopende objecten kunnen geprint worden, zoals schoenen, lampenkappen, schaakspel, reserve-onderdelen voor allerhande apparaten en zelfs complete huizen gemaakt op basis van materialen zoals plastic, keramiek, composiet en zand. In plaats van het traditioneel vervaardigen van producten door materialen te gieten, persen, buigen of snijden, is 3D-printen een totaal nieuwe productietechniek. Volgens het internationale tijdschrift ‘The Economist’ kan dat net als het digitale tijdperk voor een nieuwe industriële revolutie[1] gaan zorgen, met meer lokale productie (duurzamer dan transporteren) en “social manufacturing”, waarin communities en kleine bedrijven die 3D-printing en aanverwante diensten aanbieden, centraal staan. Maar ook voor grote bedrijven is 3D-printing van belang, in Eindhoven is in 2013 een 3D-printfabriek[2] voor en door bedrijven opgezet.

De technieken die onder de noemer “3D-printing” geschaard worden zijn de afgelopen jaren sterk verbeterd, wat heeft geleid tot een scala aan toepassingsmogelijkheden[3]. Zo wordt er naast het creëren van objecten voor design en consumentengebruik ook gewerkt aan de ontwikkeling van o.a.:

- Medische hulpmiddelen. Hulpmiddelen (waaronder protheses en implantaten) kunnen op maat gemaakt worden. Dit gebeurt op basis van een scan voor gewrichten als heupen, onderdelen van het gebit, maar ook bijvoorbeeld gehoortoestellen, en is dus toegesneden op de betreffende patiënt. Een medische primeur is de transplantatie van een 3D-geprinte onderkaak bij een 83-jarige vrouw in 2011[4]. Een klassieke hersteloperatie zou te lang duren en te risicovol zijn, daarom werd voor een op maat gemaakt geprinte onderkaak gekozen, met succesvol resultaat. In 2013 kon een pasgeboren baby worden gered dankzij een 3D-geprinte spalk voor de luchtwegen[5] (Zopf et al., 2013). Zonder ingreep zou de luchtpijp dichtklappen bij uitademen en de ademhaling stoppen, maar met de spalk kon dit worden voorkomen. De spalk is gemaakt van biologisch afbreekbaar materiaal en zal na een paar jaar

[1] http://www.economist.com/node/21552901
[2] http://nos.nl/artikel/555086-eerste-3dprintfabriek-in-eindhoven.html
[3] http://www.wetenschap24.nl/specials/3D-printing.html
[4] http://www.nu.nl/binnenland/2730717/3d-geprinte-onderkaak-hoogbejaarde-vrouw.html
[5] http://www.ground3d.nl/3d-geprinte-spalk-houdt-baby-in-leven/

volledig afgebroken zijn. In de tussentijd past het lichaam zich aan en zal de spalk niet meer nodig zijn. De verwachting is dat dit het begin is van een revolutie in de medische wereld en dit soort implantaten in de toekomst vaker gebruikt zullen gaan worden.

- Geneesmiddelen. Ontwikkelingen maken het in de toekomst mogelijk om eigen medicijnen te printen die op maat zijn gemaakt[6]. Met behulp van 3D-printing kan het chemische proces nog beter gestuurd worden en is het zelfs denkbaar dat consumenten op termijn een persoonlijke medicijnontwerper thuis hebben en met de juiste software hun eigen medicijnen kunnen printen (Symes et al., 2012).
- Voedsel. 3D-printing kan gebruikt worden om voedsel te personaliseren en af te stemmen op behoeftes van afzonderlijke personen[7]. Hierbij kan gedacht worden aan gepureerd voedsel in een optisch aantrekkelijke vorm (bv gepureerde broccoli in de vorm van een broccoliroosje) voor mensen met kauw- en slikproblemen. Door het voedsel aantrekkelijker te maken, wordt er beter gegeten en wordt ondervoeding, een groot probleem onder zieken en ouderen[8], voorkomen. Daarnaast zouden met 3D-printing voedingsstoffen uit algen of insecten kunnen worden omgezet in beter geaccepteerde, maar wel milieuvriendelijke, voedingsproducten. En tenslotte is door een combinatie van technieken (3D-printing en stamcellen) in 2013 de eerste proof of concept van een gekweekte hamburger[9] gepresenteerd.
- Geprinte weefsels en organen. Het printen van weefsels en organen, al dan niet een exacte kopie (in vorm en samenstelling) van de in vivo situatie, is een groeiend vakgebied. Zo hoeft een substituut-nier niet te lijken op een echte nier, maar wel afvalstoffen uit het bloed te verwijderen. Zo worden steeds meer biocompatibele materialen ontwikkeld die qua eigenschappen en functionaliteit lijken op levend weefsel en geschikt gemaakt om mee te printen. En de 3D-printing technologieën worden waar nodig aangepast om het printen met biomateriaal zoals levende cellen mogelijk te maken. De technologie kan op de lange termijn wellicht een cruciale rol gaan spelen in het oplossen van het tekort aan donorweefsels en -organen[10]. Dit biedt behalve mogelijkheden voor de gezondheidszorg ook kansen voor de ontwikkeling van alternatieven voor dierproeven (zie Hoofdstuk 3). Deze kansen kunnen niet los gezien worden van enkele andere innovatieve biomedische ontwikkelingen als werken met stamcellen (zie Hoofdstuk 2).

Ondanks dat deze toepassingen deels nog in de kinderschoenen staan, zijn de verwachtingen voor de toekomst hooggespannen. De mogelijke risico's van 3D-printing vallen buiten de scope van dit advies en krijgen ook elders tot zover minder aandacht, op incidentele berichtgeving zoals over geprinte wapens na. Maar om de technologie tot bloei te laten komen is het wel van belang oog te hebben voor zowel de mogelijke voor- als nadelen. De vorm en eigenschappen

[6] http://www.scientias.nl/print-uw-eigen-pillen/60923
[7] http://www.tno.nl/content.cfm?context=thema&content=prop_case&laag1=892&laag2=906&laag3=83&item_id=1866&Taal=2
[8] http://www.nu.nl/tech/3491660/3d-geprint-voedsel-vijf-jaar-in-verzorgingstehuizen.html
[9] http://www.nu.nl/buitenland/3543236/hamburger-van-kweekvlees-gepresenteerd-in-londen.html
[10] Populaire artikelen waarin vooruit wordt gekeken naar mogelijke toekomstige toepassingen voor de gezondheidszorg, waaronder donororganen: http://www.livescience.com/26853-3d-printing-medicine.html en http://thinkprogress.org/health/2013/05/23/2054281/promising-uses-3d-printing-medicine/

van geprinte voorwerpen kan vragen opwerpen, evenals de veiligheid van het printproces (lekkende vullingen of door voedselresten verstopte leidingen) en de voedingswaarde van voedsel en de veiligheid en houdbaarheid van het eindproduct. Verder zijn er vragen rondom het waarborgen van een hygiënische werkwijze met voedsel of geneesmiddelen/medische hulpmiddelen. Ook bijkomende effecten voor de gebruiker (uitstoot van (nano)deeltjes door de printer (Stephens *et al.,* 2013)), acceptatie door het publiek, sociaal-ethische kwesties bij medische toepassingen ("sleutelen aan mensen") en mogelijke regulering vragen aandacht. Dat laatste vooral om te voorkomen dat aspecten van 3D-printing (materialen en producten, de software, de printers of het printproces zelf, of een van voornoemde zaken) tussen verschillende regulering/wetgeving, of zelfs erbuiten, vallen[11].

Dit advies pretendeert niet een volledig overzicht te geven van de huidige en toekomstige toepassingen van 3D-printing, maar wel een aantal voorbeelden waaruit de mogelijke impact van de technologie op de 3V's blijkt.
Eerste stap daarin is om 3D-printing in het veld van andere innovaties te plaatsen, omdat vaak pas in samenhang daarmee de voor 3V-relevante ontwikkelingen kunnen plaatsvinden (H2). Van de 3V's betreft het dan vooral Vermindering en Vervanging, en in mindere mate Verfijning, maar uiteindelijk ook de 4^{e} V, van Vermijding (of Voorkoming) van dierproeven. In Hoofdstuk 3 volgt de discussie en de aanbevelingen over hoe in kaart kan worden gebracht hoe de positieve invloed van 3D-printing en aanverwante innovaties ten volle benut kunnen worden voor het vervangen, verminderen en verfijnen van dierproeven en proefdieren.

[11] Aan regelgeving is in Europees Commissieverband gewerkt door de New and Emerging Technologies Working Group (NET) http://ec.europa.eu/health/medical-devices/dialogue-parties/working-groups/index_en.htm
Eindrapportage http://www.eaarmed.org/wp-content/uploads/2012/03/Additive-manufacturing-or-3D-Printing.pdf

2 3D printing en innovatie, en het effect op de 3V's

Zoals geschetst zijn de toepassingsmogelijkheden van 3D-printing divers en zijn er vele ontwikkelingen gaande. Naar verwachting zal de grootste potentie van 3D-printing voor het (bio)medische veld liggen in de toepassingen in combinatie met andere technologieën, om daarmee de toepassingsmogelijkheden te vergroten. Diverse technologieën zijn recent in kaart gebracht en beschreven door de 'Foresight Horizon Scanning Centre' van de 'Government Office for Science' (Foresight, 2010; Foresight, 2012), en staan ook genoemd als mogelijke oplossingsrichtingen voor de grote vraagstukken uit de Nederlandse wetenschapsagenda van de KNAW (2011[12]).

Tissue engineering

Tissue engineering, ook wel cel- en weefseltechnologie genoemd[13], richt zich op de ontwikkeling van biologisch materiaal zoals weefsels en organen waarmee functies in het lichaam vervangen of behouden kunnen worden. Het doel kan zijn om implantaten te maken of beschadigde weefsels te ondersteunen of te vervangen. Een veel genoemde toepassing van tissue engineering is de combinatie van cellen op een zogeheten 'scaffold', een driedimensionale matrix of mal in de vorm van het gewenste weefsel waarop de cellen gekweekt kunnen worden (Mota et al., 2012). Het is een tijdelijke mal die structuur biedt voor het vormen van het nieuwe weefsel en zal uiteindelijk langzaam afbreken zodat alleen het weefsel nog over blijft. Een blijvende scaffold kan verkregen worden van een donor, waarvan het betreffende orgaan wordt ontdaan van levende cellen, en de cellen van de ontvanger er in vitro in gekweekt worden zodat weer een compleet orgaan zoals voor de nier van een rat is gedaan (Song *et al.,* 2013). Een artificiële scaffold moet aan vele eisen voldoen om tot een goed gevormd weefsel, bv nieuw bot, te kunnen leiden. Afbreekbaarheid, porositeit en mechanische eigenschappen spelen hierbij een belangrijke rol. Het moet daarnaast passend zijn voor de betreffende patiënt. Met behulp van 3D-printing kan aan deze hoge eisen voldaan worden en kan een op maat gemaakte scaffold geproduceerd worden. Ook kan 3D-printing een rol spelen bij het plaatsen van cellen op de scaffold, zoals bij stamcellen waarbij de onderlinge positie en structuur essentieel zijn voor het goed functioneren van de cellen[14].
3D-printing zonder scaffold kan ook een belangrijke rol gaan spelen. Zo is een toekomstbeeld voor de huid dat het geprint kan worden direct op het lichaam waar de patiënt het nodig heeft. En aan kraakbeenimplantaten, al dan niet gefabriceerd middels 3D-printing, wordt in Europees verband[15] veel onderzoek gedaan. Geprinte bloedvaten worden al toegepast, en begin dit jaar was er veel aandacht in de media over het implanteren van een 3D-geprinte luchtpijp van resorbeerbaar materiaal bij een baby (Zopf *et al.,* 2013).
In de praktijk moeten nog wel wat hobbels genomen worden. Organen als blaas en trachea, middels een dunne laag cellen gezaaid op biocompatibele scaffolds,

[12] https://www.knaw.nl/nl/thematisch/de-nederlandse-wetenschapsagenda
[13] In Nederland heeft het afgeronde "Dutch Programm for Tissue Engineering" DPTE, tezamen met Stem Cells in Development and Disease (SCDD), geleid tot het "Netherlands Institute for Regenerative Medicine" www.nirm.nl
[14] http://www.livescience.com/26865-3d-printed-embryonic-stem-cells.html
[15] Zie het interview met dr Malda van UMCU http://www.nkca.nl/3v-s-in-de-praktijk/onderzoeken/jos-malda-3d-printen-medische-wetenschap/

kunnen in patiënten toegepast worden. Maar in veel soorten weefsel is het vasculair systeem[16] al snel de beperkende factor. Dit houdt op dit moment grootschalige toepassing van 3D-geprinte organen tegen. Daarom is de focus nu op het fabriceren van organen met een fijnmazig vasculair systeem er al in, door diezelfde 3D-printing technologie[17]. Het bevorderen van endotheel-bekleding van die fijne vaatjes, en het open houden door samendrukking te voorkomen zijn daarin uitdagingen.
Onderzoek op het gebied van tissue engineering vindt vaak (ook) in proefdieren plaats. Maar het kan tegelijkertijd in vitro onderzoeksmodellen opleveren waardoor bepaald onderzoek met dieren overbodig wordt.

Organ-on-a-chip
Door schaalverkleining ontstaan nieuwe concepten, zoals het lab-on-a-chip waarmee laboratorium-bepalingen in slechts een enkele druppel (of minder) vloeistof (bv bloed) gedaan kunnen worden (Baker *et al*., 2011). Maar waar nanotechnologie gecombineerd wordt met een biologische omgeving of biologisch weefsel kan meer ontstaan. Zo kan een weefsel of zelfs een compleet orgaan worden nagebootst op een chip.
Een voorbeeld hiervan is de 'lung-on-a-chip', waarbij de longfunctie is nagebootst op een kleine chip. Met deze miniatuurversie van de long kan de uitwisseling van zuurstof en koolstofdioxide (inclusief het laten bewegen van de betrokken cellen) geregeld worden, waarmee het mogelijk wordt gemaakt om in vitro testen uit te voeren (Huh et al., 2010). De darm is op vergelijkbare wijze nagebootst, en ook hier heeft het feit dat de natuurlijke beweging van de darm mogelijk is meerwaarde boven een statische kweek. Bovendien leven de cellen langer (Kim et al., 2012)
Als ultiem toekomstbeeld fungeert de complete "mens-op-een-chip[18]", waarin ook de interacties tussen organen en de ADME eigenschappen[19] (absorptie, distributie, metabolisme, excretie) meegenomen kunnen worden. ADME specifiek voor de mens wordt nu pas vaak laat in de ontwikkel-keten van medicijnen zichtbaar, als er al veel geld is geïnvesteerd en dierproeven reeds verricht zijn.
Weefsels, organen en uiteindelijk de human-on-a-chip kunnen ook ingezet worden voor toxiciteits- en effectiviteitstesten van bijvoorbeeld medicijnen[20]. In de huidige situatie worden hiervoor vele dierstudies uitgevoerd. Met behulp van een lever die in 3D op een chip is geprint kan in vitro worden getest of een medicijn schadelijk is voor de lever. Hiermee kunnen op termijn testen vervangen worden of kan het aantal dieren verminderd worden. Deze ontwikkelingen kunnen resulteren in een kostenbesparing door vermindering of vermijding van dierproeven en verbetering en versnelling (kortere time-to-market) van de ontwikkeling van nieuwe medicijnen (Huh *et al*., 2011).

[16] In het KNAW-project "over grenzen" (2012-2014) http://www.organenopchips.nl/knaw-over-grenzen/ wordt gewerkt aan metastase, huid, nier, hersenweefsel, bloedstolling en bloedvaten.
[17] http://www.bbc.co.uk/news/technology-18677627
[18] Het Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering aan de Harvard University is een samenwerking aangegaan met Defense Advanced Research Projects Agency (DARPA) waarin voor tientallen miljoenen euro's onderzoek wordt gedaan naar de human-on-a-chip.
[19] Een andere nieuwe bron van informatie is zogenaamde "microdosering" van vrijwilligers, waarbij een zeer kleine hoeveelheid van de stof wordt toegediend en het gedrag van de stof in het menselijk lichaam met de verfijnde analysetechnieken van tegenwoordig wordt gemeten.
[20] Zie bericht over een valorisatie-subsidie van STW voor een bedrijf in dit veld http://www.stw.nl/nl/content/mimetas-%E2%80%93-orgaan-op-een-chip-voor-betere-medicijnen

Bovendien zijn dierstudies niet altijd betrouwbaar voor het voorspellen van effectiviteit en schadelijkheid van stoffen. Voor neurologische aandoeningen bijvoorbeeld is behoefte aan een relevant model, dat proefdieren en schaars humaan hersenweefsel nog niet opgeleverd hebben. Hersenweefsel opgekweekt uit iPSC (geïnduceerde pluripotente stamcellen, zie onder paragraaf “stamcellen” in dit Hoofdstuk) van gezonde vrijwilligers dan wel donoren met een bepaalde afwijking zou hier een stap voorwaarts kunnen zijn. Ook onderzoek naar ziektes (hartritmestoornis op kloppende hartcellen in vitro) en afwijkingen (hoge bloeddruk op bloedvaten) zou minder afhankelijk worden van diermodellen. Andere mogelijke toepassingen zijn een miniatuur van het bloedvatenstelsel voor onderzoek naar de afgifte van medicijnen in het lichaam (Prabhakarpandian *et al*, 2011), onderzoek naar de vorming van kanker-metastasen (uitzaaiingen), en meer op de persoon afgestemde behandelingen door in vitro op cellen van de patiënt zelf te onderzoeken welk medicijn het meest geschikt is.

Stamcellen

Een stamcel is een niet gespecialiseerde cel die zich nog kan ontwikkelen tot een ander celtype. Cellen uit een embryo zijn pluripotent, wat inhoudt dat ze kunnen uitgroeien tot talloze verschillende celtypen (levercel, huidcel of bloedcel). Deze eigenschap maakt de stamcel erg interessant voor medische toepassingen, zoals stamceltransplantatie bij leukemiepatiënten, en biomedisch onderzoek. Omdat cellen uit embryo’s omstreden en beperkt beschikbaar zijn, is het gebruik van geïnduceerde pluripotente stamcellen in opkomst (iPSC). Deze zijn middels de-differentiatie van bepaalde cellen uit het lichaam, die kunnen worden geïsoleerd uit bijvoorbeeld bloed, huid of urine, te verkrijgen. Met stamcellen kunnen dus gespecialiseerde cellen, organen en weefsels gemaakt worden. Deze cellen kunnen vervolgens niet-functionerende cellen in het lichaam vervangen, bijvoorbeeld insuline-producerende cellen voor diabetespatiënten of nieuwe hartcellen voor hartpatiënten. Verder kunnen ze gebruikt worden om in vitro toxiciteitstesten te ontwikkelen of om ziektes te bestuderen[21], al dan niet in combinatie met technieken zoals 3D-printing, tissue engineering en lab-on-a-chip (Faulkner-Jones *et al.,* 2013). Het kweken van stamcellen is complex en met de huidige methoden kan de omgeving van stamcellen slechts deels worden nagebootst. Met lab-on-a-chip kunnen vele factoren zoals de extracellulaire matrix en de interactie tussen cellen beter nagebootst worden en blijven belangrijke eigenschappen van stamcellen zoals viabiliteit en pluripotentie behouden (Gupta et al., 2010, Huh et al., 2011). In Nederland wordt hier onder andere aan gewerkt in het KNAW project “over grenzen[22]” (2012-2014).
Het gebruik van stamcellen samen met deze technieken vergroot de mogelijkheden voor verdere ontwikkeling en toepassingen, waaronder in vitro methoden die ingezet kunnen worden ter vermindering en vervanging van dierproeven. Voor een effectieve toxiciteitstest kan de mogelijkheid om in 3D te testen cruciaal zijn. En op termijn zal de beschikbaarheid van nieuwe therapieën met stamcellen voor de behandeling van o.a. diabetes, ziekte van Parkinson, ziekte van Alzheimer, hartziekten en chronische ontstekingen leiden tot minder onderzoek met dieren.

[21] http://www.bbc.co.uk/news/uk-scotland-edinburgh-east-fife-21328109
[22] http://www.organenopchips.nl/knaw-over-grenzen/

Synthetische biologie
De synthetische biologie omvat het nabouwen van bestaande en het ontwerpen van nieuwe biologische systemen met nieuwe functionaliteiten. Dat eerste wordt veelal gedaan met behulp van genetische manipulatie of door zelf het DNA te ontwerpen. Maar voor synthetisch materiaal zonder genetisch materiaal is dat niet nodig. Zo kunnen waterdruppels omhuld door liposomen met behulp van 3D-printing gemaakt worden. Dit kan dienen als omhulsel voor medicijnen die zo op een veilige manier op de juiste plaats in het lichaam terecht komen en alleen bij het beoogde weefsel het bedoelde effect geven (Villar et al., 2013). Gesynthetiseerd biologisch materiaal dat met behulp van een 3D-printer tot driedimensionaal materiaal gemaakt kan worden heeft meer functionaliteiten (bv geleiding van elektrische impulsen gelijk aan een zenuw) dan de tweedimensionale versie. Dit biedt perspectieven voor onderzoeksmodellen die als 3V-alternatief kunnen dienen. Nieuwe functionaliteiten staan ook centraal in een Nederlands onderzoekscentrum[23] ("functionele moleculaire systemen"), waar de ambitie is om middels moleculaire zelfassemblage nanomotortjes te maken, en dynamische biomaterialen voor weefselreparatie.
Een andere toepassing is het combineren van synthetisch materiaal met cellen en nanodeeltjes. Zo hebben onderzoekers op basis van een 'proof of concept' een bionisch oor gemaakt via 3D printing, bestaand uit een hydrogel matrix, cellen en zilver nanodeeltjes. Door de zilvernanodeeltjes was het bionisch oor in staat om radiosignalen op te vangen (Mannoor *et al.,* 2013).

Oefenmodellen voor chirurgie
Medische hulpmiddelen zoals middels 3D-printing op de patiënt toegesneden heupprotheses en bloedvaten zijn een vooruitgang voor de patient. Maar de voortschrijdende technologie zorgt er ook voor dat de oefenmogelijkheden voor chirurgen om bijvoorbeeld aanstaande operaties te oefenen toenemen[24]. De omvang hiervan is (nog) niet duidelijk, evenals of hierdoor het oefenen in bepaalde diermodellen wellicht minder wordt.

Zoals hierboven geschetst zullen innovatieve technieken, van stamcellen tot organen-op-een-chip, een steeds groter effect krijgen op de 3V's. 3D-printing zal, in combinatie met andere innovatieve technologieën, effect hebben op de 3V's. Zo kunnen innovatieve technieken een rol spelen in de ontwikkeling van 3V-alternatieven, waarmee in vivo experimenten verminderd en vervangen kunnen worden. Maar voor (het ontwikkelen van) sommige innovatieve technologieën zijn ook juist proefdieren nodig. Verfijning tenslotte zal ook beïnvloed kunnen worden bijvoorbeeld daar waar minder data uit een dier gehaald hoeven te worden (dus minder ongerief per dier), omdat die in vitro gegenereerd kunnen worden. Maar misschien zal het effect van innovatie wel het grootst zijn middels de 4^{e} V, de V van Vermijding of Voorkoming. Er is steeds meer kennis over het functioneren van het menselijk lichaam, hoe de normale fysiologie in elkaar zit, en hoe ziekte ontstaat. Wanneer genoeg kennis

[23] Door NWO en OCW gefinancierd onderzoeksprogramma, zie http://www.nwo.nl/actueel/nieuws/2012/269-miljoen-voor-research-centre-for-functional-molecular-systems.html
[24] http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/37270/title/Organs-on-Demand/

over en technologie in vitro of in silico (computer) modellen gebaseerd op het menselijk lichaam beschikbaar is raakt het proefdier overbodig[25].

[25] Zoals ook bijvoorbeeld geschetst door het National Research Council (USA, 2007) in hun visie op toxicologie voor de 21e eeuw. Dit geldt niet een op een voor dierproeven die voor andere doeleinden worden verricht, zoals veterinaire geneeskunde

3 Discussie en aanbevelingen

De technologie om in 3D te printen kent vele toepassingen en dat zullen er naar verwachting nog veel meer worden. 3D-printing gaat, net als andere innovatieve technologieën, gepaard met onzekerheden wat betreft de uiteindelijke voordelen en risico's. In de huidige samenleving neemt innovatie een belangrijke rol in, als aanjager van economische groei. Bovendien verbetert het de gezondheidszorg en creëert het kansen voor duurzame ontwikkelingen. Tegelijkertijd staat de samenleving echter intolerant tegenover (onbekende) risico's. Er moet dus op verantwoorde wijze worden omgegaan met innovaties (Owen *et al.,* 2009). Betere en tijdige "horizon scanning" van innovaties gekoppeld aan inzicht in mogelijke voor- en nadelen is hierbij gewenst. Dat laatste is niet eenvoudig omdat wetenschappelijke onderbouwing veelal nog ontbreekt (WRR 2009, Lofstedt and Renn 2004). Maar een risk governance-proces waarbij niet alleen wetenschappelijke maar ook maatschappelijke partijen zijn betrokken kan leiden tot gezamenlijk gedragen beslissingen (van Asselt en Renn, 2011), waardoor meer innovaties (sneller) de markt halen.
Hierbij hoort ook het ophelderen van eventuele onduidelijkheden rondom wetgeving en het hebben van een lange adem[26] voor (ontwikkeling en toepassing van) bepaalde toepassingen. Anders kan dat een negatief effect hebben op geneeskundige toepassingen[27] maar ook op het tot stand komen van 3V-alternatieven. De toepassingen op 3V-vlak hebben nog een additionele "handicap": de link tussen innovatieve onderzoeksterreinen en 3V alternatieven wordt niet altijd vanzelf gemaakt. Wetenschappelijk excellente, innovatieve projecten kunnen als onbedoeld "bijeffect" een positief effect hebben op de 3V's. Maar de link met alternatieven voor dierproeven is een positieve, die de moeite van het stimuleren waard is. Zo kan de risk-benefit afweging voor bepaalde toepassingen in een ander licht komen te staan, of wellicht de balans naar de benefit-kant doen doorslaan. Maar dan moet de link tussen innovaties als 3D-printing en de 3V's wel gezien worden, transparant en meetbaar zijn, en breed worden gebruikt en erkend.

Vergroot het inzicht in en onderbouw de link tussen innovaties en 3V (monitoring en evaluatie):

- Breng innovatief werk, waaronder 3D-projecten, en het grensvlak met de 3V's in kaart[28], en zet in op multidisciplinaire kennisdeling.
- Het lijkt logisch dat innovaties effect hebben op 3V-alternatieven voor dierproeven, en uiteindelijk op de 4^{e} V van Vermijding/Voorkoming. Maar dit goed onderbouwen klinkt eenvoudiger dan het is. Ten eerste kunnen innovaties gemengde effecten hebben, zoals tissue engineering dat zowel dieren kost als spaart. Daarom is de vakkennis van experts per onderzoeksgebied onontbeerlijk.
- Maar de grootste overkoepelende moeilijkheid is het feit dat er nog geen 3V-indicatoren (meetbare aspecten) gemonitord worden (van Zijverden et al., 2012), en dat er specifiek voor innovatie überhaupt nog geen

[26] http://mappingignorance.org/2013/05/01/can-3d-printing-mark-a-turning-point-in-tissue-engineering/
[27] In het geval van de luchtweg-spalk voor de baby in levensnood is bleek een zeer snel traject van goedkeuring door de Amerikaanse Food and Drug Association wel mogelijk, waar dat anders zeer tijdrovend is
[28] Of breng overzichten uit de verschillende gebieden bijeen

indicatoren zijn bepaald. Behalve bij de vaststelling van die indicatoren spelen experts ook een centrale rol in de interpretatie van monitoringsdata. Het lijkt dan ook logisch dat experts op het gebied van innovatie (waaronder 3D-printing) samenwerken met 3V-experts en dat beiden het Nationaal Comité (op te richten in 2014) voeden met hun expertise. De experts kunnen gezamenlijk per vakgebied de horizon scannen, verbanden leggen, vaststellen welke indicatoren gemeten moeten gaan worden zodat de mogelijke impact op de 3(4)V's inzichtelijk wordt, en benodigde kennis bundelen. Dit levert inzicht dat aan de vraag om maatschappelijke verantwoording tegemoet komt (o.a. verantwoording van de bestede onderzoeksgelden, effectiviteit van het beleid). Maar het kan ook ideeën genereren voor "best practices", waarvan het opstellen een andere taak van het Nationaal Comité is.

Maak de link tussen innovaties en 3V beter bekend:

- middels communicatie-activiteiten vanuit het NC, bijvoorbeeld over aansprekende voorbeelden waarin een innovatieve technologie impact heeft op 3V.
- middels onderwijs waarin studenten of nascholingskandidaten bewust worden (gemaakt) van de link tussen innovatie en 3V

Investeer in innovatief onderzoek

- waarvan een positief effect op de 3V's (en de 4^{e} V) aannemelijk is gemaakt (zie onder eerste bullet hierboven, monitoring en evaluatie).
- Beinvloed de focus van 3V-onderzoek middels het richting geven aan de calls die via ZonMw, NWO, e.a. worden uitgezet. Zo zoekt ZonMw actief contact met partijen die wellicht niet vanzelf een call voor 3V-projecten onder ogen zou komen. Dit heeft voor MKMD (Meer Kennis met Minder Dieren) geleid tot een brede variatie onder de inschrijvingen.

Vergroot het inzicht in potentiele voor- en nadelen van 3D-printing

- Voer regelmatig een horizon scan uit op het gebied van innovaties, en koppel deze aan inzicht in mogelijke voor- en nadelen.
- Neem een actieve houding aan ten opzichte van mogelijke nadelen. Dus los onduidelijke wetgevingsaspecten op, omdat die de wil om te investeren en de maatschappelijke acceptatie verkleinen. En heb aandacht voor potentiele fysieke risico's als deeltjesuitstoot. Ook sociaal-ethische aspecten spelen bij 3D-printing een rol.
- Een risk governance-proces rondom 3D-printing zou behulpzaam kunnen zijn in het komen tot gezamenlijk gedragen beslissingen

4 Referenties

Faulkner-Jones A, Greenhough S, King JA, Gardner J, Courtney A, Shu W. Development of a valve-based cell printer for the formation of human embryonic stem cell spheroid aggregates**.** Biofabrication 5 (1): 15013 DOI: (2013).

van Asselt MBA, and Renn O. Risk Governance. Journal of Risk Research, 14(4), 431-449 (2011).

Foresight. Technology and Innovation Futures: UK Growth Opportunities for the 2020s. Technology Annex. Horizon Scanning Centre of the Government Office for Science (2010).

Foresight. Technology and Innovation Futures: UK Growth Opportunities for the 2020s– 2012 Refresh. Horizon Scanning Centre of the Government Office for Science (2012).

Gupta K, Kim DH, Ellison D, Smith C, Kundu A, Tuan J, Suh KY, Levchenko A. Lab-on-a-chip devices as an emerging platform for stem cell biology. Lab on a Chip, vol 10(16), 2019-2031 (2010).

Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE. Reconstituting organ-level lung functions on a chip. Science, vol 328(5986), 1662-1668 (2010).

Huh D, Hamilton GA, Ingber DE. From 3D cell culture to organs-on-chips. Trends in Cell Biology, vol 21(12), 745-754 (2011).

Kim HJ, Huh D, Hamilton G, Ingber DE. Human gut-on-a-chip inhabited by microbial flora that experiences intestinal peristalsis-like motions and flow. Lab on a Chip. Vol 12(12), 2165-2174 (2012).

Lofstedt and Renn. European Workshop on Interdisciplinary Research on Risk and Governance. Brussels, June 2004.

Mannoor MS, Jiang Z, James T, Kong YL, Malatesta KA, Soboyejo WO, Verma N, Gracias DH, McAlpine MC. 3D printed Bionic Ears. Nano Letters, 13 (6), 2634–2639 (2013).

Mota C, Puppi D, Chiellini F, Chiellini E. Additive manufacturing techniques for the production of tissue engineering constructs. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, article in press.

Neuži P, Giselbrecht S, Länge K, Huang TJ, Manz A. Revisiting lab-on-a-chip technology for drug discovery. Nature Reviews. Drug Discovery, vol 11(8), p620-632 (2012).

Owen, R., Baxter D., Maynard T., Depledge M. Beyond regulation: risk pricing and responsible innovation. Environmental Science and Technology, 43: 6902-6906 (2009).

Prabhakarpandian B, Shen MC, Pant K, Kiani MF. Microfluidic devices for modeling cell-cell and particle-cell interactions in the microvasculature. Microvascular Research, Vol 82(3), p210-220 (2011).

Song JJ, Guyette JP, Gilpin SE, Gonzalez G, Vacanti JP, Ott HC. Regeneration and experimental orthotopic transplantation of a bioengineered kidney. Nature Medicine 19, 5, 646-652 (2013).

Stephens B, Azimi P, El Orch Z, Ramos T. Ultrafine particle emissions from desktop 3D printers. Atmospheric Environment 79 (2013).

Symes MD, Kitson PJ, Yan J, Richmond CJ, Cooper GJ, Bowman RW, Vilbrandt T, Cronin L. Integrated 3D-printed reactionware for chemical synthesis and analysis. Nature Chemistry, vol 4(5), p349-354 (2012).

Villar G, Graham AD, Bayley H. A tissue-like printed material. Science, vol 340(6128), p48-52 (2013).

WRR Scientific Council for Government Policy. Uncertain safety; Allocating responsibilities for safety (2009).

Zopf DA, Hollister SJ, Nelson ME, Ohye RG, Green GE. Bioresorbable airway splint created with a three-dimensional printer. The New England Journal of Medicine, vol 368(21), p2043-2045 (2013).

Van Zijverden M, Noorlander CW, Deleu SAM. Dataopslag, monitoring en evaluatie van dierproeven, proefdieren en 3V-alternatieven voor proefdiergebruik in Nederland. RIVM rapport 380001003 (2013).

Maaike van Zijverden | Petra van Kesteren | Sophie Deleu

NKCA Briefrapport 100253001

NKCA
Nationaal Kenniscentrum Alternatieven voor Dierproeven

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven

info@nkca.nl
www.nkca.nl

februari 2014

006551