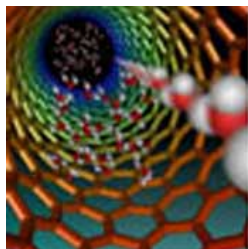


# KIR-nano Signaleringsbrief 1

Jaargang 5, Nummer 1 / februari 2014



## Redactioneel

De technologie evolueert, maar ook de kennis over veiligheid. Nanotechnologie dient nu als voorbeeld voor het inschatten van en omgaan met veiligheidsaspecten van weer nieuwe technologieën, zoals synthetische biologie en 3D-printing.

We weten al veel over de risico's van nanotechnologie, maar veel ook nog niet. Deze onzekerheden werken ook weer door in de nieuwe technologieën en onderwerpen. De uitdaging is om deze onzekerheden te onderscheiden in de 'nice to knows' en de 'need to knows', ook voor de 'good old' nanotechnologie.



## ARBO

### Leidraad voor blootstellingsmetingen van koolstof nanobuisjes op de werkplek

Veilig omgaan met nanomaterialen op de werkplek vraagt om kennis over de blootstelling van werknemers. Japanse onderzoeksinstituten publiceerden een leidraad voor het meten van koolstof nanobuisjes (CNT) in lucht. De techniek schrijdt voort, maar er blijven belangrijke kennisleemtes [Lees meer](#)

### Werk in copyshop leidt tot luchtwegontstekingen

Kopieerapparaten veroorzaken grote hoeveelheden nanodeeltjes, een mengsel van bewust gefabriceerde (nano)deeltjes die tijdens het kopieerproces vrij kunnen komen in de omgeving. Dit leidt al na één werkdag in een copyshop tot luchtwegontstekingen bij gezonde vrijwilligers, zo laat Amerikaans onderzoek zien. [Lees meer](#)



## Geneesmiddelen en Medische Technologie

### Lab-on-a-chip: micro laboratorium, macro mogelijkheden

Lab-on-a-chip (LOC) is een technologie met ruime toepassingsmogelijkheden in de klinische diagnostiek en bij het testen van geneesmiddelen en andere chemische stoffen. LOC's kunnen ook als alternatief voor dierproeven dienen. [Lees meer](#)

### Nanogeneesmiddelen tegen Alzheimer en kanker

Onderzoekers presenteerden veelbelovende resultaten tijdens het internationaal congres "Nanoparticles and Nanotechnologies in Medicine". De behandeling van onder meer de ziekte van Alzheimer en kanker met nanogeneesmiddelen komt naderbij. [Lees meer](#)



## Milieu

### Nanodeeltjes in bodem

Nanodeeltjes in het milieu ‘bezinken’ voor een groot gedeelte in de (water)bodem. Nagenoeg onbekend is wat daarna de effecten zijn. Recent Nederlands onderzoek laat zien dat standaard testprotocollen (OECD, ISO) niet geschikt zijn voor het testen van nanodeeltjes in bodem. [Lees meer](#)



## Regelgeving

### Aanbeveling definitie nanomaterialen werpt vruchten af.

De discussie over wat wel en wat geen nanomateriaal is houdt de gemoederen al enkele jaren bezig. Er lijkt schot in de zaak te komen, vooral dankzij de ‘Aanbeveling’ van de Europese Commissie. Definities van nanomaterialen worden nu verder gestroomlijnd in diverse Europese wetgevingskaders. [Lees meer](#)



## Overige

### Grafeen: de feiten op een rij

‘Wonderkoolstof’ grafeen blijft iedereen verbazen. Sinds Andre Geim de Nobelprijs kreeg voor zijn baanbrekend grafeenonderzoek lijken er geen grenzen te zijn aan de toepassingsmogelijkheden. Kennis over blootstelling en risico’s van grafeen blijft achter. Een overzicht van wat speelt. [Lees meer](#)

### Nanomaterialen veranderen tijdens de levenscyclus, hun gezondheidsrisico’s veranderen mee

Nanodeeltjes kunnen tijdens productie en gebruik veranderen in vorm, oppervlakte-eigenschappen en hun contact met andere deeltjes. Deze ‘gedaanteverwisselingen’ beïnvloeden blootstelling en mogelijk ook toxiciteit, en dus ook gezondheidkundige risico’s van de nanodeeltjes. [Lees meer](#)

### 3D-printing: een nieuwe dimensie

3D-printing is ‘booming’. Sommigen spreken van een nieuwe industriële revolutie. De techniek is nog volop in ontwikkeling is, maar de toepassingen lijken grenzeloos. Van sieraden tot complete huizen, medische hulpmiddelen, weefsels en, op termijn, complete organen. Talloze vragen rijzen over de veiligheid, maar er lijkt ook goed nieuws voor het proefdier. [Lees meer](#)

## *Leidraad voor blootstellingsmetingen van koolstof nanobuisjes op de werkplek*

De TASC (Technology Research Association for Single Wall Carbon Nanotubes) – een consortium van negen bedrijven en het Japanse Instituut voor Advanced Industrial Science and Technology (AIST) – publiceerde in samenwerking met het Japanse Research Institute of Science for Safety and Sustainability (RISS) een [leidraad](#) voor blootstellingsmetingen van koolstofnanobuisjes (CNT's) op de werkplek. De auteurs geven een overzicht van de meest gebruikte meetmethoden en meetstrategieën wereldwijd. Ze concluderen dat de meest optimale methode nog niet is vast te stellen en dat er nog steeds vele uitdagingen zijn.

Deze uitdagingen bestaan onder meer uit het vaststellen van de juiste dosismaat voor de beoordeling van gezondheidseffecten, en de vergelijking van de gemeten waarden met de voorgestelde werkpleklimieten. Ook blijft het lastig om CNT's die bij het specifieke werkproces vrijkomen, te onderscheiden van de achtergronddeeltjes. Het meten van CNT's die vrijkomen uit composietmaterialen vraagt eveneens om meer aandacht. Ten slotte is het volgens de Japanse onderzoekers een belangrijke uitdaging om eenvoudige, goedkope meetmethoden te ontwikkelen.

*KIR/RIVM-overweging:* Deze publicatie geeft een goed overzicht van de actuele stand van zaken rond het meten van CNT's op de werkplek. Het RIVM sluit aan bij de conclusie dat er nog veel fundamenteel werk nodig is voor een goede schatting van de CNT-blootstelling op de werkvloer. Daarnaast is er ook nog maar weinig bekend over de mogelijke gezondheidseffecten van CNT's. Er bestaan veel verschillende typen CNT's die uiteenlopen in vorm, grootte, chemische samenstelling en andere fysische en chemische karakteristieken. Dit beperkt het inzicht in de mogelijke gevaren van CNT's. Proefdierstudies toonden dat blootstelling aan sommige typen CNT's kan leiden tot ontstekingsreacties en fibrose in de longen. Ondanks dat er nog geen gegevens beschikbaar zijn over gezondheidseffecten bij mensen, zijn de resultaten uit deze proefdieronderzoeken voldoende aanleiding om de blootstelling aan CNT's bij werknemers te minimaliseren. De hoogste veiligheidsmaatregelen zijn nodig totdat er meer bekend is over de gezondheidsrisico's.

## ***Werk in copyshop leidt tot luchtwegontstekingen***

In een [studie](#) van de Universiteit van Massachusetts-Lowell in de VS werden gezonde vrijwilligers blootgesteld aan (nano)deeltjes, vooral afkomstig uit kopieerapparaten. De blootstelling vond plaats door gedurende één werkdag in een copyshop te verblijven. Voorafgaand en na afloop van de blootstelling werd een neusspoeling uitgevoerd en is urine afgegeven. In de neusholte kan een significante hoeveelheid van nanodeeltjes terecht komen en een neusspoeling is een weinig belastende methode om veranderingen in de luchtwegen te meten. De onderzoekers analyseerden de neusspoelingen op de aanwezigheid van ontstekingscellen, en eiwitten die het immuunsysteem reguleren. In urine bepaalden zij 8-hydroxydeoxyguanosine, een marker voor oxidatieve schade aan DNA, wat ontstaat als het normale afweersysteem niet meer toereikend is. Ter controle verbleven dezelfde vrijwilligers ook een werkdag op een kantoor zonder printers of kopieerapparaten. De bovengenoemde metingen werden driemaal herhaald in beide situaties.

Het aantal nanodeeltjes was in de copyshop vijf maal hoger dan op het kantoor zonder kopieerapparaten. De deeltjes bestonden voor de helft uit koolstofverbindingen en voor de helft uit anorganisch materiaal zoals metalen. De deeltjesgrootte had een piek bij 30-40 nanometer. Er was geen verschil in de luchtconcentraties van ozon, vluchtige organische stoffen, koolmonoxide en kooldioxide. Het percentage ontstekingscellen nam toe van 15% vóór blootstelling in de copyshop tot 40% direct erna. Het daalde naar 29%, respectievelijk 23%, de ochtend en avond erna in 'schone' lucht. De marker voor oxidatieve DNA-schade in urine verdubbelde gedurende blootstelling en bleef de dag erna verhoogd. Eiwitten die het immuunsysteem reguleren, waaronder IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 en TNF- $\alpha$ , waren verhoogd ten opzichte van de kantooromgeving.

*KIR/RIVM-overweging:* Kortdurend verblijf in een copyshop leidt tot blootstelling aan hogere concentraties nanodeeltjes ten opzichte van een omgeving zonder printers en copyers. Dit kan leiden tot luchtwegontstekingen. Deze ontstekingsreacties zijn na ongeveer 24 uur weer verdwenen en ook de schade aan het DNA is meestal omkeerbaar. Het lijkt daarom onwaarschijnlijk dat deze kortdurende blootstelling tot blijvende nadelige gezondheidseffecten leidt. Onbekend is nog wat de gevolgen zijn van langdurige blootstelling (werknemers) en in welke mate bijvoorbeeld mensen met luchtwegziekten, zoals astma, hier wel meer hinder van ondervinden. De representativiteit van de onderzochte Amerikaanse copyshop voor Nederlandse situaties is niet bekend. Afzuiging en ventilatie zijn verplichte maatregelen in Nederland die de blootstelling aanzienlijk verminderen en sowieso leiden tot een beter binnenmilieu. [Duits onderzoek](#) met laboratoriumratten toonde aan dat er geen effecten optreden onder concentraties van 4 milligram/m<sup>3</sup> deeltjes in lucht (90 dagen blootstelling). Deze grens zal normaal gesproken niet worden bereikt in een Nederlandse copyshop. Door de innovaties in nanotechnologie zal de samenstelling van de toners echter voortdurend veranderen. Meer kennis is nodig over zowel de mate van toxiciteit van verschillende toners bij inademing als de mate van blootstelling in de Nederlandse copyshops en kantoren. Alleen dan is een goede risicoschatting voor de gezondheid mogelijk. Vooralsnog lijken maatregelen om de blootstelling te beperken belangrijk met goede afzuiging en ventilatie, -zoals nu al wordt voorgeschreven. Dit onderzoek toont verder aan dat het mogelijk is om met een vrij simpele, weinig invasieve techniek, acute effecten te meten bij een kleine groep proefpersonen na een kortdurende, realistische blootstellingsperiode.

## ***Lab-on-a-chip: micro laboratorium, macro mogelijkheden***

Lab-on-a-chip (LOC) is een technologie waarmee processen met vloeistoffen worden uitgevoerd op miniaturformaat. Bij de LOC-technologie wordt gebruik gemaakt van het wetenschappelijke vakgebied 'microfluidica' waarvan de ontwikkeling overeenkomsten vertoont met die van computers en micro-elektronica.

De derde bijeenkomst van het Nationaal Platform Nanomedicine (28 november 2013) was voor een belangrijk deel gewijd aan LOC. De focus lag enerzijds bij de klinische toepassing van LOC en anderzijds bij LOC-technologie als alternatief voor dierproeven en het testen van geneesmiddelen en andere chemische stoffen.

De klinische diagnostiek maakt al gebruik van LOC's voor point-of-care testen in, bijvoorbeeld, huisartsenpraktijk of ziekenhuisafdeling. Hetzelfde geldt voor zelf-testen, bijvoorbeeld het bepalen van het gehalte van bloedglucose door diabetespatiënten. Naar verwachting zijn er de komende jaren verdere innovatieve ontwikkelingen en producten. Het gebruik van LOC's past in de huidige trend van meer zelfredzaamheid in de gezondheidszorg. Daarnaast dragen LOC's bij aan de ontwikkeling van behandelingsvormen die meer gericht zijn op de individuele patiënt. Het RIVM bracht hierover recent een [rapport](#) uit. Onderzoekers van de TU Twente proberen de kostenscenario's en de effecten van diagnostische testen in kaart te brengen. Het is belangrijk om het kostenaspect al vroeg in de ontwikkeling van een diagnostische test mee te nemen, des te eerder kan het besluit vallen of de technologie ook economisch haalbaar is. Het is echter lastig, vooral aan het begin van de ontwikkeling, omdat toepassing bij patiënten en de daarbij gepaard gaande kosten nog onbekend zijn. LOC-technologie is ook inzetbaar bij het testen van geneesmiddelen en andere chemische stoffen. Er kunnen bijvoorbeeld systemen worden gebouwd om snel veel kandidaat-geneesmiddelen te testen op geschiktheid voor verder onderzoek, de zogenaamde 'high-throughput screening'. De farmaceutische industrie is hierin zeer geïnteresseerd, en in Nederland werken diverse universiteiten en bedrijven aan onderzoek en ontwikkeling hiervan.

Een belangrijke doorontwikkeling van LOC is de zogenaamde 'organ-on-a-chip'. Dit zijn modellen van weefsels of organen die zijn opgebouwd uit levende cellen. Medisch onderzoekers kunnen hier vervolgens ook diverse ziektebeelden mee simuleren (ziektemodel). Organs-on-a-chip maken het binnen niet al te lange tijd mogelijk om ziektes op een gecontroleerde manier te bestuderen. Ze kunnen daarmee de ontwikkeling van nieuwe therapieën en medicijnen enorm versnellen. Daarbij kunnen ze de diermodellen vervangen die hier nu vaak voor worden gebruikt. Bovendien kunnen deze systemen ook worden toegepast voor onderzoeken naar de toxiciteit van geneesmiddelen en andere chemische stoffen. Dergelijke systemen kunnen op termijn mogelijk als alternatief dienen voor diertesten, en dus bijdragen aan het terugdringen van proefdiergebruik. Nederlandse wetenschappers hebben zich inmiddels verenigd in een [consortium](#) om dit vakgebied verder te ontwikkelen. Een belangrijke aanzet hiervoor is gegeven door de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW). Binnen het KNAW project [Organen op Chips](#) zijn inmiddels verschillende pilot projecten gestart. KIR/RIVM-overweging: LOC-technologie wordt al toegepast in de medische wereld en zal naar verwachting de komende jaren snel verder worden ontwikkeld. De technologie biedt kansen voor verdere innovaties. De miniaturisatie leidt niet alleen tot een snellere diagnostiek dicht bij de patiënt, maar kan ook kosten besparen. Deskundig en veilig gebruik van LOC's binnen de klinische diagnostiek door niet-professionele gebruikers verdient hierbij aandacht. Combinatie van LOC-technologie met levende cellen om organs-on-a-chip te ontwikkelen is een zeer veelbelovend vakgebied. Dit biedt grote mogelijkheden voor de vervanging van proefdieren bij ziektemodellen en toxiciteitstesten van geneesmiddelen en andere chemische stoffen. Een voordeel hiervan boven andere, statische *in vitro* testsystemen is dat er dynamische modellen kunnen worden gebouwd. Hiermee wordt de *in vivo* situatie beter benaderd, bijvoorbeeld door stromend bloed te gebruiken in een model voor een bloedvat. Een dynamische model maakt zo de extrapolatiestap van *in vitro* naar *in vivo* naar verwachting kleiner, en verkleint daarmee de onzekerheden.

## *Nanogeneesmiddelen tegen Alzheimer en kanker*

In juni 2013 vond het internationaal congres “[Nanoparticles and Nanotechnologies in Medicine 2013](#)” plaats in Milaan. Onderzoekers presenteerden diverse aspecten en toepassingen van nanotechnologie als geneesmiddelen. Accenten lagen bij het ontwikkelen en maken van nanogeneesmiddelen, en de veiligheidsbeoordeling van deze nieuwe, veelbelovende categorie geneesmiddelen. De algemene stelling was dat het ontwikkelen van nanogeneesmiddelen een multidisciplinaire aangelegenheid is. In juni 2013 vond het internationaal congres “[Nanoparticles and Nanotechnologies in Medicine 2013](#)” plaats in Milaan. Onderzoekers presenteerden diverse aspecten en toepassingen van nanotechnologie als geneesmiddelen. Accenten lagen bij het ontwikkelen en maken van nanogeneesmiddelen, en de veiligheidsbeoordeling van deze nieuwe, veelbelovende categorie geneesmiddelen. De algemene stelling was dat het ontwikkelen van nanogeneesmiddelen een multidisciplinaire aangelegenheid is. Via zogenaamde functionalisatie van het oppervlak van de nanodeeltjes wordt met name gewerkt aan ‘drug targeting’ en ‘drug delivery’. De eiwitcoating op het oppervlak van een nanodeeltje als nanogeneesmiddel is van grote invloed op het biologische gedrag van nanodeeltjes in het lichaam. Zorgvuldige controle van het productieproces en de oppervlakte-eigenschappen van een nanogeneesmiddel zijn dan ook essentieel.

Tijdens het congres ging veel aandacht uit naar de behandeling van de ziekte van Alzheimer met nanogeneesmiddelen. Thans gebruikte geneesmiddelen zijn de acetylcholinesteraseremmers<sup>1</sup> en de NMDA-antagonist memantine<sup>2</sup>. Andere therapieën geven nog wisselende resultaten. Onderzoek naar specifieke biologische markers heeft laten zien dat het mogelijk moet zijn om al in een vroeg stadium te interfereren met de ontwikkeling van ziekte van Alzheimer. Binnen het EU project ‘Nanoparticles for Therapy and Diagnosis of Alzheimer Disease’ zijn nanogeneesmiddelen ontwikkeld die in staat bleken om specifiek te binden aan het eiwit beta-amyloid dat stapelt in de hersenen bij Alzheimerpatiënten. Preklinisch onderzoek in diermodellen toonde de binding van de functionele nanogeneesmiddelen aan het beta-amyloid aan. Ook bleek dat passage van het nanogeneesmiddel door de bloed-hersenbarrière mogelijk is. Deze functionele nanogeneesmiddelen verlagen de hoeveelheid beta-amyloid en het aantal plaques<sup>3</sup> in de hersenen, en gaven een verbetering in de cognitieve functies in het diermodel. Het bleek mogelijk om in bloed de hoeveelheid beta-amyloid te verlagen. Vooral in de vroege ziektestadia kan dit een belangrijk middel zijn om de progressie van Alzheimer te vertragen en misschien zelfs te stoppen. Vroege diagnose van het preklinische stadium op basis van biologische markers is essentieel om deze mogelijkheid van therapie te laten slagen. Klinisch onderzoek is daarna nodig om aan te tonen of deze remming ook in patiënten plaatsvindt.

Andere wetenschappers spraken in Milaan over de inzet van nanogeneesmiddelen tegen kanker. Warmtetherapie in combinatie met ijzer-nanodeeltjes lijkt een succesvolle manier om tumoren te behandelen. De temperatuur van de ijzerdeeltjes wordt lokaal verhoogd via een magnetisch veld waarna celdood optreedt. Hierbij is de lokalisatie van de ijzerdeeltjes in de te behandelen tumor essentieel. Deze therapie via intratumorale toediening wordt verder onderzocht voor de behandeling van hersentumoren. De verwachtingen zijn ook hoog gespannen voor diverse nanomaterialen als dragersysteem (‘drug delivery’) bij de behandeling van kanker. Liposomen worden al toegepast in de kliniek voor het verpakken van cytostatica<sup>4</sup> om zo de toxiciteit van de geneesmiddelen te verminderen. De aanwezige onderzoekers en artsen toonden ook grote interesse voor de talloze toepassingen van nanomaterialen in de medische technologie. Synthetische polymeren op basis van koolstof lijken veelbelovend als afbreekbare, biocompatibele en regeneratieve materialen voor medische hulpmiddelen. Ook vindt fascinerende research plaats naar diverse nanomaterialen als geneesmiddel in de zogenaamde ‘drug eluting stents’. Het nanomateriaal moet celgroei en obstructie van de bloedvaten voorkomen na het plaatsen van een stent in een vernauwd bloedvat.

---

<sup>1</sup> Acetylcholine is een stof die zorgt voor signaaloverdracht tussen zenuwen en spieren. Deze stof wordt afgebroken door acetylcholinesterase om overstimulatie van de spier te voorkomen.

<sup>2</sup> NMDA staat voor de signaalstof “N-Methyl-D-Aspartaat”. De antagonist memantine remt de activatie van de receptor door NMDA en hierdoor wordt de prikkeling van de hersenen en hersenactiviteit onderdrukt.

<sup>3</sup> Plaques zijn opeenhopingen van afwijkende eiwitten (beta-amyloid) in de hersenen van Alzheimer patiënten.

<sup>4</sup> Cytostatica zijn geneesmiddelen die gebruikt worden bij de behandeling van kanker en gericht zijn op het stoppen van de celdeling.

KIR/RIVM-overweging:

Dit congres laat zien dat er een aantal veelbelovende ontwikkelingen nanogeneesmiddelen min of meer gereed zijn om in de kliniek bij de mens toe te passen. Dit brengt de behandeling van sommige moeilijk te behandelen ziekten zoals Alzheimer dichterbij. Het RIVM vindt het nog wel een aandachtspunt hoe de veiligheid van dit soort nieuwe nanogeneesmiddelen bepaald moet worden. Zeker voor nanogeneesmiddelen is hier nog nader onderzoek voor nodig. Bij de gepresenteerde nanogeneesmiddelen is nog zowel pre-klinisch als klinisch veiligheidsonderzoek nodig, voordat deze middelen als geneesmiddel op de markt verschijnen.

## Nanodeeltjes in bodem

Bijna al het onderzoek naar het gedrag en de effecten van nanodeeltjes in het milieu, richt zich op het compartiment water. Feit is dat de meeste nanodeeltjes uiteindelijk in bodems en in sedimenten terecht zullen komen. Tot op heden is dit een sterk onderbelicht onderzoeksveld.

Eind oktober 2013 rondde Pauline Waalewijn-Kool (VU-Amsterdam) haar [promotieonderzoek](#) af naar de effecten van zinkoxide-nanodeeltjes op de springstaart *Folsomia candida*. Dit bodemorganisme is een veelgebruikt bodemproefdier. Waalewijn-Kool onderzocht verschillende aspecten van de toxiciteit van zinkoxide-nanodeeltjes:

- de stabiliteit van de nanodeeltjes en het effect van het aanbrengen van een coating op die stabiliteit. Het bleek dat de deeltjes binnen enkele maanden uit de bodem verdwenen waren door omzetting in zinkionen. Coaten van de deeltjes vertraagde dit proces aanzienlijk: met coating waren de deeltjes na meer dan een jaar nog in de bodem aanwezig, wel in lagere concentraties.
- het gedrag van de deeltjes in de bodem, en dan vooral de verdeling tussen de vaste bodemfase en het poriewater. Het onderzoek leverde op dit onderdeel onverklaarbare resultaten op: poriewatergehaltes namen eerst toe en later weer af. Het was niet mogelijk om enige lijn in deze resultaten te ontdekken. Hierdoor waren de onderzoekers niet in staat om de feitelijke blootstelling van de organismen te kwantificeren.
- de rol van de samenstelling van de bodem, inclusief de verblijftijd van de nanodeeltjes, op de toxiciteit van de deeltjes. Opvallend was dat de toetsen nauwelijks reproduceerbaar waren. In nagenoeg alle gevallen werd niet voldaan aan de basiscriteria die gelden voor standaard bodemtesten. Het leek er verder op dat de meeste effecten te verklaren waren aan de hand van de gehalten aan gevormde zinkionen. De onderzoekers vonden geen duidelijke relatie tussen verblijf en de gevonden toxiciteitsprofielen. De invloed van de samenstelling van de bodem op de toxiciteit was eveneens niet duidelijk.

*KIR-overweging:* Bodems zijn een belangrijke ‘sink’ voor nanodeeltjes en het is dus essentieel om te weten hoe nanodeeltjes zich in de (water)bodem gedragen en welke effecten op het bodemleven te verwachten zijn. De gegevens over de toxiciteit van nanodeeltjes voor bodemorganismen en processen, zoals bijvoorbeeld humusafbraak, zijn nog steeds uiterst schaars. Dit komt onder meer doordat het nog niet of nauwelijks mogelijk is om nanodeeltjes in bodem te analyseren en om het gedrag van de deeltjes experimenteel of modelmatig vast te stellen. Het onderzoek van Waalewijn-Kool laat zien dat het nodig is om de standaard testprotocollen ([OECD](#), [ISO](#)) voor het testen van stoffen in bodem, aan te passen voor nanodeeltjes. De focus moet daarbij vooral zijn op het vaststellen van het deeltjesgedrag in de bodem en op de reproduceerbaarheid van de toetsen. Zelfs de combinatie van een relatief eenvoudig nanodeeltje, zoals zinkoxide, met een veel-getest organisme, zoals de springstaart, levert voorlopig nog meer vragen dan antwoorden op.



## ***Aanbeveling definitie nanomaterialen werpt vruchten af.***

Voor een adequate regelgeving voor nanomaterialen is het essentieel dat er een eenduidige definitie bestaat. De Europese Commissie heeft hiervoor in oktober 2011 een eerste aanzet gedaan met de publicatie van de [Aanbeveling inzake de definitie van nanomateriaal](#). In 2012 verscheen de herziening van de wetgeving voor biociden ([Verordening \(EU\) nr. 528/2012](#)), waarin een definitie voor nanomaterialen werd opgenomen die grotendeels overeenkwam met de aanbeveling:

*„nanomateriaal”: een natuurlijke of geproduceerde werkzame stof die uit deeltjes bestaat, hetzij in ongebonden toestand of als een aggregaat of agglomeraat en waarvan minstens 50 % van de deeltjes in de gekwantificeerde grootteverdeling een of meer externe dimensies bezitten binnen het bereik van 1 nm tot 100 nm; Fullerenen, grafeenvlokken en enkelwandige koolstofnanobuizen met één of meer externe dimensies beneden 1 nm worden als nanomaterialen beschouwd. Voor de toepassing van de definitie van nanomateriaal, „deeltje”, „agglomeraat” en „aggregaat” gelden de volgende definities: „deeltje”: een miniem stukje materiaal met afgebakende fysieke grenzen; „agglomeraat”: een verzameling los met elkaar verbonden deeltjes of aggregaten waarvan de totale externe oppervlakte gelijk is aan de som van de oppervlakten van de individuele componenten; „aggregaat”: een deeltje dat uit sterk verbonden of gefuseerde deeltjes bestaat.*

De publicatie van de Aanbeveling gaf ook aanleiding om bestaande definities in wetgeving voor cosmetica ([Verordening \(EG\) nr. 1223/2009](#)) en voedsel etikettering ([Verordening \(EU\) nr. 1169/2011](#)) te herzien en dus werden hernieuwde discussies gestart.

Voor de voedsel etikettering resulteerde dit in een vergelijkbare definitie als die in de biocidenverordening, maar wordt deze ingeperkt tot alleen de technisch vervaardigde materialen ([Gedelegeerde Verordening \(EU\) Nr. 1363/2013](#)): *“technisch vervaardigd nanomateriaal”: elk doelbewust geproduceerd materiaal dat uit deeltjes bestaat, hetzij in ongebonden toestand of als een aggregaat of agglomeraat en waarvan minstens 50 % van de deeltjes in de gekwantificeerde grootteverdeling een of meer externe dimensies bezitten binnen het bereik van 1 nm tot 100 nm.* Ook hier worden fullerenen, grafeenvlokken en enkelwandige koolstofnanobuizen specifiek benoemd en deeltje, agglomeraat en aggregaat gedefinieerd. Daarnaast wordt *“doelbewust geproduceerd”* gedefinieerd als *“het materiaal is geproduceerd om een specifieke functie te vervullen of een specifiek doel te verwezenlijken.”* Op verzoek van Frankrijk en ondersteund door andere lidstaten, is de periode waarin door lidstaten bezwaar kan worden gemaakt op deze verordening verlengd met 2 maanden tot 12 april 2014.

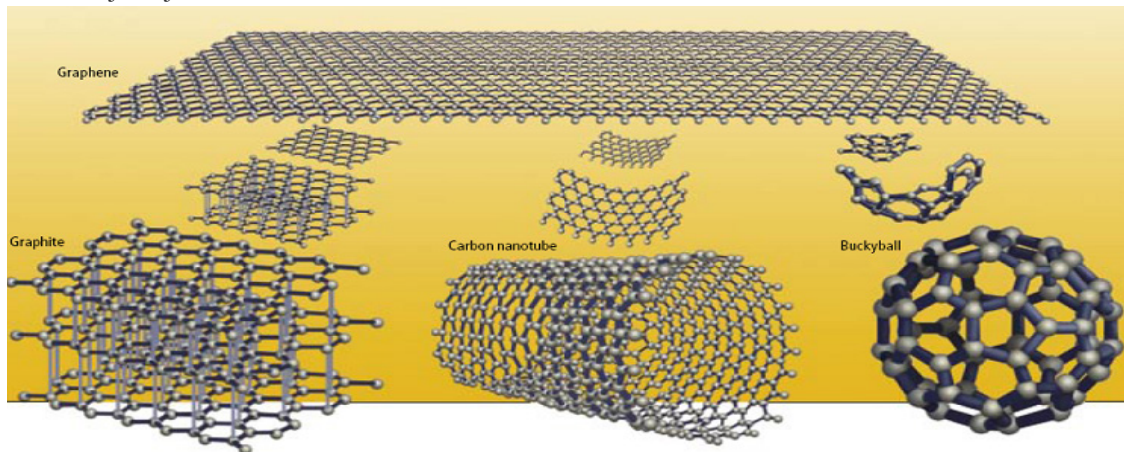
Voor cosmetica zijn de discussies nog niet afgerond. De verwachting is dat de definitie in deze wetgeving op een vergelijkbare wijze wordt aangepast, mogelijk inclusief de inperking tot *“technisch vervaardigd nanomateriaal”*, en ook met behoud van de eerdere inperking tot onoplosbaar en biopersistent materiaal.

***RIVM/KIR-overweging:*** Zo'n twee jaar na zijn verschijnen, lijkt de 'Aanbeveling' inderdaad te leiden tot harmonisatie van de definitie van een nanomateriaal in Europese wetgeving. Dat is positief, maar enkele kanttekeningen zijn nodig. Om te voorkomen dat een materiaal in het ene wetgevingskader als nanomateriaal wordt gedefinieerd en in het andere kader niet, vindt het RIVM dat een definitie uitsluitend moet dienen om nanomaterialen als zodanig te identificeren. Dit onafhankelijk van het doel van identificatie, zoals bijvoorbeeld risicobeheersing. Vervolgens kunnen dan, indien nodig, verdere eisen worden gesteld in de betreffende wetgeving om mogelijke risico's voor mens en milieu uit te sluiten. Het gaat hierbij, bijvoorbeeld, om het vaststellen of een deeltje persistent of onoplosbaar is. Een ander aandachtspunt gaat over de oorsprong van het nanomateriaal. Het inperken tot 'technisch vervaardigd nanomateriaal' is vanuit risicoperspectief niet verdedigbaar. De eigenschappen van een bepaald deeltje zijn niet afhankelijk van de oorsprong, dus technisch vervaardigd of natuurlijk. Het onderscheid gaat ongetwijfeld leiden tot discussies of een materiaal al dan niet doelbewust is geproduceerd. Dit kan grote invloed hebben op de uitvoerbaarheid van de wetgeving. De verlenging van de bezwaarperiode geeft de lidstaten de mogelijkheid om de definitie in de Foodstuffs Working Party te bespreken. De tijd zal leren of deze definitie in de voedingswetgeving van kracht zal worden en wat dan de uitwerking in de praktijk zal zijn. De discussies in cosmetica- en voedingskaders wijzen er echter wel op dat implementatie van de definitie en daarmee ook het (verder) geschikt maken van Europese regelgeving voor nanomaterialen plaatsvindt. Wel blijft het een langzaam proces, waardoor diverse onzekerheden over het (veilig) omgaan met nanomaterialen voorlopig nog blijven bestaan.

## Grafeen: de feiten op een rij

Grafeen is een vlakke monolaag van koolstofatomen stevig verpakt in een tweedimensionaal honingraatrooster, en is een elementaire bouwsteen voor koolstofachtige materialen van alle andere dimensies. Het kan worden ingepakt tot bolvormige structuren (fullerenen), worden opgerold tot koolstofnanobuisjes of worden gestapeld. De belangrijkste eigenschappen van grafeen zijn dat het een heel sterk materiaal is (harder dan diamant), goed warmte en elektriciteit kan geleiden, sterk lichtabsorberend is, impermeabel, transparant, en duurzaam is, en een beperkt gewicht heeft.

Grafeen kan ook nog worden gefunctionaliseerd waarbij onder andere grafeenoxide en grafeen-metaalhybride materialen ontstaan. Grafeen is zowel biopersistent als hydrofoob, waardoor ophoping in vetweefsel goed mogelijk is. Ondank de fysische afmetingen kunnen grafeendeeltjes in lucht blijven zweven en door dit aerodynamische gedrag ook de diepere luchtwegen en de longblaasjes bereiken alsof het hele kleine nanodeeltjes zijn.



Verschijningsvormen van koolstof ([www.kennislink.nl/publicaties/grafeen-meet-weerstand](http://www.kennislink.nl/publicaties/grafeen-meet-weerstand)).

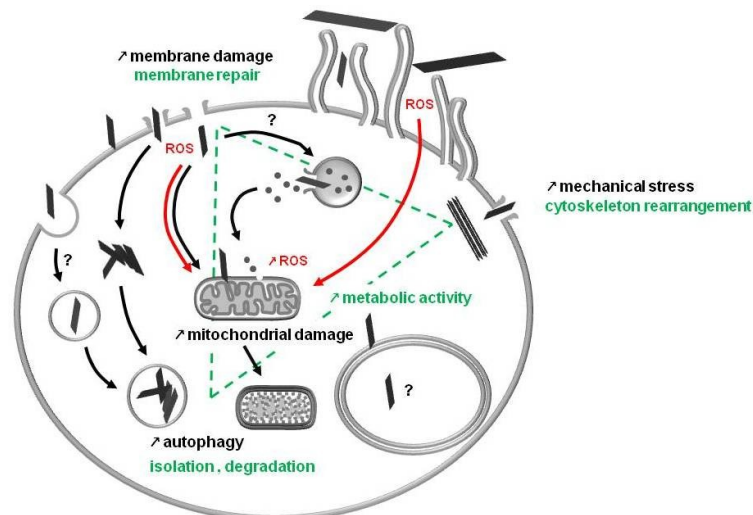
Sinds [Andre Geim](#) hiervoor de Nobelprijs kreeg, staat grafeenonderzoek definitief op de kaart. Het tijdschrift Human and Ecological Risk Assessment publiceerde onlangs een [overzicht](#) van de milieu- en gezondheidsrisico's van grafeen. De auteurs kwamen niet verder dan vijf studies wat in schril contrast staat met het grote aantal publicaties over kansen en mogelijkheden van 'wonderkoolstof'. Een aantal wetenschappers merkt de scherpe randen (vorm) van grafeen aan als de belangrijkste veroorzaker van onder meer schade aan celmembranen. Deze randen zorgen namelijk voor de vorming van hydroxyl-radicalen en daarmee wordt een verband gelegd met oxidatieve stress. Oxidatieve stress treedt op wanneer het lichaam (lokaal) onvoldoende anti-oxidanten heeft om reactieve zuurstofdeeltjes weg te vangen. Oxidatieve stress kan, bijvoorbeeld, tot ontstekingen en schade aan het DNA leiden. Onlangs toonden onderzoekers [Ma-Hock en collega's](#) aan dat grafeen longontsteking bij laboratoriumratten kan veroorzaken. Dit is waarschijnlijk de eerste inhalatiestudie met grafeen. De onderzoekers vergeleken grafeen met vier andere koolstofnanomaterialen tijdens een periode van vijf dagen en bij dezelfde doseringen. Na blootstelling en drie weken herstel, bestudeerden zij de effecten op het gehele ademhalingsstelsel, inclusief het tellen van ontstekingscellen. Dit zijn cellen die stofdeeltjes in de longen opruimen (macrofagen) en een belangrijke rol spelen in het immuunsysteem. Zowel grafeen als meerwandige koolstofnanobuisen (multi-walled carbon nanotubes: MWCNTs) veroorzaakten ontstekingen in de longen. De reacties op MWCNTs waren sterk, terwijl blootstelling aan grafiet en "carbon black" niet leidde tot enig waarneembaar nadelig effect. De macrofagen van ratten die aan MWCNT of grafeen waren blootgesteld waren sterk gevuld met dit koolstofmateriaal. Dit gold niet bij de aan grafiet en carbon black blootgestelde dieren. De onderzoekers konden geen verband leggen met, bijvoorbeeld, het totale oppervlakte of de dichtheid van de deeltjes of dikte van een cluster van de nanomaterialen.

Het exacte mechanisme achter de waargenomen effecten van MWCNTs en grafeen bij ratten is nog niet bekend. "De giftigheid bij inademen van de onderzochte koolstofgebaseerde materialen is

waarschijnlijk het gevolg van een complexe interactie van verschillende parameters", zo concluderen de onderzoekers. Daarmee zijn de gezondheidseffecten voor de mens nog lastig te voorspellen. Nog recenter is [een onderzoek](#) waarbij de opname en de toxiciteit van grafeenoxide (GO) en gecarboxyleerd grafeen (CXYG) in levercellen zijn onderzocht. De onderzoekers stelden vast dat beide vormen in gelijke mate door het celmembraan heen gaan, en dat ze vervolgens in de cel door lysosomen worden omhuld. Dit proces was dosis- en tijdsafhankelijk en trad op bij relatief lage concentraties (< 1,2 picogram/cm<sup>2</sup> celoppervlak). Dit is een nadelig cellulair proces, maar de onderzoekers wijzen nadrukkelijk ook op mogelijkheden voor biomedische toepassingen. Verder vonden [Li en co-onderzoekers](#) dat de toxiciteit van grafeen sterk afneemt wanneer zij het oppervlak behandelen met het in het bloed aanwezige albumine of het synthetische polyethyleen glycol (PEG). Bijkomend nadeel is dat grafeen zelf in het lichaam weer minder snel wordt afgebroken door enzymen. Dit kan dan weer worden ondervangen door PEG via zwavelbruggen te koppelen aan grafeen.

Grafeen laat zich waarschijnlijk niet gemakkelijk verwijderen uit het lichaam en afhankelijk van de mate van blootstelling is er een redelijke kans dat grafeen zich gaat ophopen in het lichaam. Een stevige wetenschappelijk onderbouwing hiervan ontbreekt vooralsnog. Er zijn slechts beperkte toxicologische gegevens beschikbaar waaruit blijkt dat grafeen zich ophoopt in organen als longen, lever, milt en nier.

**RIVM/KIR overweging:** Productie van grafeen vindt in Nederland nog veelal op experimentele basis plaats. Gezien het tempo waarmee grafeen verder wordt ontwikkeld en de ogenschijnlijk oneindige (ook medische) toepassingsmogelijkheden is het belangrijk de ontwikkeling van dit nanomateriaal goed te volgen. Volgens producenten wordt grafeen vooral in vloeistoffen verwerkt en is de kans gering dat er sprake is van blootstelling via de lucht. Er is echter nog zeer weinig bekend over mogelijke blootstelling van de mens aan grafeen. Hoewel acute effecten wellicht niet waarschijnlijk zijn, lijkt het er wel op dat bepaalde vormen van grafeen na opname moeilijk uit het lichaam verdwijnen. Dit kan leiden tot gezondheidseffecten op langere termijn. Voor het ontwikkelen van veilige vormen van grafeen is meer kennis nodig van de fysisch-chemische eigenschappen die de toxiciteit bepalen. Wel wordt al technologische vooruitgang geboekt om de zogenaamde biocompatibiliteit van grafeen en de biomedische toepassingsmogelijkheden te vergroten. Ter illustratie: grafeen lijkt in geoxideerde vorm een [antimicrobiële werking](#) te hebben tegen multi-resistente bacteriën en schimmels.



**Hypothetische model** van grafeen internalisatie en cytotoxiciteit. De plaatjes grafeen dringen door het plasmamembraan in het cytosol, en zijn dan geconcentreerd en ingekapseld in intracellulaire blaasjes. Cellen reageren met de vorming van bouwstenen die het plasmamembraan mechanisch versterken waardoor herstelmechanismen in gang worden gezet. Deze processen gaan gepaard met een toename van de metabole activiteit, verhoogde intracellulaire reactieve zuurstofdeeltjes, verstoring van mitochondriale structuur en functie, en een uitgebreid aantal autofagosomen (blaasjes die cel inhoud omsluiten en verteren).

## *Nanomaterialen veranderen tijdens de levenscyclus, hun gezondheidsrisico's veranderen mee*

Nanodeeltjes kunnen tijdens de verschillende fasen van de levenscyclus veranderen in fysisch - chemische eigenschappen. Zo kunnen ze een andere vorm krijgen, kunnen de oppervlakte-eigenschappen veranderen en kunnen aggregaten/agglomeraten ontstaan. Deze veranderingen hebben veelal invloed op de blootstelling en de toxiciteit en dus op de gezondheidkundige risico's van de nanodeeltjes. Er vindt wereldwijd veel onderzoek plaats naar deze mogelijke verandering van gezondheidsrisico's aangezien we (nog) niet weten welke eigenschappen van een deeltje er allemaal toe doen. [Onderzoekers in Canada](#) hebben aangetoond dat de grootte van agglomeraten in ingeademde lucht van invloed is op het soort gezondheidseffect dat daardoor kan optreden. Zo kunnen kleinere ingeademde agglomeraten celdood veroorzaken en kunnen grotere agglomeraten leiden tot ontstekingsreacties. De grootte van agglomeraten bepaalt tevens waar en in welke mate de deeltjes in de longen terechtkomen. Naast het eigenlijke nanodeeltje speelt dus ook mogelijke agglomeratie een belangrijke rol bij de risico's op gezondheidseffecten.

Tijdens het [Nanosafety-congres](#) in Saarbrücken (november 2013) presenteerden wetenschappers diverse onderzoeksresultaten en conclusies over de relatie tussen eigenschappen van nanodeeltjes en hun risico's. Zo is het belangrijk om factoren die de risico's van nanomaterialen bepalen ook te meten in verschillende stadia van de levenscyclus. Op die manier kunnen ze ook worden meegenomen bij het beoordelen van mogelijke gezondheidsrisico's. Deeltjesgrootte, oppervlakte-eigenschappen en aggregaatvorming lijken belangrijke parameters te zijn.

Een belangrijk signaal daarbij is dat nanodeeltjes ook kunnen veranderen als gevolg van verschillende monsternames en behandelingsmethoden tijdens het meten. Ook in het lichaam zelf kan een 'gedaanteverwisseling' van het deeltje optreden door interactie met lichaamsvloeistoffen na opname door, bijvoorbeeld, inademen of via de huid. De analyse van deze bepalende eigenschappen in verschillende levensstadia is nog complex en duur. Huidige meetmethoden zijn wel in ontwikkeling om deze factoren ook daadwerkelijk goed te kunnen bepalen.

Tijdens een [recente workshop](#) van het RIVM, in samenwerking met NanoNextNL, kwam de huidige stand van zaken rondom bestaande meetmethoden aan de orde. Ontwikkelaars van meetmethoden en de feitelijke eindgebruikers van deze methoden (industrie, overheid en wetenschap) concludeerden dat er weliswaar diverse meetmethoden op de markt zijn om nanodeeltjes te karakteriseren, maar dat dit niet dekkend is voor de vragen vanuit onderzoek naar gezondheidsrisico's. Wel kunnen combinaties van verschillende meetmethoden al meer informatie opleveren voor de beoordeling van gezondheidsrisico's.

RIVM/KIR overweging: Het is niet mogelijk om, in het kader van veiligheid, te spreken over hét risico van een nanodeeltje. De eigenschappen van een nanodeeltje kunnen namelijk aanzienlijk variëren tijdens productie en gebruik. Om vervolgens de risico's in de verschillende fasen van de levenscyclus te kunnen beoordelen moet je weten welke eigenschappen van een nanodeeltje van invloed zijn op de toxiciteit. Met de gedaanteverwisseling van een deeltje kan immers ook de toxiciteit veranderen. Daarnaast zijn ook methoden nodig om dit vervolgens betrouwbaar te kunnen meten. Betrouwbaar, goedkoop en breed toegankelijke meetmethoden zijn vooralsnog een uitdaging, maar betere analysetechnieken zijn wel in ontwikkeling. Het RIVM volgt nauwlettend de ontwikkelingen op dit gebied. Samenwerking en kennisuitwisseling tussen ontwikkelaars van meetmethoden en de gebruikers daarvan, inclusief risicobeoordelaars, is daarbij van groot belang.

## ***3D-printing: een nieuwe dimensie***

3D-printing is een verzamelnaam voor innovatieve technieken die de laatste jaren een sterke groei vertonen. Geprinte objecten vinden hun weg in mode, architectuur en speelgoed, maar ook in de kunst. Reserve-onderdelen voor allerhande apparaten komen tegenwoordig uit de printer en zelfs complete huizen verschijnen. Artsen gebruiken 3D-toepassingen al in protheses en implantaten, en het printen van medicijnen is in ontwikkeling. Een [medische primeur](#) was de pasgeborene baby die kon worden gered dankzij een [3D-geprinte spalk](#) voor de luchtwegen. Het lichaam nam de functie van de spalk, gemaakt van biologisch afbreekbaar materiaal, na afbraak over.

De maatschappij zal echter ook vragen gaan stellen over hoe veilig het gebruik van zo'n printer en zijn producten is. Er is, bijvoorbeeld, bekend dat dit soort printers (nano)deeltjes uitstoten. Vraag is vervolgens waar te beginnen met het reguleren van de veiligheid: bij de grondstoffen/materialen of de uiteindelijke producten, de software, het ontwerp, de printers of het printproces zelf, of een combinatie van voornoemde zaken? Aandacht hiervoor is nodig om te voorkomen dat aspecten van 3D-printing tussen de verschillende wetgevingskaders vallen, of zelfs erbuiten ([EU NET-werkgroep/eindrapportage](#)).

De effecten van 3D-printing voor de maatschappij kunnen groot zijn: een 'disruptive technology'. Denk hierbij aan een toename van lokale productie, waardoor transport afneemt met positieve gevolgen voor het klimaat. Ook het printen van reserve-onderdelen draagt bij aan duurzaamheid, want gebruiksvoorwerpen zullen langer meegaan. Het printen van vlees is natuurlijk helemaal een revolutie in het kader van duurzaamheid. 3D-printing zal naar verwachting een plek krijgen naast de reguliere massaproductie. Ook de economische impact kan groot zijn. Wie verdient er eigenlijk nog aan als ontwerpen op internet circuleren en lokaal worden geprint? Er zullen nieuwe businessmodellen komen, waarin maatwerk het sleutelwoord is.

Naast bovengenoemde veiligheidsvragen zullen ook ethische kwesties de kop opsteken: krijgt iedereen op verzoek een nieuw orgaan uitgeprint? Hoe gaan we om met hersenweefsel en andere onderdelen waarmee we gaan 'sleutelen aan de mens'?

*KIR/RIVM-overweging:* Het RIVM zal de impact van 3D-printing in 2014 verkennen. Aspecten als veiligheid, duurzaamheid, ethiek en wetgeving komen aan bod. Eén specifiek aspect is in 2013 al door het [NKCA/RIVM](#) beschreven, namelijk het effect op het gebruik van dierproeven. In combinatie met andere innovatieve technieken en ontwikkelingen, zoals organ-on-a-chip, tissue engineering, synthetische biologie en stamcellen, kan 3D-printing significant bijdragen aan het terugdringen van het aantal dierproeven. Zo kunnen, bijvoorbeeld, geprinte organen-op-een-chip worden ingezet bij de verplichte giftigheids- en werkzaamheidstesten van medicijnen. Nu gebeurt dit nog hoofdzakelijk met proefdieren, maar 3D-technologie helpt mee om het tij te keren.