Ontwikkeling van nieuwe onderzoeksmodellen voor ziekte en behandeling

Miniorganen op chips

BIOWETENSCHAPPEN EN MAATSCHAPPIJ KWARTAAL 3 2020

Cahier 3 | 2020 | 39e jaargang

Miniorganen op chips

Dit cahier is een uitgave van Stichting Biowetenschappen en Maatschappij (BWM) en verschijnt vier maal per jaar. Elk nummer is geheel gewijd aan een thema uit de levenswetenschappen, speciaal met het oog op de maatschappelijke gevolgen ervan.

Stichting BWM is ondergebracht bij ZonMw.

BESTUUR
Dr. J.J.E. van Everdingen (voorzitter)
Prof. dr. J.W.F. Reumer (penningmeester)
Dr. L.H.K. Defize
Prof. dr. E. van Donk
Dr. R.H.J. Erkens
Prof. dr. W.A. van Gool
Prof. dr. ir. F.P.M. Govers
Dr. R. Grootens-Wiegers
Prof. dr. B.C.J. Hamel
Prof. dr. C.L. Mummery
Dr. J.E. van Steenbergen

RAAD VAN ADVIES
Prof. dr. J. van den Broek
Prof. dr. J. van Dissel
Prof. dr. J.P.M. Geraedts
Prof. dr. W.P.M. Hoekstra
Prof. dr. J.A. Knottnerus
Prof. dr. E. Schroten

REDACTIE
Dr. Janny van den Eijnden-van Raaij
Dr. ir. Astrid van de Graaf
Ir. Berend van Meer
Prof. dr. Christine Mummery

BUREAU
Joy Kerklaan
Monique Verheij

BEELDREDACTIE
B en U international picture service, Amsterdam

INFOGRAPHICS
Prof. dr. Jos van den Broek

VORMGEVING
Studio Bassa, Culemborg

DRUK
Drukkerij Tesink, Zutphen

INFORMATIE, ABONNEMENTEN EN BESTELLEN LOSSE NUMMERS
Informatie, abonnementen en bestellen losse nummers
Stichting Biowetenschappen en Maatschappij
Laan van Nieuw Oost-Indië 334
2593 CE Den Haag
telefoon: 070-34 95 402
e-mail: info@biomaatschappij.nl
www.biomaatschappij.nl

© Stichting BWM
ISBN/EAN 978-90-73196-99-5
Stichting BWM heeft zich ingespannen om alle rechthebbenden van de illustraties in deze uitgave te achterhalen. Mocht u desondanks menen rechten te kunnen laten gelden, dan verzoeken wij u vriendelijk om contact met ons op te nemen.

FSC
www.fsc.org
MIX
Papier van verantwoorde herkomst
FSC® C021660

bio wetenschap+ maatschappij

Inhoud

Voorwoord 3
Inleiding 4

1 Waarom veel medicijnen niet werken 9

Gebrek aan precisie 9
Wat zijn de huidige testmodellen? 11
Waarom voldoen deze testmodellen niet? 14
KADER Levensgevaarlijke medicijnen 15
Alternatieve modellen 16
KADER Hoe een klinische test fout kon aflopen 17
Wat is de ideale proefmens? 18

2 Wat zijn organen-op-chips? 21

Hoe werkt een lichaam en hoe boots je het na? 21
KADER Het eerste orgaan-op-een-chip: de long 23
Wat is een orgaan-op-een-chip? 24
KADER Een mengpot van disciplines 26
Waar komen de cellen vandaan? 28
KADER Wat zijn geschikte materialen voor de chips? 30
Hoe maak je een chip die op een lichaam lijkt? 31
KADER Zelforganisatie of sturing? 34
Hoe weet je wat er gebeurt in een chip? 35
KADER Organen-op-chips, wat kunnen ze en wat (nog) niet 37
Wat is de impact op de zorg en de economie? 38

3 Waar kun je organen-op-chips voor gebruiken? 41

Van kinderschoenen tot zevenmijlslaarzen 41
KADER Toepassing van orgaan-op-een-chipmodellen in de farmaceutische industrie voor medicijnontwikkeling. 43
KADER Hoe groei je een minihart-op-een-chip? 44
Bloedvaten-op-een-chip 45
KADER Borstkanker-op-een-chip 46
Hart-op-een-chip 47
KADER Spier-op-een-chip 50
Darm-op-een-chip 51
KADER Genetische diversiteit 54
Lever-op-een-chip 55
Hersenen-op-een-chip 57
KADER Netvlies-op-een-chip 59
Modellen voor virusinfecties 60
Regeneratieve biomaterialen testen-op-een-chip 61
Kunnen hersenen-op-een-chip iets voelen? En (van) wie zijn ze eigenlijk? 65

4 Kunnen organen-op-chips proefdieren vervangen? 67

Dieren of geen dieren: hoe verder naar een meer humane geneeskunde? 67

KADER Huid-op-een-chip 70

De zoektocht naar alternatieven 71

KADER Beter dan de gouden standaard 72

KADER Proefdiervrij astmaonderzoek 74

Waarom er soms toch proefdieren nodig zijn 76

5 Uitdagingen en belemmeringen, hoe nu verder? 79

Routekaart voor Europa 79

Kwalificatie, overal hetzelfde resultaat 82

Standaardisatie en open technologie-platformen 84

Opschalen, van model naar fabriek 85

Het internationaal perspectief 88

Zijn er juridische belemmeringen om de modellen te gebruiken? 91

Epiloog: jouw lichaam-op-een-chip 93

Meer informatie 96

Auteurs 97

Illustratieverantwoording 100

Voorwoord

Precies tien jaar geleden spraken wij elkaar bij een vergadering van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW). De één expert in stamcelbiologie, de ander hardcore micro-nanotechnoloog. Al discussiërend over elkaars werk, kwamen we erachter dat de combinatie van de beste cellen en de mooiste technologie fantastische kansen zou bieden om organen-op-chips te maken. Ons enthousiasme resulteerde onder meer in 1 van de 49 vragen in de Nationale Wetenschapsagenda: *Kunnen we organen-op-chips bouwen?*, en in een brede nationale samenwerking door de oprichting van het Institute for human Organ and Disease Model Technologies (hDMT), het Orgaan-op-Chip consortium in Nederland, om dit soort organen-op-chips daadwerkelijk te gaan maken.

In hDMT werken praktisch alle Nederlandse universiteiten, medische onderzoekscentra en een aantal bedrijven op een unieke manier samen om dit soort testsystemen te ontwikkelen. We hebben samen met andere onderzoekers binnen hDMT de afgelopen jaren een aantal grote gezamenlijke onderzoeksprojecten weten op te starten. Eén daarvan is een groot meerjarenprogramma met een nationale beurs van NWO om met organen-op-chiptechnologie nieuwe humane ziektemodellen te maken voor darm, hart en hersenen. Daarnaast is de eerste internationale conferentie op dit gebied georganiseerd en ook de European Organ-on-Chip Society (EUROoCS) opgericht.

Inmiddels zijn veel studenten bekend met deze ontwikkeling en zeer gemotiveerd om aan dit onderwerp te werken, mede omdat met organen-op-chips een deel van de honderdduizenden dierproeven per jaar kan worden voorkomen. Wij vinden het belangrijk dat meer mensen bekend raken met dit onderwerp en goed geïnformeerd zijn over deze veelbelovende technologie. En hoe deze veelbelovende technologie, waarin Nederland wereldwijd tot de top behoort, het leven van ons allemaal gaat beïnvloeden.

In dit cahier hebben wij bijdragen van vele Nederlandse toponderzoekers op het gebied van organen-op-chips gebundeld tot een mooi overzicht van de huidige stand van het onderzoek.

Veel leesplezier!

Christine Mummery en Albert van den Berg, respectievelijk stamcelbioloog en micro-nanotechnoloog.

Inleiding

De laatste jaren wordt er veel over organen-op-chips gesproken, maar wat zijn dat eigenlijk? Natuurlijk zijn dat geen hele organen zoals die in ons lichaam voorkomen; een heel hart, long of lever passen niet op een chip. Maar het zijn wel stukjes orgaanweefsel die een essentiële functie van het orgaan vervullen op zeer kleine schaal. Denk aan stukjes hartspiercellen die echt kloppen, of longblaasjes die ook echt uitzetten en inkrimpen om de ademhaling te simuleren. Hiermee zijn op microschaal experimenten uit te voeren die de realiteit zo natuurgetrouw mogelijk nabootsen, en die veel realistischer zijn dan wat er tot nu toe in het laboratorium gebruikt werd: de oude vertrouwde petrischaal!

Een belangrijke reden waarom organen-op-chips ontwikkeld worden, is dat er grote behoefte is aan goede testmodellen. Na hart- en vaatziekten en kanker zijn onbedoelde effecten van medicijnen een van de meest voorkomende doodsoorzaken. Dat kan komen door verkeerd gebruik maar ook in veel gevallen door gevaarlijke bijwerkingen voor de patiënt.

Medicijnen worden meestal ontwikkeld om de 'gemiddelde patiënt' – een witte man van jeugdige tot middelbare leeftijd – te behandelen en worden bijna nooit 'op maat' gemaakt of toegepast. Zo wees een studie onlangs uit dat de tien meest verkochte medicijnen in de Verenigde Staten maar voor gemiddeld 15% van de hele populatie effectief waren: weggegooid geld zou je toch zeggen?

Organen-op-chips geven de mogelijkheid om vooraf te testen of een medicijn voor een bepaalde patiëntgroep – of zelfs in de toekomst één specifieke patiënt – het juiste is, en dat geeft een enorme efficiëntieverbetering.

Waarom hebben we organen-op-chips nodig?

Grofweg kun je zeggen dat er voor organen-op-chips drie belangrijke redenen zijn:

- Medicijnontwikkeling: kandidaatmedicijnen kunnen met organen-op-chips snel getest worden op menselijke cellen waardoor er een grotere kans is dat ze beter zullen werken.
- Medicijnen op maat: organen-op-chips gemaakt van cellen van een patiënt geven heel gerichte informatie over het juiste medicijn voor die betreffende patiënt en kunnen een indicatie geven voor de juiste dosering.
- Onderzoek naar ziekten: door 'zieke' organen-op-chips te maken is het mogelijk om veel te leren over ziektemechanismen als basis voor mogelijke therapieën.

Een mooi voorbeeld van het laatste is een studie naar aderverkalking. Deze verouderingsziekte leidt vaak tot trombose (bloedklontering) wat erg gevaarlijk is en bijvoorbeeld beroertes kan geven. Met een verkalkt bloedvat-op-een-chip is deze bloedklontering nagebootst en zijn antitrombose-medicijnen uitgetest. Dit alles op-een-chip en niet in een patiënt of proefdier! Ook wordt er nu voor de long-, hart- en bloedvat-op-een-chipmodellen bekeken of ze geschikt zijn om nieuwe behandelingen voor Covid-19-patiënten in de intensive care uit te testen.

Tijdens medicijnontwikkeling wordt niet alleen gekeken of een medicijn werkt maar ook of het

De 'gemiddelde patiënt' is vaak een witte man van jeugdige tot middelbare leeftijd. Herkent u zich daarin?

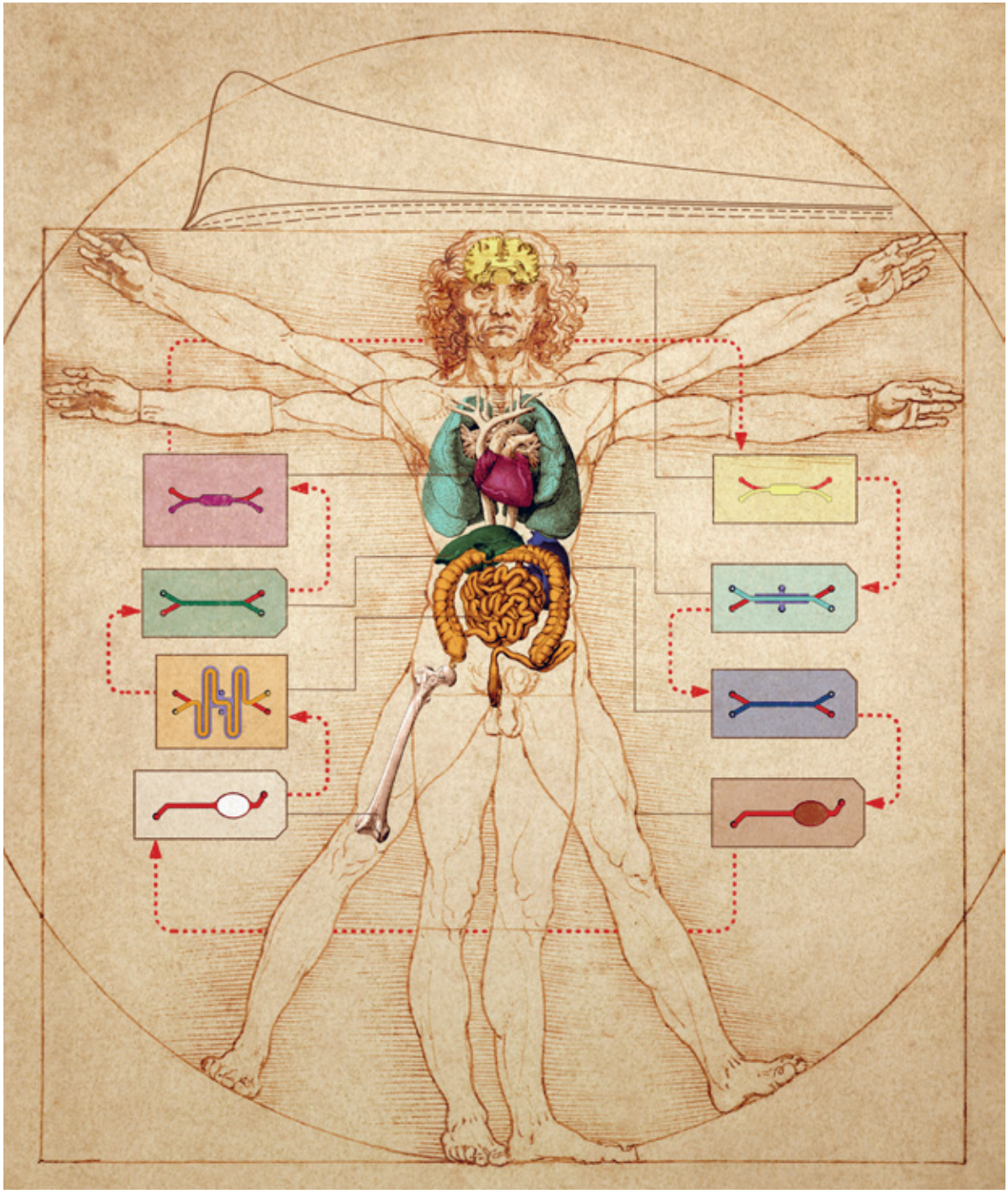
misschien vervelende – of zelfs levensbedreigende – bijwerkingen heeft. Een belangrijke bijwerking om nieuwe medicijnen op te testen is het veroorzaken van een onregelmatigheid in het hartritme (arrhythmia) dat kan leiden tot een plotselinge hartstilstand. Deze risico's voor het menselijk hart zijn echter heel goed te voorspellen met onderzoek aan hartcellen-op-een-chip, die gemaakt zijn uit menselijke stamcellen. Ook voor Covid-19 zijn een aantal mogelijke medicijnen in ontwikkeling zoals antivirale middelen die een bijwerking op het hart kunnen hebben, vooral in combinatie met andere behandelingen. Hart-op-een-chip kan helpen die bijwerkingen op te sporen.

Symbiose

Het interessante van dit vakgebied is dat een combinatie van micro-nanotechnologie en celbiologie nodig is. Celbiologie is essentieel omdat celtypen gekweekt moeten worden, en een van de meest veelbelovende hierbij is de zogenaamde stamcel. Stamceltechnologie maakt het mogelijk om een paar huidcellen van een individu om te zetten in stamcellen. Stamcellen kunnen veranderen (differentiëren) in elk celtype van dat individu met behoud van de genetische eigenschappen. Daarnaast moet op microschaal de driedimensionale structuur, omgeving en vloeistofstromen heel precies gecontroleerd kunnen worden, en daarvoor zijn micro-, nano- en sensortechnologie essentieel. Sensoren zijn nodig om te meten wat er allemaal gebeurt met de cellen op de chip.

In het lichaam zijn alle organen met elkaar verbonden via het bloedvatsysteem. Niet voor niks

Schematische weergave van hoe miniorganen-op-chips aan elkaar gekoppeld kunnen worden tot een lichaam-op-een-chip.



is daar ongeveer 60.000 kilometer van aangelegd. Iedere cel bevindt zich dichtbij een bloedvat om toegang te hebben tot voedingstoffen en zuurstof, en ook om afvalproducten zoals kooldioxide af te voeren. Maar het is meer dan een transportsysteem. Via de bloedvaten vindt er een continue dialoog plaats tussen organen, die elkaar van voedingstoffen voorzien of stoffen juist omzetten in een vorm die het lichaam kan gebruiken. Het omzetten van stoffen wordt metaboliseren genoemd en vindt vooral plaats in de lever.

De lever kan niet alleen nuttige producten leveren voor het lichaam maar het kan ook giftige stoffen, zoals alcohol, afbreken. Dat geldt ook voor medicijnen. De lever kan een medicijn afbreken waardoor het zijn werking verliest, of omzetten in een product waardoor het toxisch is. Bij een medicijntest met een specifiek orgaan-op-een-chip is het soms belangrijk om ook een minilever-op-een-chip erbij te hebben, ofwel twee organen-op-chips aan elkaar.

Dat kan nog een stap verder: een medicijn komt binnen via de darm, huid of long, gaat naar de bloedbaan, reist via de lever naar het orgaan waar het voor bedoeld is, en uiteindelijk komt het via de nier en urine naar buiten. Als we het hele traject dat een medicijn aflegt, willen bestuderen in een chipsysteem, moeten meerdere organen-op-chips met elkaar verbonden worden. In de Verenigde Staten is het onlangs gelukt om dit soort complexe organen-op-chipssystemen te maken en acht verschillende organen-op-chips aan elkaar te koppelen. De eerste stappen richting een heel lichaam-op-een-chip?

Bonus: minder dierproeven

Dierproeven zullen voorlopig zeer waarschijnlijk nodig blijven in de biomedische wetenschap maar een goed *credo* is: *"Zoveel als nodig, zo weinig als mogelijk."* Menselijke organen-op-chips kunnen bijdragen aan het verminderen van het gebruik van proefdieren en het verbeteren van onderzoek, want diermodellen zijn niet altijd ideaal in het voorspellen hoe een bepaalde ziekte zich uit bij mensen of hoe mensen gaan reageren op bepaalde medicijnen. Hoewel er een lange weg te gaan is voordat de regelgevende instanties vinden dat er voldoende bewijs is om proefdieren te vervangen, kunnen menselijke orgaan-op-een-chipmodellen al heel goed bijdragen aan het medicijnontwikkelingsproces. Vooral door vroeg in het proces aan te geven welke medicijnen een risico vormen en welke medicijnen het meest effectief zullen zijn.

Een muis zit anatomisch, metabolisch en cellulair vaak anders in elkaar dan de mens. Daarom zijn de resultaten van dierproeven niet altijd goed te vertalen naar de mens.

1

Waarom veel medicijnen niet werken

PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY EN IR. BEREND VAN MEER

Voor de ontwikkeling van medicijnen worden nu vooral cellen, weefsels en proefdieren gebruikt. Hetzelfde geldt voor het onderzoek naar het ontstaan van ziekten. Het probleem is dat de resultaten vaak niet goed te vertalen zijn naar de mens, dat een vele malen complexer systeem is. Een mens is niet altijd een goed model voor de patiënt. Vaak worden voor medische studies nog steeds gezonde mannen geselecteerd, geen vrouwen, ouderen of kinderen. Onderzoekers kijken daarom naar alternatieven, zoals organen-op-chips.

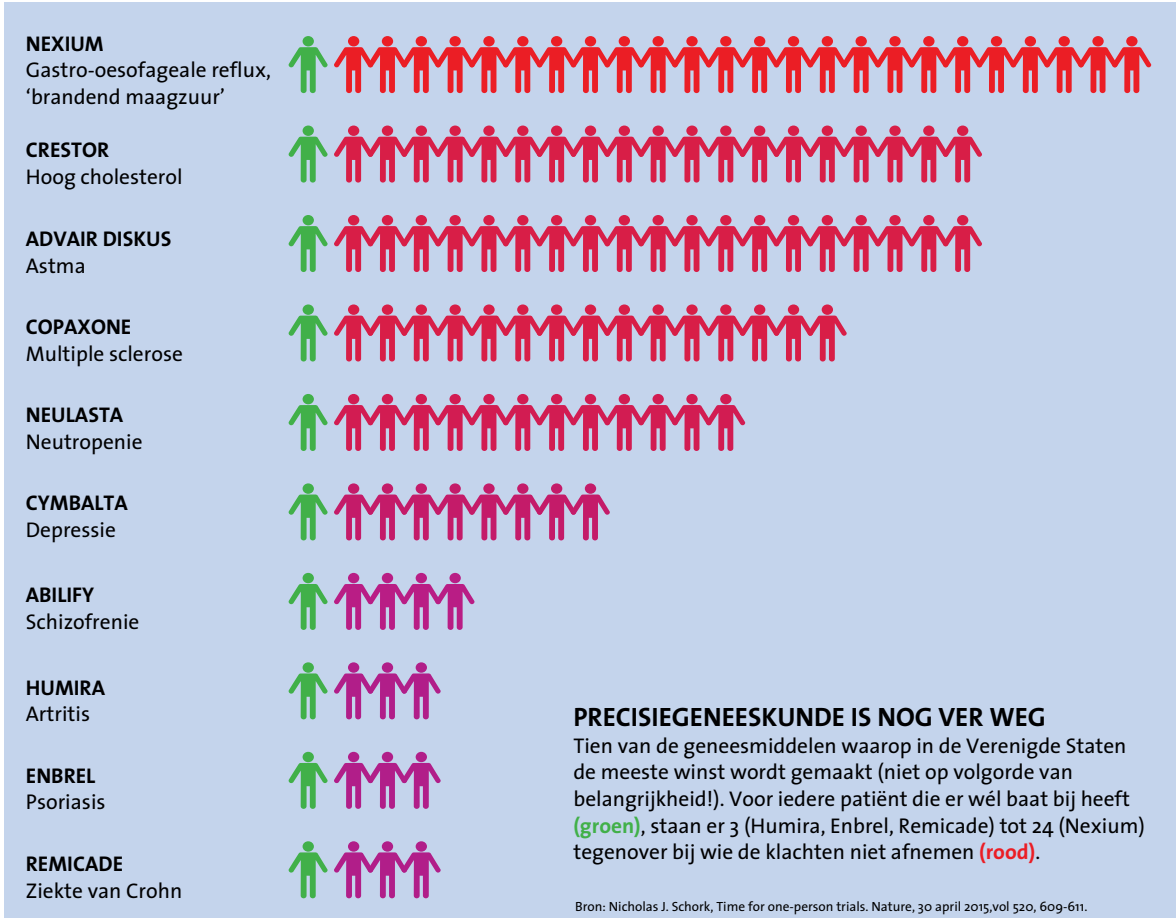
Gebrek aan precisie

ELKE DAG gebruiken miljoenen mensen wereldwijd medicijnen die hen niet beter zullen maken. Van de top tien meest winstgevende medicijnen voor de farmaceutische industrie in de Verenigde Staten hebben, in het gunstigste geval, 1 op de 4 personen baat bij de voorgeschreven behandeling. In het slechtste geval 1 op 25. Dit is een enorme verspilling van middelen voor de gezondheidszorg. Bovendien blijven veel patiënten achter zonder effect van de behandeling, terwijl ze wel last kunnen hebben van de bijwerkingen. Daar komt nog bij dat sommige medicijnen zelfs heel schadelijk kunnen zijn voor vrouwen of bepaalde etnische groepen doordat de medische studies voornamelijk met Westerse witte mannen als proefpersoon zijn gedaan.

Individuele variatie

Het fundamentele probleem is dat er een gebrek aan precisie is bij het voorschrijven van een medicijn aan de individuele patiënt. Dit komt omdat onderzoeksmodellen die worden gebruikt om de werking en veiligheid van geneesmiddelen te testen, geen rekening houden met de individuele variatie. In de praktijk schrijven artsen vaak een medicijn voor – bijvoorbeeld voor het verlagen van de bloeddruk – en kijken ze of het aanslaat. Als er na een paar weken geen verbetering wordt gezien, schrijft de arts een ander medicijn voor.

Twintig jaar geleden dacht men nog dat zodra het volledige DNA-profiel van de mens in kaart was gebracht, het duidelijk zou worden waarom een bepaalde ziekte bij de ene patiënt anders tot uiting komt dan bij de andere, en waarom patiënten verschillend reageren op medicijnen. Hoewel er in



de DNA-profielen aanwijzingen gevonden waren voor mogelijke oorzaken, bleek het nog steeds niet mogelijk om de verschillen tussen patiënten volledig te verklaren.

Behandelingen afgestemd op het individu vereisen andere manieren om te testen of een medicijn werkt of niet. Er moet niet alleen rekening gehouden worden met genetische verschillen, maar ook met sekse, omgevingsfactoren, de conditie en het ‘geheugen’ van het afweersysteem, allergenen en andere medicijnen. Al deze factoren tezamen bepalen hoe een individu reageert op een medicijn voor de onderliggende ziekte. Het is dus eigenlijk geen wonder dat medicijnen niet bij alle patiënten werken. De vraag is: hoe lossen we dit op?

Beter biologisch inzicht

Inzicht in de werking van het menselijk lichaam en hoe dit reageert op een medicijn helpt ook bij het voorspellen van een patiënt-specifieke reactie. In medische studies worden echter uitsluitend de effectiviteit en veiligheid van nieuwe medicijnen getest. Voor het verkrijgen van biologische inzichten in de werking van medicijnen worden preklinische modellen gebruikt. Deze modellen zijn over het algemeen te simplistisch en gebaseerd op

dieren waardoor het niet mogelijk is volledig te begrijpen wat de werking van het medicijn in de mens is.

De vraag is of en hoe deze preklinische modellen kunnen worden vermenselijkt en zodanig kunnen worden verbeterd dat er rekening wordt gehouden met de conditie van de individuele patiënt en factoren zoals sekse en genetische samenstelling. Net zo belangrijk is de vraag wat deze menselijke modellen zouden moeten kunnen. Kunnen gezonde en zieke weefsels worden vergeleken? Hoe worden die verschillen gemeten? Zijn deze verschillen groot genoeg om aan te tonen dat nieuwe medicijnen daadwerkelijk effect hebben? Kan de omgeving waar weefsels zich normaal gesproken in het lichaam bevinden, worden nagemaakt in deze modellen? Dit zou in principe vereisen dat de natuurlijke omgevingsfactoren worden nagebootst in het laboratorium: lokale druk (zoals in bloedvaten), rek en strek (zoals in spieren), periodieke contractie of peristaltiek (zoals in het hart en de darm, respectievelijk) en elektrische stimulatie (zoals in het hart en het brein). Nieuwe chiptechnologie voor het nabootsen van deze condities in combinatie met menselijke stamcellen voor specifieke weefsels – de ontwikkeling van organen-op-chips – zouden in de toekomst kunnen bijdragen aan behandeling op maat.

Wanneer cellen reageren op een stof, heet dit een 'hit'

Wat zijn de huidige testmodellen?

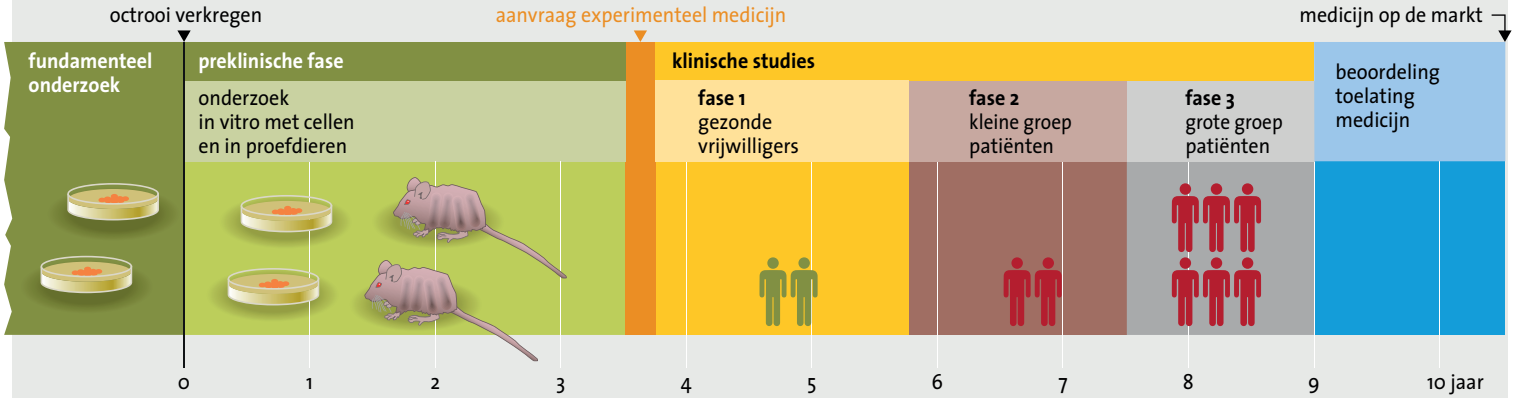
Wanneer farmaceutische bedrijven op zoek gaan naar nieuwe medicijnen, starten ze met het simpelste testsysteem waarin ze miljoenen verschillende stofjes uit hun stoffencollectie op de snelste en goedkoopste manier kunnen testen. Daarvoor moeten ze weten welke factoren in een lichaamscel betrokken zijn bij de ziekte in een patiënt. Dat soort informatie komt meestal vanuit universitaire laboratoria die fundamenteel onderzoek doen naar het ontstaan van een ziekte.

Een bekend voorbeeld is taaislijmziekte: deze ziekte wordt veroorzaakt door een defect in een gen (een stuk DNA dat codeert voor eiwitten) dat verantwoordelijk is voor het aanmaken van een specifiek ionenkanaal in lichaamscellen. Aangedane cellen kunnen daardoor water niet efficiënt genoeg transporteren. Hierdoor wordt slijm in bijvoorbeeld de longen en darmen zo stroperig dat die organen niet meer goed kunnen functioneren.

Cellen in een schaaltje

Om medicijnen te testen in een laboratorium wordt het kapotte stukje DNA ingebracht in een celtype dat gemakkelijk te kweken is: een zogeheten cellijn. Vervolgens kunnen vanuit deze cellijn vele miljoenen cellen met het DNA-defect gekweekt worden. Die cellen worden in afzonderlijke bakjes (96, 384 of maar liefst 1536 stuks) van een grote plastic petrischaal geplaatst. Robots voegen vervolgens de verschillende stofjes uit de enorme chemische stoffencollectie (kandidaatgeneesmiddelenbank) toe. Wanneer cellen reageren op een stof, heet dit een 'hit'. Met deze hits, die per ziekte in aantal kunnen variëren van 20 tot 100 stoffen, worden dan vervolgens meer testen gedaan die steeds complexer en duurder worden.

TRADITIONEEL ONTWIKKELINGSTRAJECT VAN EEN GENEESMIDDEL



doel van het onderzoek	**nieuwe/betere medicijnen vinden**	**veiligheid voor de mens testen**	**testen of het medicijn veilig is**	**testen of het medicijn werkt**	**testen wat de optimale dosis is**
gebruikt model	simpele cellijnen	dierproeven	gezonde vrijwilligers	patiënten	patiënten
aantal cellen	enkele cellen	miljarden cellen	biljoenen cellen		
aantal organen	van één orgaan	alle organen	alle organen		
biologische soort	menselijk	dierlijk (soms gehumaniseerd)	menselijk		
genetische variatie	geen variatie	geen variatie	10-300 verschillende personen, maar vaak uit slechts één etnische groep		
fysiologische omgeving	labmateriaal, gecontroleerd	dierlijk lichaam, ongecontroleerd	menselijk lichaam, ongecontroleerd		

© jos van den broek | stichting BWM, 2020

WENSEN VOOR VERBETERING VAN HET HUIDIGE TRAJECT

De ontwikkeling van een medicijn start in het laboratorium met een test van een verzameling mogelijke medicijnen op menselijke cellen die gekweekt worden in een petrischaal. Wanneer een aantal stoffen effectief lijken te werken, de potentiële medicijnen, worden die getest in een proefdier, meestal een muis. De laatste stap van het testproces betreft de mens zelf, waarbij drie fasen worden doorlopen (fase I-, II- en III-studies). Pas daarna is het medicijn klaar voor introductie in de markt.

Aan het einde van het traject blijven er misschien twee of drie stofjes, de potentiële medicijnen, over die effectief lijken te zijn in de lichaamscellen die aangedaan worden door de ziekte. Dit gebeurt allemaal in laboratoriumstudies, *in vitro*. *In vitro* betekent letterlijk 'in glas' omdat vroeger de petrischaaltjes van glas waren, tegenwoordig zijn ze van plastic.

Dierproeven

De volgende stap is om de stoffen te testen in dieren. Meestal is dit een muis met dezelfde of een vergelijkbare ziekte. Die ziekte is door onderzoekers gecreëerd door hetzelfde DNA-defect (of mutatie) in te brengen in de muis, zodat het ziektebeeld zoveel mogelijk lijkt op wat er in een patiënt gebeurt.

De gehele set aan dierproeven die de toezichthouders van de medicijnmarkt vereisen, duurt een aantal jaar: zij willen weten wat er gebeurt met het mogelijk nieuwe medicijn in het lichaam, waar het terechtkomt, hoe het medicijn het lichaam verlaat, wat het effect is op vitale organen zoals hart, lever en nieren, en wat het effect is op de voortplantingsorganen.

Klinische studies

Zodra de studies in muizen naar tevredenheid zijn afgerond, moet de farmaceut steeds duurdere medische onderzoeken doen: eerst met grotere dieren, dan voor het eerst in mensen – first-in-humanstudies – met gezonde jonge mannelijke vrijwilligers, gevolgd door fase I-studies (is het medicijn veilig en werkt het), fase II-studies (is het effectief in een kleine groep patiënten die niet weten of zij het medicijn of een placebo (nepmiddel) krijgen?) en tot slot fase III-studies (een dubbelblinde studie met placebocontroles, dat wil zeggen een groep patienten die een nepmiddel of -behandeling ontvangen) waarin honderden patiënten mee kunnen doen. Pas als die medische studies allemaal zijn afgerond, kan het bedrijf toestemming vragen aan de toezichthouders om het medicijn op de markt te brengen. In Europa is de toezichthouder de European Medicines Agency (EMA) en in de Verenigde Staten is dat de Food and Drug Administration (FDA).

Tegen de tijd dat toestemming wordt aangevraagd zijn de kosten voor de farmaceut flink opgelopen – schattingen lopen uiteen van 1 tot 3 miljard euro – en zijn er jaren verstreken. Zeker in de laatste fase is het een race tegen de klok voor een farmaceutisch bedrijf: wat zijn de concurrenten aan het doen en hebben zij eerder hun toestemming? Het patent voor het medicijn is dan al enkele jaren geleden ingediend. Zal het bedrijf wel genoeg omzet kunnen draaien om de investering terug te verdienen voordat het patent weer verloopt? Er zijn dus vele afwegingen, veelal van economische of commercieel-strategische aard, die bepalen of een medicijn in klinische studies getest gaat worden.

Het simpelste testsysteem is een petrischaal met gekweekte cellen.

Waarom voldoen deze testmodellen niet?

Tijdens het ontwikkelen van nieuwe medicijnen zijn verschillende momenten waarop het proces kan falen waardoor veel tijd en geld verloren gaat. Een belangrijke oorzaak van dit falen is dat de huidige modellen niet altijd in staat zijn om de complexiteit van patiënten, de menselijke biologie of variaties tussen bevolkingsgroepen te voorspellen.

Celkweken

Gekweekte cellen op een plastic ondergrond zijn relatief goedkope testmodellen die grootschalig kunnen worden ingezet. Maar vaak zijn deze testmodellen een te grote versimpeling van de werkelijkheid om veelbelovende medicijnen betrouwbaar te identificeren. Hoewel dit bewust wordt gedaan om de kosten zo laag mogelijk te houden in deze fase van medicijnontwikkeling, reduceert deze methode de complexiteit van een ziekte meestal tot een enkele keten van biologische stappen: een stukje van een metabole route of een signaalroute.

In de realiteit echter zijn veel ziekten een samenspel van meerdere routes, genen en aandoeningen waardoor een mogelijke hit in een test misschien helemaal geen positief resultaat geeft in een patiënt. Of erger nog, dat er een hit gemist wordt die juist een zeer veelbelovende kandidaat voor behandeling had kunnen zijn. Een hit die niet blijkt te werken, wordt er in de volgende onderzoeksfases van het proces wel uitgefilterd, maar een hit missen betekent het mogelijk missen van een succesvol medicijn.

Gekweekte cellen in plastic schaaltjes zijn een te grote versimpeling van de werkelijkheid

Proefdieren

Dieren gebruiken als model is kostbaarder en veel tijdrovender. En dierproeven hebben een duidelijk voorbehoud: ze geven niet goed de reactie van de mens op medicijnen weer omdat hun fysiologie en genetische achtergrond vaak significant verschillend is. Zo kunnen medicijnen heel goed werken in een muismodel met een ingeteelde genetische achtergrond, maar vervolgens niet in mensen. Verder is er soms een probleem met dierproeven als het menselijk gen niet in een muis voorkomt (zoals bij een bepaalde spierziekte) of als een ziekteverwekker voor de mens niet herkend wordt door het muizenlichaam. Het coronavirus, dat de ziekte Covid-19 veroorzaakt, komt een menselijke cel binnen via de zogenaamde ACE2-receptor (virusontvanger), maar de ACE2-receptor in muizen herkent het virus dat mensen ziek maakt helemaal niet. Cellen van muizen worden dus niet geïnfecteerd en zijn dus niet representatief voor wat er in de mens gebeurt.

Voor bepaald onderzoek zijn dieren wel zeer waardevolle modellen, zoals bij het bestuderen van kanker, neurobiologie, stralingseffecten en medicijnverspreiding in het lichaam. Maar voor hartonderzoek weer niet. Het hart van een muis bijvoorbeeld, klopt 500 keer per minuut terwijl het menselijk hart zo rond de 60 slagen per minuut maakt. Ook de fysiologie van het hart is heel verschillend en medicijnen die het hartritme in een mens beïnvloeden zijn vaak moeilijk te ontdekken via een muis.

Naast ethische bezwaren en de sterke wens vanuit de maatschappij om dierproeven te verminderen, zijn ook grotere dieren en zelfs primaten, die dichter bij de mens staan dan een muis, niet altijd het juiste onderzoeksmodel voor menselijke ziekten of medicijneffecten. Sterker nog, 90% van de veelbelovende medicijnen die na dierproeven voor het eerst getest worden in mensen faalt direct vanwege onverwachte bijwerkingen of omdat ze geen effect hebben.

Proefmensen

Zou dan het beste model van een mens een mens zijn? (zie ook Wat is de ideale proefmens?) In

Levensgevaarlijke medicijnen

IR. BEREND VAN MEER

Modellen die worden gebruikt in medicijnonderzoek voorspellen niet altijd even goed wat er in een mens gebeurt. Zo kan een medicijn niet blijken te werken of zelfs levensbedreigende bijwerkingen hebben, terwijl de aandoening om het medicijn in eerste instantie te slikken misschien niet eens levensbedreigend was. Een aantal bekende voorbeelden op een rij:

Softenon (thalidomide) – 1957
Softenon was een slaapmiddel en pijnstiller die populair was om ochtendmisselijkheid bij zwangere vrouwen te bestrijden. Helaas wist men niet dat dit middel ernstige afwijkingen bij ongeboren kinderen veroorzaakt. Vier op de tien baby's overleden en de overige kinderen hadden verkorting of afwezigheid van armen, benen, ogen en oren. Naar schatting zijn 100.000 baby's aangedaan door Softenon van wie vandaag de dag nog ongeveer 3.000 in leven zijn. Deze bijwerkingen waren gemist in het proefdieronderzoek omdat, in tegenstelling tot de mens, Softenon niet door de placenta van proefdieren heen kon. Het medicijn is sinds 1961 niet meer verkrijgbaar, behalve voor hele specifieke ziektegevallen of als variant voor de behandeling van bijzondere vormen van kanker en van lepra.

Prepulsid (cisapride) – 1988
Prepulsid werd met name gebruikt om nachtelijke maagzuurklachten te verminderen. Helaas veroorzaakte dit middel ook hartritmestoornissen, met dodelijke afloop. Wereldwijd zijn er 130 gevallen bekend. Het medicijn is sinds 2000 van de markt, en alleen beschikbaar voor hele specifieke ziektegevallen. Deze bijwerkingen waren niet gezien in het proefdieronderzoek op ratten, muizen en honden omdat het effect van het medicijn optreedt door interactie met een ionkanaal dat alleen voorkomt in mensen.

Vioxx (rofecoxib) – 1999
Vioxx, een pijnstiller bij artrose of menstruatie, werd door meer dan 84 miljoen mensen wereldwijd gebruikt. Hoewel populair en succesvol, bleek dat het bij langdurig gebruik gepaard ging met een verhoogde kans op hartinfarcten. In vijf jaar zou het tussen 88.000 en 140.000 levensbedreigende hart- en vaataandoeningen hebben veroorzaakt met een geschatte 27.285 doden als gevolg. Het medicijn is sinds 2004 van de markt.

BIA 10-2474 – 2016 (testfase)
Recent ging het mis bij het testen van het nieuwe medicijn BIA 10-2474, ontwikkeld om zenuwpijn tegen te gaan. Het experimentele medicijn werd in Frankrijk getest op gezonde proefpersonen totdat vijf van hen ernstige hersenklachten kregen en werden opgenomen in het ziekenhuis. Eén van hen overleed en het onderzoek werd stopgezet.

In alle bovenstaande gevallen dacht men op basis van de resultaten van dierproeven dat het veilig was om het middel aan patiënten toe te dienen. Helaas bleek dat in de praktijk anders uit te pakken. Het is niet gezegd dat proeven met menselijke organen-op-chips dit risico volledig kunnen afwenden. Wel is het belangrijk om medicijnen ook in menselijke modellen te testen omdat ze in een mens anders kunnen reageren dan in een dier. En dat kan levens redden.

Terwijl de claims tegen farmaceut Merck over zijn artritismedicijn Vioxx toenamen, adverteerden advocatenbureaus voor eisers in Texas met aanplakborden zoals hier op Highway 44.

principe wel, maar er kunnen enkel medicijnen in mensen worden getest waarvan men schat dat het risico voor de proefpersoon minimaal is. Dan nog is het erg moeilijk om dit zeker te weten (zie Levensgevaarlijke medicijnen). Mensen kunnen dan ook niet gevraagd worden voor grootschalige testen met vele stoffen. Bovendien zouden klinische studies, die representatief zijn voor de wereldwijde variatie in genetische achtergrond, leeftijd, sekse, omgevingsfactoren en dieet, zo grootschalig moeten worden opgezet dat dit praktisch onmogelijk is. Dus zelfs een mens is niet het perfecte model voor een (ander) mens.

Alternatieve modellen

Zijn er manieren om het proces van medicijnontwikkeling voorspelbaarder te maken? Ofwel zijn er alternatieven voor de huidige modellen? De belangrijkste kandidaten zijn in te delen in twee categorieën: in-silicomodellen en geavanceerde humane (stam) cel in-vitromodellen, waaronder organoïden en organen-op-chips.

In-silicomodellen

Rekenkundige modellen die gebruikt worden voor het beschrijven van biologische systemen en het voorspellen van medicijneffecten, worden in-silicomodellen genoemd. *In silico* betekent letterlijk 'van silicium', het materiaal waar computerchips van gemaakt worden. Deze modellen worden ontwikkeld op basis van data en inzichten uit laboratoriumstudies, medische studies en in sommige gevallen ook dierproeven.

De exponentiële toename van rekenkracht in de laatste jaren, heeft de mogelijkheden en toepassingen van deze systemen sterk verbeterd. Bioinformatici kunnen nu veel verschillende organen en orgaan-orgaaninteracties van het menselijk lichaam modelleren en kunnen vervolgens ook een groot aantal verschillende parameters variëren om snel te testen wat het effect is van verschillende omstandigheden. Hoewel in-silicomodellen veelbelovend en krachtig zijn, is het nadeel dat ze afhankelijk zijn van de bestaande kennis van de menselijke fysiologie – en die kennis is nog lang niet compleet.

Op basis van data en inzichten uit laboratoriumstudies en medische studies worden rekenkundige modellen opgesteld die biologische systemen kunnen beschrijven en medicijneffecten voorspellen.

In-vitromodellen

Menselijke cellen van biopten of chirurgisch restweefsel (primaire cellen) worden gebruikt om ziekten of medicijneffecten te bestuderen. Dit materiaal is maar beperkt beschikbaar. Daarom worden er menselijke (stam)cellen gemaakt, die als permanente bron dienen voor alternatieve modellen om medicijnontwikkeling te verbeteren. Aangezien de stamcelmodellen gemaakt kunnen worden voor verschillende etnische groepen en seksen (zie Waar komen de cellen vandaan?) kunnen deze modellen bijdragen aan gepersonaliseerde medicatie.

Uit de stamcellen kunnen tegenwoordig veel verschillende celtypen van het menselijk lichaam worden gemaakt (zie Hoe werkt een lichaam?). Aangezien deze cellen afkomstig zijn van mensen, lijkt hun fysiologie sterk op die in het menselijk lichaam. De condities waaronder de menselijke stamcellen gekweekt worden, zijn afhankelijk van de vraagstelling van de gebruiker. Soms is een tweedimensionale kweek, een laagje cellen in een petrischaal, voldoende om een laboratoriumproef te doen. Soms is het beter om ze in driedimensionale structuren te kweken, de zogeheten organoïden. En soms is het noodzakelijk om deze cellen te kweken onder omstandigheden die de dynamiek van het lichaam nabootsen, zoals in orgaan-op-een-chipsystemen. Deze organen-op-chips zijn de focus van dit cahier. In de volgende hoofdstukken wordt uitgelegd wat organen-op-chips precies zijn, hoe ze gebruikt kunnen worden en wat de nieuwste ontwikkelingen zijn.

Hoe een klinische test fout kon aflopen

PROF.DR. STEVEN KUSHNER

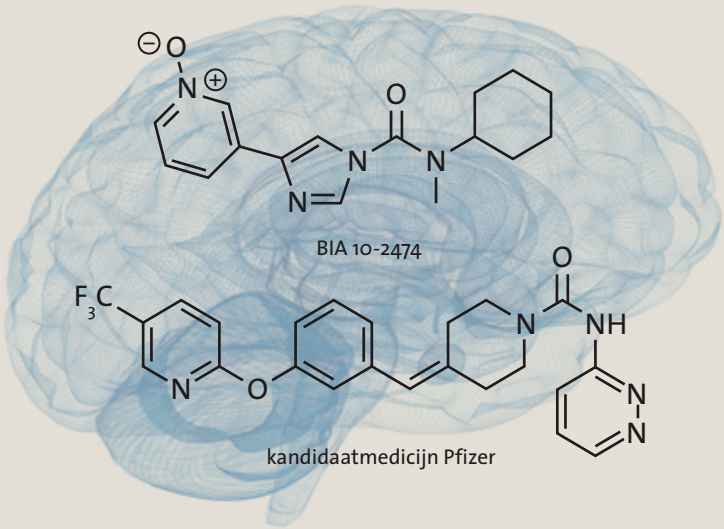
Het drama speelde zich af in het Franse Rennes in januari 2016. In opdracht van het Portugese farmaconcern Bial werd een experimenteel middel tegen chronische pijn, angst of symptomen van de ziekte van Parkinson, getest op gezonde vrijwilligers. Van de zes die de hoogste dosis kregen belandden er vijf in het ziekenhuis met ernstige neurologische klachten; één van hen overleefde het niet.

Had dit voorkomen kunnen worden?

Het geneesmiddel, bekend onder de code BIA 10-2474 (kort BIA), werd getest op veiligheid in een fase I-studie. BIA remt het enzym FAAH (*fatty acid amide hydrolase*) dat cannabis-achtige stoffen afbreekt die van nature in de hersenen aanwezig zijn, de endocannabinoïden. Andere farmaceutische bedrijven, met name Pfizer, hadden de ontwikkeling van hun FAAH-remmers (andere moleculen) op de lange baan geschoven. Voornamelijk vanwege teleurstellende onderzoeken naar de werkzaamheid tijdens late fase II studies. Met de veiligheid van FAAH-remmers was niets mis gebleken volgens grote klinische studies, ingediend bij de Amerikaanse Food and Drug Administration. De Franse autoriteiten vonden dan ook geen bewijs voor overtreding van de regels voor het uitvoeren van klinische proeven.

Wat ging er dan mis tijdens de BIA-studie?

Was misschien de fatale neurotoxiciteit van BIA niet het gevolg van zijn werking als FAAH-remmer, maar eerder van een nog onbekende (bij)werking (*off-target effect)* op andere kritische enzymen in de hersenen? Een team onder leiding van onderzoekers van de Universiteit Leiden en het Erasmus MC heeft dit uitgezocht. Ze gebruikten hiervoor een techniek die *activity-based protein profiling* wordt genoemd, waarmee ze de activiteit van BIA konden screenen op een grote groep enzymen in een menselijk hersen-op-een-chipmodel. Zo ontdekten ze dat BIA bij toediening van hogere concentraties de activiteit van verschillende hersenlipasen, enzymen die vetzuren afbreken, verstoorde. Dit betekent dat BIA de manier waarop hersencellen lipiden omzetten kan ontregelen, met alle gevolgen van dien. Hoe precies kon niet worden onderzocht omdat de monsters van de vrijwilligers van de Bial-studie niet beschikbaar waren. Het geneesmiddel dat door Pfizer was ontwikkeld en in grote klinische onderzoeken veilig was bevonden, werkte daarentegen niet op deze enzymen en alleen op FAAH.



De structuurformule van BIA 10-2474 en het kandidaatgeneesmiddel van Pfizer. Beide remmen het enzym FAAH, alleen BIA had een neurotoxisch effect op de hersenen van de mens.

Het is bekend dat de genoemde off-target effecten afhankelijk kunnen zijn van de (dier)soort. Dat zou kunnen verklaren waarom studies met ratten en muizen de neurotoxische effecten van BIA bij de mens niet konden identificeren. Als gevolg hiervan heeft het Europees Geneesmiddelenbureau nu strengere regels ontwikkeld voor *first-in-human*studies. Geneesmiddelenontwikkelaars moeten eerst met een nieuw medicijn uitgebreide preklinische tests uitvoeren, inclusief hoe het medicijn zich bindt aan het doelwit en of er off-target effecten zijn, bij voorkeur uitgevoerd in gevalideerde menselijke orgaan-op-chipmodellen, voordat de stap naar de mens wordt gemaakt.

Wat is de ideale proefmens?

PROF. DR. JOS VAN DER MEER

Dat we tegenwoordig miniorganen-op-chips kunnen maken, is de vervulling van een droom van generaties van wetenschappers werkzaam in de biologie, biochemie en geneeskunde. In 1907, meer dan een eeuw geleden, werd het startsein gegeven door de embryoloog Ross Granville Harrison met de eerste cel- en weefselkweken. De laatste jaren is er zeker ook dankzij Nederlands onderzoek een enorme vooruitgang geboekt. Door deze kweektechnieken is onze kennis van de biologie zeer sterk toegenomen en hebben we inmiddels ook nieuwe inzichten gekregen in ziekteprocessen bij de mens. Voorspellingen over het ziektebeloop verkregen in deze kweeksystemen worden langzamerhand ook belangrijk voor het vinden van behandelingen. Door stamcellen van zieke dieren en mensen op te kweken tot miniorganen komen we dichter bij behandelingen die toegesneden zijn op specifieke eigenschappen van de zieke: zogenoemde gepersonaliseerde en precisie geneeskunde.

Invloed van klimaat, voeding en gedrag

Ondanks perfectionering en verfijning van de technieken kunnen we echter niet zonder proefdier en proefmens. De samenstelling en de dynamiek van de fysiologische processen in dier en mens is zodanig ingewikkeld dat zelfs de meest geavanceerde kweeksystemen nog ver afstaan van het complete plaatje. De interacties tussen onze orgaansystemen en die met de bacteriën die ons bevolken, zijn zo complex, dat die niet geheel kunnen worden nagebootst. Waar we in de kweeksystemen wel vragen kunnen proberen te beantwoorden over de rol van het geslacht en bepaalde genetische achtergronden (en bijvoorbeeld van etniciteit), is het veel moeilijker, zo niet onmogelijk, om factoren als leefklimaat, leefstijl en invloed van voeding en gedrag in het onderzoek te betrekken. Dit soort invloeden wordt intensief onderzocht in wat tegenwoordig systeembiologie en systeemgeneeskunde heet.

Zoeken naar de doodsoorzaak

Wat de ideale proefmens is hangt af van de wetenschappelijke vraagstelling. Ongeveer drie eeuwen voor onze jaartelling begon men met lijkopeningen ofwel autopsieën. Autopsie komt van 'auto' en 'opsis', dat wil zeggen 'zelf zien'. Men wilde weten hoe de (normale) mens er van binnen uitzag. De Griekse arts Galenus (tweede eeuw na Christus) wilde weten wat de onderliggende oorzaak was van wat hij als dokter uitwendig bij zijn patiënten had waargenomen. Ook Morgagni, Da Vinci en later Vesalius, Servetus en Harvey – artsen, anatomen en wetenschappers in de tijd van de renaissance (1400-1600) – waren gedreven door wetenschappelijke vragen zoals hoe de bloedsomloop in elkaar zit en hoe de nieren werken.

Nog steeds kunnen we heel veel van het onderzoek post mortem leren. Sterker nog, onze onderzoekstechnieken zijn thans zo verfijnd dat we veel over doodsoorzaken en dodelijke ziekten te weten kunnen komen door middel van autopsie. Helaas is het aantal autopsieën de laatste decennia gestaag gedaald. Dit heeft meerdere redenen. Een belangrijke reden is de misvatting dat we met het moderne medisch onderzoek tijdens het leven wel denken te weten waaraan de patiënt is overle-

Is de zieke mens de ideale proefmens?

den. In ten minste 30% van de autopsieën worden belangrijke onverwachte bevindingen gedaan.

Een nadeel van het post mortem onderzoek is natuurlijk dat we naar eindstadia van ziekteprocessen kijken en dat het leven gestopt is. Voor veel wetenschappelijke vragen willen we juist graag het levende organisme bestuderen. Hiervoor zijn dierproeven essentieel: proeven met wormen, vliegen, vissen, muizen, ratten, konijnen en apen leveren essentiële bouwstenen op voor onze kennis over de mens. Dat zelfs proeven met 'primitieve' dieren als wormen, vliegen en vissen belangrijke gegevens opleveren voor de mens, is te danken aan grote overeenkomsten (en soms ook leerzame verschillen) in structuur en functie die er in de biologie zijn. Echter toetsing van de bevindingen in dieren bij de mens zelf blijft de ultieme stap om de veronderstellingen te staven.

Jonge gezonde mannen

Is de gezonde proefpersoon de ideale proefmens? Ook dat hangt weer van de vraagstelling af. Gezonde proefpersonen die – al dan niet tegen betaling – meedoen aan wetenschappelijk onderzoek zijn lang niet altijd representatief. Wanneer voor geneesmiddelenonderzoek een nieuw middel voor het eerst aan de mens wordt toegediend (fase I), zijn het vaak jonge gezonde mannen, zelfs als het middel voor ouderen is bedoeld. Hierdoor kan gemakkelijk een vertekend beeld ontstaan.

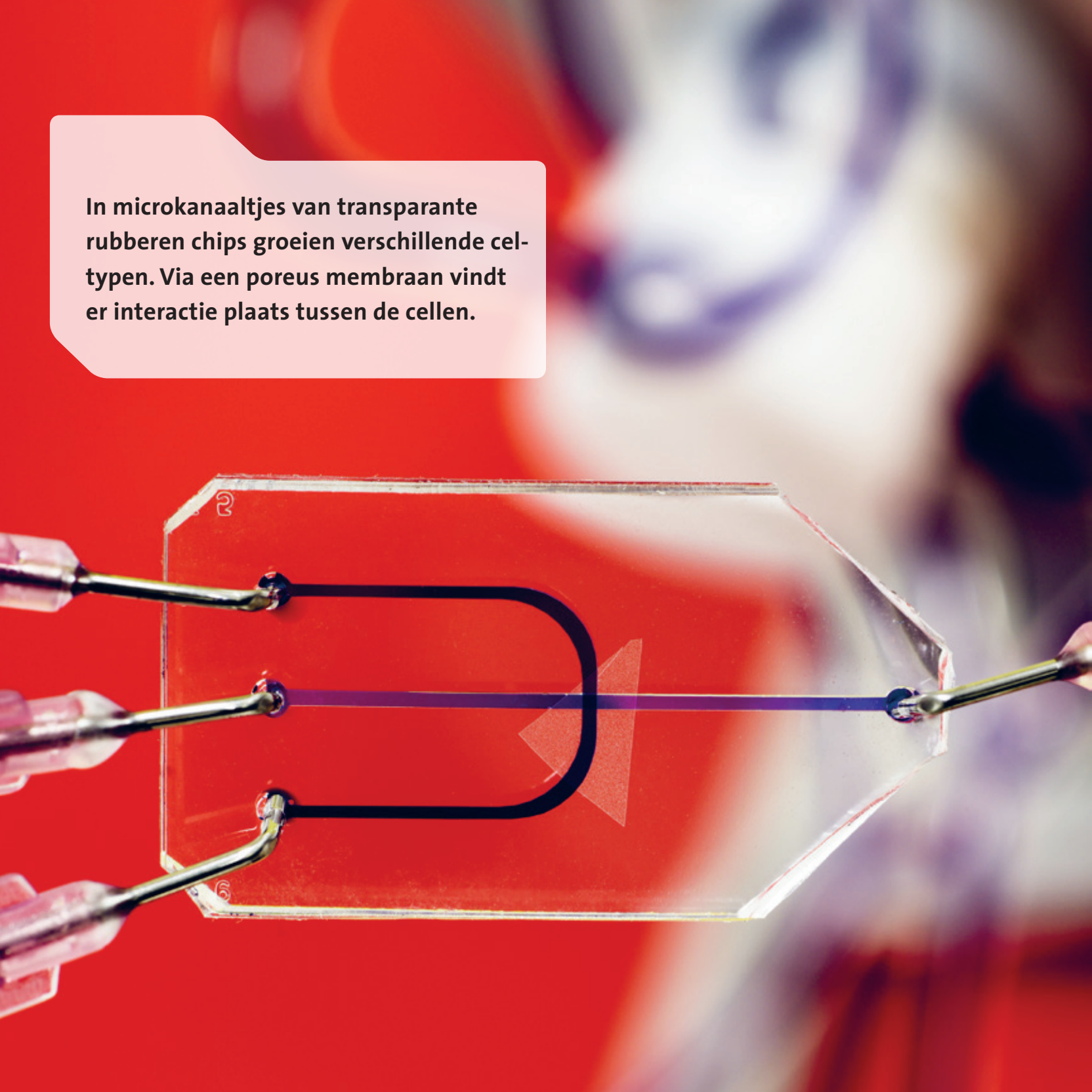
Gezonde proefpersonen zijn niettemin heel belangrijk. Mooie voorbeelden zijn de test van het endotoxine-model bij vrijwilligers, van belang bij onderzoek naar bloedvergiftiging (sepsis) en van het humane malaria-model, essentieel voor het onderzoek naar malariavaccins.

Wanneer men gezonde proefpersonen blootstelt aan interventies, zoals een geneesmiddel, een gifstof als endotoxine, malariaparasieten of een nieuw vaccin, moet men steeds het risico voor de proefpersoon en de potentiële opbrengsten voor onze kennis en de gunstige effecten voor de mensheid tegen elkaar afwegen. Gelukkig is er sinds ongeveer 50 jaar de verplichting om dit soort onderzoek van te voren te laten toetsen door onafhankelijke ethische commissies. Dit geldt uiteraard ook voor het medisch geneesmiddelenonderzoek bij patiënten.

De zieke mens

De moderne beeldvormende onderzoekstechnieken in de geneeskunde, zoals de CT-scan, MRI-scan, spectroscopie, echografie, en ook al het meer basale onderzoek naar DNA, RNA, eiwitten en metabolieten, bieden de mogelijkheid om bij gezonde proefpersonen en bij patiënten veel inzichten te verkrijgen.

Voor mij als medicus is de zieke mens de grootste bron van inspiratie en uitdaging, en daarmee met alle beperkingen, de ideale proefmens.



In microkanaaltjes van transparante rubberen chips groeien verschillende celtypen. Via een poreus membraan vindt er interactie plaats tussen de cellen.

2 Wat zijn organen-op-chips?

Een menselijk lichaam is geen laagje cellen in een schaaltje. Een lichaam is driedimensionaal, zacht en hard, flexibel en dynamisch, en er stroomt bloed en lymfevocht doorheen. De kunst voor organen-op-chipsmakers is om de specifieke functies van organen en lichaamsdelen te vangen in een micro-omgeving (de chip) waar een driedimensionaal celweefsel zich kan gedragen zoals in het lichaam. Om dat na te bootsen moeten allerlei vakdisciplines nauw met elkaar samenwerken. Want hoe kom je aan de juiste cellen? Hoe laat je het weefsel in de chip ademen of samentrekken? En hoe weet je wat er zich op microschaal afspeelt?

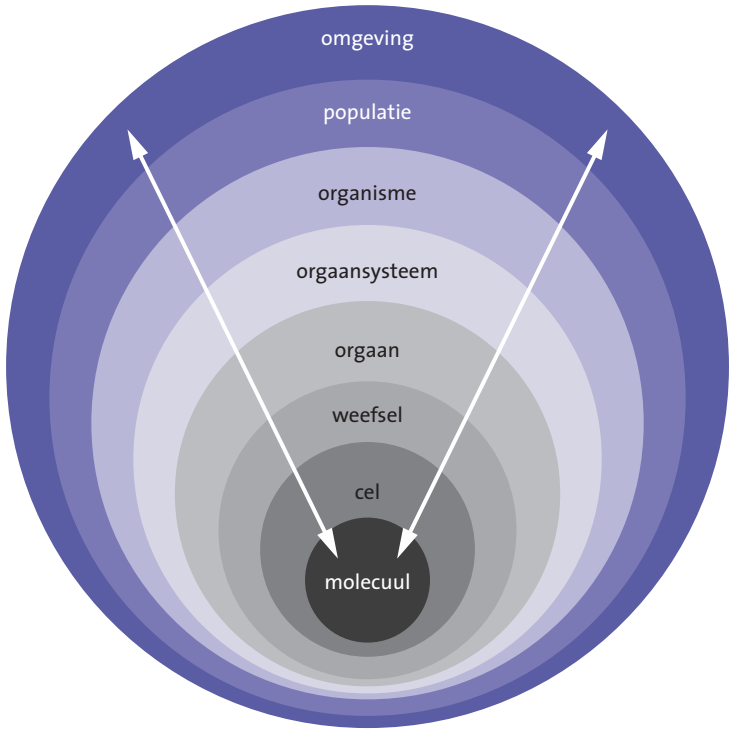
Hoe werkt een lichaam en hoe boots je het na?

IR. BEREND VAN MEER

De meest geavanceerde computer is nog lang niet zo complex als ons lichaam. Alles wat we doen, lopen, eten, werken en slapen, vereist dat de ongeveer 10 tot 100 biljoen (dat is meer dan miljoen keer een miljoen, of 1000 keer een miljard) cellen in ons lichaam met elkaar samenwerken. Die cellen zijn niet allemaal hetzelfde, ze hebben verschillende functies. Zo zijn er spiercellen, longcellen of bloedvatcellen. Om goed samen te werken hebben de cellen zich georganiseerd in weefsels, bijvoorbeeld spierbundels, longblaasjes of aders. De combinatie van meerdere weefsels vormt een orgaan zoals het hart, de longen of bloedvaten.

Voeding en omgeving

Om stukjes van het menselijk lichaam na te bootsen in het laboratorium kunnen lichaamseigen cellen gebruikt worden waarvoor dezelfde omstandigheden worden gecreëerd als in het lichaam. Zo worden de cellen gekweekt op 37°C bij eenzelfde vochtigheidsgraad en pH-waarde als in het menselijk lichaam. De cellen worden over het algemeen gekweekt in een plastic petrischaal met *medium*, een vloeistof met een cocktail aan voedingstoffen die de cellen nodig hebben om te groeien en te functioneren. Alle cellen hebben medium nodig, maar het verschilt per celtype welke voedingsstoffen daarin zitten.



Cellen in een orgaan leven in een uiterst complexe micro- en macro-omgeving.

Daarnaast hebben sommige cellen of weefsels ook nog andere specifieke omstandigheden nodig. Die omstandigheden worden de micro-omgeving genoemd. Vaak gaat het om de biomechanische aspecten van het echte weefsel. Zo is het hart gewend om bloed weg te pompen, een bloedvat om bloed langs te 'voelen' stromen en de cellen in de longen om constante rek en strek te ondervinden door de ademhaling. Als bloedvatcellen in een petrischaal worden gekweekt, vormen ze een platte cellaag en staat het medium stil. Onderzoek heeft laten zien dat deze cellen minder goed functioneren dan wanneer ze in kleine holle buisjes worden gekweekt waar het medium doorheen stroomt.

Onderlinge communicatie

Stel dat het zou lukken om de weefsels en hun micro-omgeving perfect na te maken in het laboratorium, dan nog is daarmee niet de complexiteit van het lichaam bereikt. Onze organen communiceren namelijk onderling via zenuwen, hormonen of andere stofjes die worden vervoerd door de bloedbaan. Sommige organen zijn in dit samenspel belangrijker dan andere. Sommige organen sturen andere organen aan (zoals de hersenen of de hypofyse) of zetten stoffen in ons lichaam om naar andere stoffen (bijvoorbeeld de lever), terwijl andere organen zich vooral laten aansturen (bijvoorbeeld spieren).

Gezond en ziek weefsel

Zelfs als de interactie van de organen onder controle is, is dat nog niet voldoende. Om echt goed de werking van medicijnen te kunnen testen, moet niet alleen gezond weefsel nagebootst kunnen worden, maar ook ziek weefsel. Door aan dit soort 'ziektemodellen' een potentieel medicijn toe te dienen, kan pas echt bekeken worden of het de ziekte kan genezen.

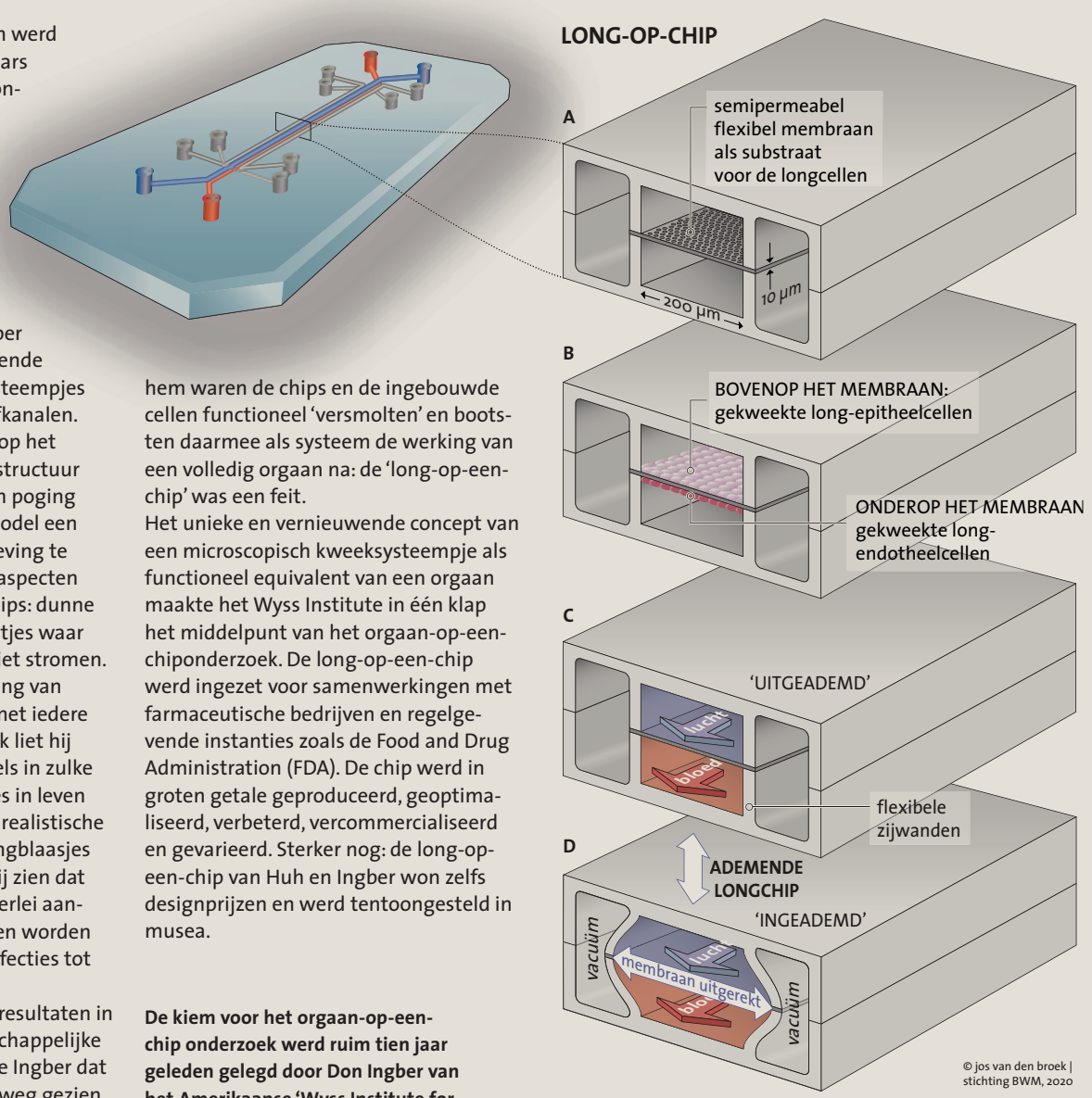
Ziekten hebben verschillende oorzaken (genetisch, een virus of bacterie) en kunnen zich afspelen op verschillende niveaus: sommige ziekten maken lichaamscellen kapot, terwijl andere zorgen voor verstoppingen in de bloedbaan. Om die ziekten te kunnen nabootsen zijn dus ook andere 'onderdelen' in zo'n model nodig, zoals cellen met een genetische afwijking (zie Waar komen de cellen vandaan?) of wellicht een virus (zie Modellen voor virusinfecties).

Naast alle verschillende onderdelen en aspecten van het model is het belangrijk te beseffen dat geen mens hetzelfde is. Dat geldt niet alleen voor persoonlijkheden of vingerafdrukken, maar ook voor de rest van het lichaam. Bij iedereen werkt alles net even anders en daarom is één model dat voor alle mensen werkt vrijwel onmogelijk te maken. Genetische achtergrond, leeftijd, dieet en leefomgeving zorgen voor grote onderlinge verschillen tussen personen en die zorgen op hun beurt weer voor grote verschillen tussen het verloop van

Het eerste orgaan-op-een-chip: de long

DR. ANDRIES VAN DER MEER

Ruim een decennium geleden werd de kiem voor de huidige opmars van het orgaan-op-een-chiponderzoek gelegd bij het toen net opgezette Amerikaanse 'Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering' van Harvard University (wyss.harvard.edu). Onderzoeker Dongeun Huh werkte in de onderzoeksgroep van professor Don Ingber aan het kweken van verschillende celtypen in 'chips' – kweeksysteempjes met microscopische vloeistofkanalen. Huh's onderzoek richtte zich op het technisch nabootsen van de structuur van echte longblaasjes. In een poging om de longweefsels in zijn model een zo realistisch mogelijke omgeving te bieden, bouwde Huh allerlei aspecten van longblaasjes na in zijn chips: dunne membranen en kleine kanaaltjes waar hij lucht en bloed doorheen liet stromen. Hij kopieerde zelfs de beweging van de longen die gepaard gaat met iedere ademhaling. In zijn onderzoek liet hij zien dat wanneer longweefsels in zulke technische kweeksysteempjes in leven werden gehouden, ze op een realistische manier de werking van de longblaasjes nabootsten. Bovendien liet hij zien dat met deze kweeksystemen allerlei aandoeningen van de long konden worden nagebootst, van bacteriële infecties tot vocht in de longen (oedeem).
Bij het rapporteren van deze resultaten in het toonaangevende wetenschappelijke tijdschrift *Science*, benadrukte Ingber dat de chips van Huh niet simpelweg gezien moesten worden als geavanceerde kweekbakjes voor longcellen. Volgens hem waren de chips en de ingebouwde cellen functioneel 'versmolten' en bootsten daarmee als systeem de werking van een volledig orgaan na: de 'long-op-een-chip' was een feit.
Het unieke en vernieuwende concept van een microscopisch kweeksysteempje als functioneel equivalent van een orgaan maakte het Wyss Institute in één klap het middelpunt van het orgaan-op-een-chiponderzoek. De long-op-een-chip werd ingezet voor samenwerkingen met farmaceutische bedrijven en regelgevende instanties zoals de Food and Drug Administration (FDA). De chip werd in groten getale geproduceerd, geoptimaliseerd, verbeterd, vercommercialiseerd en gevarieerd. Sterker nog: de long-op-een-chip van Huh en Ingber won zelfs designprijzen en werd tentoongesteld in musea.



© jos van den broek | stichting BWM, 2020

De kiem voor het orgaan-op-een-chip onderzoek werd ruim tien jaar geleden gelegd door Don Ingber van het Amerikaanse 'Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering' met het long-op-een-chipmodel.

ziekten of het aanslaan van medicijnen. Dat is vaak de onderliggende reden waarom de ene patiënt wel beter wordt bij een bepaalde behandeling terwijl de andere patiënt ziek blijft. De uitdaging is om dat te kunnen voorspellen en op te lossen.

Wat is nodig?

Het namaken van het hele lichaam in het laboratorium is erg complex en lastig te realiseren. Daarom is het van belang goed na te denken *waarom* iets nagebootst moet worden. Met andere woorden: wat is de onderzoeksvraag? Wanneer we een nieuw hartmedicijn testen is de maag misschien overbodig, maar is het wenselijk om de interactie met de hersenen te bestuderen omdat die het hart aansturen. Tijdens het stapje voor stapje bouwen aan de beste proefopstelling van ons zeer complexe lichaam, kan er in de tussentijd al heel wat worden bestudeerd.

De ideale proefopstelling van een persoon zou dus een systeem van verschillende (relevante) stukjes ziek en/of gezond 3D-orgaanweefsel met de juiste micro-omgeving zijn, aan elkaar gekoppeld door bloedvaten en zenuwen. Idealiter zouden het weefsel, de omgevingsfactoren en de voedingsstoffen ook nog eens specifiek voor de persoon in kwestie moeten zijn. Zo'n systeem is een grote tegenstelling met de harde, simpele plastic petrischaal die tot op vandaag de dag nog de basis is van veel laboratoriumonderzoek. Organen-op-chips kunnen de game-changer zijn om de complexiteit van het lichaam zo goed mogelijk na te bootsen.

Een orgaan-op-een-chip is opgebouwd uit cellen en een slimme micro-omgeving

Wat is een orgaan-op-een-chip?

IR. BEREND VAN MEER

Organen-op-chips zijn kleine stukjes – meestal menselijk – orgaanweefsel gekweekt op een slimme ondergrond. Die ondergrond is zo ontworpen dat de cellen van dat weefsel zich zo natuurlijk mogelijk gedragen en verschillende functies van het menselijk lichaam kunnen nabootsen. Het grote verschil met normale celkweek in een petrischaal is dat onderzoekers door die slimme ondergrond de cellen de juiste micro-omgeving kunnen bieden zodat ze zich 'thuis' voelen. Hoe meer de cellen zich gedragen zoals in het menselijk lichaam, hoe beter de cellen voorspellen wat er zich in het echte menselijk lichaam afspeelt wanneer het ziek wordt of een medicijn krijgt toegediend. Globaal gezien is een orgaan-op-een-chip opgebouwd uit cellen (orgaan) en een micro-omgeving (chip).

De cellen

Afhankelijk van het gewenste model zijn er verschillende celtypen nodig. Allereerst zijn er cellen nodig die relevant zijn voor het orgaan dat men wil bestuderen. Voor een long-op-een-chipmodel zijn uiteraard longcellen nodig. Maar meestal is een orgaan niet opgebouwd uit één type cel en zijn er meerdere celtypen nodig. In de longblaasjes zitten aan de kant waar de lucht binnenstroomt dekweefselcellen. Die verschillen sterk van het type weefsel dat in de longblaasjes aan de kant van de bloedstroom zit. Zo zitten er in een enkel orgaan wel tientallen celtypen. Meestal heeft een onderzoeker niet alle verschillende celtypen nodig. Wanneer onderzoekers een ziekte willen nabootsen waar alleen bloedvatcellen van een long een rol spelen, dan hoeven de dekweefselcellen misschien niet in het model opgenomen te worden.

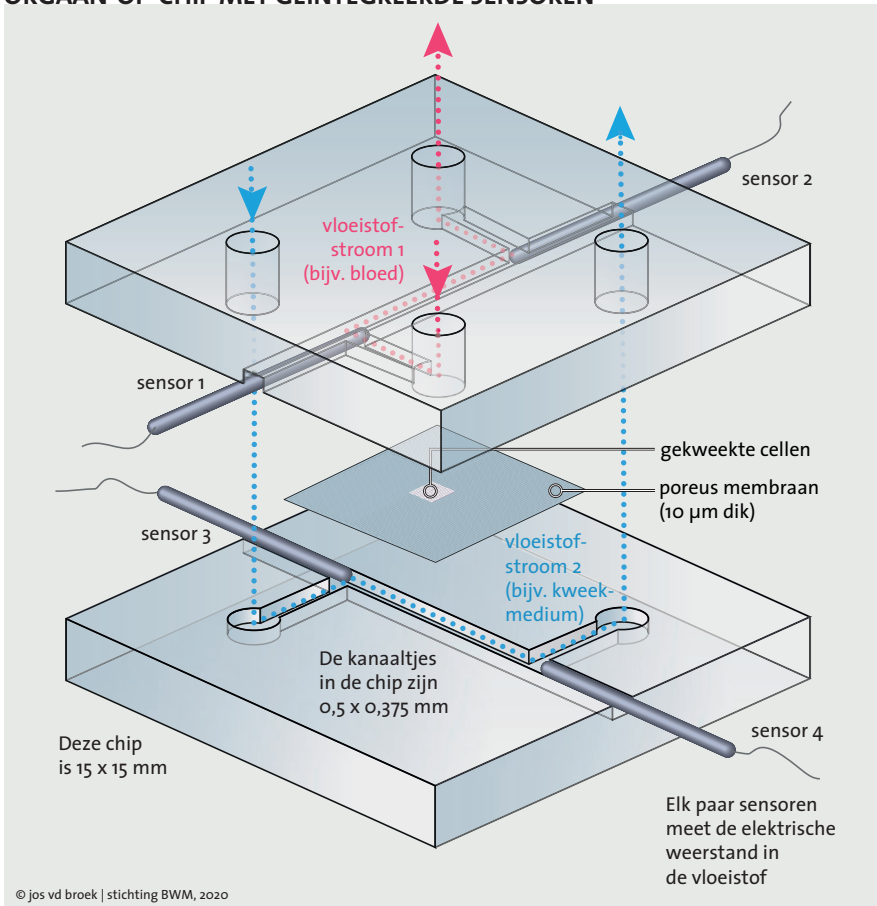
De volgende vraag is waar de cellen vandaan komen (zie ook Waar komen de cellen vandaan?). Cellen kunnen vaak via stamcellen gemaakt worden, maar er kunnen ook primaire weefsels worden gebruikt, zoals weefselcoupes uit biopten van patiënten, of cellijnen van cellen die alsmaar blijven delen. Al die verschillende cellen hebben hun voor- en nadelen zoals beschikbaarheid, genetische achtergrond en eventueel patiënt-specifieke aandoeningen. De cellen kunnen genetisch worden aangepast, bijvoorbeeld door ze een fluorescerende stof te laten maken, zodat hun gedrag beter gevolgd kan worden in de chip.

De micro-omgeving

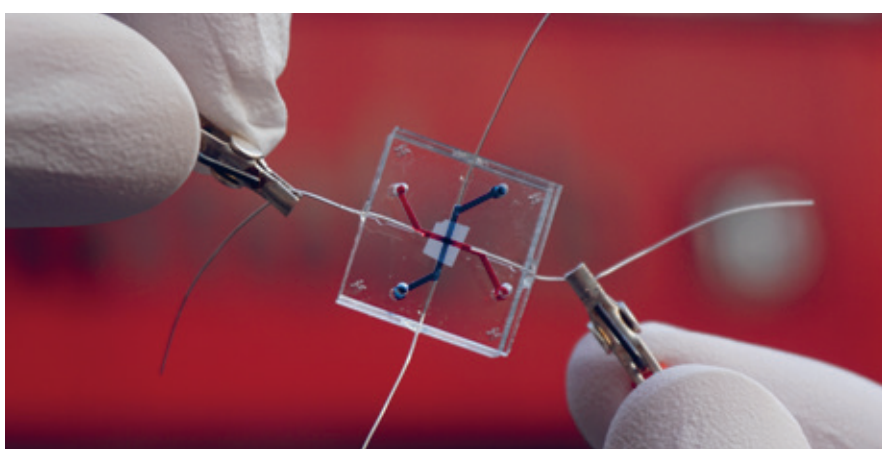
Vervolgens moet er een chip ontworpen worden die de natuurlijke omgeving van de cellen kan nabootsen. Stel er is een bloedvat-op-een-chip nodig. Een petrischaal waar de cellen in een platte laag liggen, is dan duidelijk geen optie. Een bloedvat is een ronde buis. Daarom moet er in dit geval een chip komen met daarin de vorm van een ronde buis, zodat de bloedvatcellen daar tegenaan kunnen groeien. De geometrie van een orgaan is dus een belangrijk aspect voor de ontwerpers. Wanneer er twee verschillende celtypen worden bestudeerd zoals bij de bloed-hersenbarrière-op-een-chip zijn doorlaatbare membranen weer een handige ondergrond voor de cellen om op te groeien.

Er is echter nog een groot verschil tussen de petrischaal en het echte lichaam. Een petrischaal is hard, inflexibel en er zit geen beweging in, terwijl het lichaam gemaakt is van zachte, flexibele weefsels die continu in beweging zijn. Daarom worden de chips vaak van zacht materiaal gemaakt, zoals siliconenrubber. Rubber kan de flexibiliteit en elasticiteit van het lichaam goed imiteren. Als de chip op de juiste manier gemaakt is, kunnen de cellen zelfs aan mechanische rek en strek worden blootgesteld (zie Het eerste orgaan-op-een-chip: de long).

ORGAAN-OP-CHIP MET GEÏNTEGREERDE SENSOREN



© jos vd broek | stichting BWM, 2020



Een mengpot van disciplines

DR. ANIKA NAGELKERKE

Een loodgieter vraagt men niet snel om elektra aan te leggen, of de elektricien om de kozijnen en muren te schilderen. Het is juist het samenbrengen van de expertise en kennis van verschillende vakmensen dat er voor zorgt dat een huis er piekfijn bijstaat. Hetzelfde geldt voor de ontwikkeling van organen-op-een-chip. Daarvoor vraagt men ook niet aan een technoloog om cellen te kweken of een celbioloog om chips te ontwerpen. Iedereen heeft een eigen specialisme, maar meer nog dan bij het bouwen van een huis, moeten hiervoor allerlei vakdisciplines echt nauw samenwerken om processen in het menselijk lichaam te kunnen nabootsen.

Zeker bij organen-op-chipsonderzoek is het belangrijk om verschillende disciplines te laten samenwerken.

Bouw een menselijk lichaam na

Het menselijk lichaam is een enorm complex systeem waarin tientallen organen en weefsels ieder hun eigen taak uitvoeren, en tegelijkertijd op een uiterst ingenieuze manier samenwerken. Als wetenschappers uit verschillende disciplines gevraagd zou worden het menselijk lichaam na te bouwen, resulteert dat waarschijnlijk in ver uiteenlopende ideeën. Een arts ziet een compleet systeem met verschillende organen, een bioloog denkt aan structuren met functionele cellen en een chemicus ziet een bonte verzameling moleculen en chemische reacties. Vraag het een fysicus, dan wordt er een scala aan natuurkundige processen voorgeschoteld: van diffusie tot geleiding van elektrische signalen. De ingenieur schetst vervolgens een vernuftig stelsel van buizen en filters, aangedreven door een pompsysteem en centrale computer. Om natuurgetrouwe organen-op-chips te maken, zijn al deze inzichten nodig.

Samenwerking essentieel

De uitdaging hierbij is om de verschillende disciplines te verenigen. Dit blijkt in de praktijk nog niet zo eenvoudig. Iedere discipline spreekt haar eigen taal. Daar komt bij dat wetenschappers in steeds grotere mate specialisten zijn geworden. Door het opzetten van speciale werkgroepen op gebied van orgaan-op-een-chip, waar de verschillende wetenschapswerelden bij elkaar komen en met enthousiasme ideeën en resultaten delen, is de eerste stap gezet om elkaar te begrijpen en samen te werken. Dan wordt één plus één opeens drie en krijgt samenwerking concrete meerwaarde. Zeker nu de chipsystemen alsmaar in complexiteit toenemen om nog beter op het menselijk lichaam te lijken. Oftewel, als er één ontwikkeling een multidisciplinaire aanpak nodig heeft dan is het die van de organen-op-chips wel.

Tot slot is er nog een zeer belangrijk aspect dat overal terugkomt in het lichaam, maar niet in een petrischaal: vloeistofstroming. Terwijl het 'surrogaat-bloed' (medium) in een petrischaal stilstaat, is dat in het lichaam continu in beweging. Het is op zich geen verrassing dat bloedvatcellen zich natuurlijker gaan gedragen wanneer zij aan stromend medium worden blootgesteld. Om de vloeistof door de microkanalen te kunnen pompen, zijn micropompen nodig.

Cellaagjes of celklompjes

Organoïden verschillen behoorlijk van organen-op-chips. Organoïden zijn driedimensionale celkweken, die meestal als een klompje cellen in een kweekmedium 'zweven' en zichzelf over het algemeen volledig organiseren en differentiëren zonder specifieke sturing van buitenaf. De resulterende structuren lijken op een klein stukje van een echt orgaan of van een weefsel.

Celkweken in organen-op-chips worden daarentegen door hun micro-omgeving gestuurd en staan bloot aan vloeistofstroming. De celkweken hoeven dan ook niet driedimensionaal te zijn. Meestal groeien ze vast aan het chipmateriaal zodat ze niet wegstromen als er vloeistof langs wordt gepompt. Organoïden zijn wel in orgaan-op-chipsystemen gebruikt, maar de vloeistofstroom dringt de relatief dikke driedimensionale celkweek niet binnen, tenzij er een (synthetisch) bloedvatstelsel is gemaakt of als de driedimensionale structuren opengebroken zijn.

Slimme chips

De chips zelf worden vaak gemaakt met microfabricagetechnieken. Dat is nodig om kleine geometrische vormen te maken die in dezelfde orde van grootte vallen als de cellen zelf (ongeveer 10-100 micrometer). Vergelijkbare technieken worden gebruikt om chips voor smartphones en computers te maken. Dit maakt het relatief eenvoudig om die chips gelijk 'slim' te maken en daar sensoren in te bouwen en uitleesmethoden aan te koppelen. Zo is het mogelijk om bij hartweefselmodellen elektroden in de chip te bouwen die net als bij een elektrocardiogram de elektrische activiteit van de cellen kunnen meten. Een van die elektroden kan ook nog andersom gebruikt worden, en juist een elektrisch signaal afgeven dat de contractie van de hartspiercellen initieert. Dit is vergelijkbaar met een pacemaker.

Orgaan-orgaaninteractie

Via de bloedvatkanalen is het mogelijk meerdere organen-op-chips op elkaar aan te sluiten en ook de interactie tussen organen te bekijken. Zo kan men bijvoorbeeld bepalen wat de invloed is van bepaalde voedingsstoffen op de darm en het indirecte effect daarvan op de hersenen. Of men kan kijken of bij het afbreken van een medicijn in de lever bijproducten ontstaat die schadelijk zijn voor het hart. De interactie van de verschillende organen is vaak cruciaal bij het bepalen van de veiligheid van een stof of medicijn.

Er is dus niet één orgaan-op-een-chipmodel, er zijn er zoveel als men zich kan voorstellen. Zo is er ook niet één model voor hartspierweefsel. Sommige onderzoekers zijn geïnteresseerd in de samentrekking van het hart bij toediening van medicijnen, terwijl anderen willen weten hoe een medicijn de elektrische geleiding in het hart beïnvloedt. Dat vraagt andere weefselgrootte en andere celtypen. Zo worden elke keer de cellen, chips, sensoren en stroming en beweging precies afgestemd op het benodigde orgaanweefsel en de onderzoeksvraag, en dat maakt het aantal mogelijkheden enorm.

Er is niet één orgaan-op-een-chip-model, er zijn er zoveel als je je kan voorstellen

Waar komen de cellen vandaan?

PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY EN DR. VALERIA ORLOVA

Pluripotente stamcellen kunnen zich ontwikkelen tot alle organen in het lichaam

Het menselijk lichaam bestaat uit 10-100 biljoen cellen, met ongeveer 200 verschillende celtypen in 78 organen. Verbazingwekkend genoeg zijn al deze cellen afkomstig van één enkele cel: de zygote, een eicel die bevrucht is door een zaadcel. De vorming van de zygote wordt gevolgd door een snelle celdeling en specialisatie in verschillende celtypen. Dit wordt differentiatie genoemd en de gevormde structuur heet een *blastocyst*. De blastocyst bestaat uit ongeveer 100 cellen die zich binnen enkele uren delen tot vele honderden cellen. De blastocyst is opgebouwd uit een *inner cell mass* (ICM) die leidt tot het embryo zelf en een buitenste laag cellen, trofoblast genaamd, die zich ontwikkelt tot de placenta. De ICM kan uit de blastocyst worden gehaald en de cellen kunnen in een petrischaaltje gestimuleerd worden om zich te gaan delen. Op deze manier worden humane embryonale stamcellen verkregen. Aan menselijke blastocysten is over het algemeen een overschot door het ruime aantal eicellen dat bevrucht moet worden voor een succesvolle in-vitrofertilisatiebehandeling (IVF). Humane embryonale stamcellen (hESCs) hebben dezelfde ontwikkelingspotentie als de ICM, ze kunnen elk celtype van het menselijk lichaam worden, behalve de placenta.

Cellen herprogrammeren

Vanwege hun oorsprong kleven aan het gebruik van hESC's ethische bezwaren en in vrijwel alle landen is het gebruik ervan in onderzoek strikt gereguleerd. Sommige mensen beschouwen de vernietiging van embryo's gelijkwaardig aan de vernietiging van een levend individu. Een wetenschappelijke doorbraak, die een alternatief bood om deze ethische kwestie te vermijden, was de ontdekking dat cellen die lijken op hESC's kunnen worden verkregen via een moleculaire 'truc' – genetische herprogrammering – waarbij gewone lichaamscellen worden omgezet in menselijke geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC's). Wetenschappers kunnen nu hiPSC's maken uit vrijwel elk volwassen celtype, inclusief huid-, bloed- of haarcellen en zelfs cellen die in de urine aanwezig zijn. Net zoals hESC's kunnen ook hiPSC's gebruikt worden om veel verschillende celtypen te maken die aanwezig zijn in verschillende organen van het lichaam en die anders zeer moeilijk te verkrijgen zijn, zoals cellen uit het hart, hersenen, long, lever, darm, en ook bloedvaten.

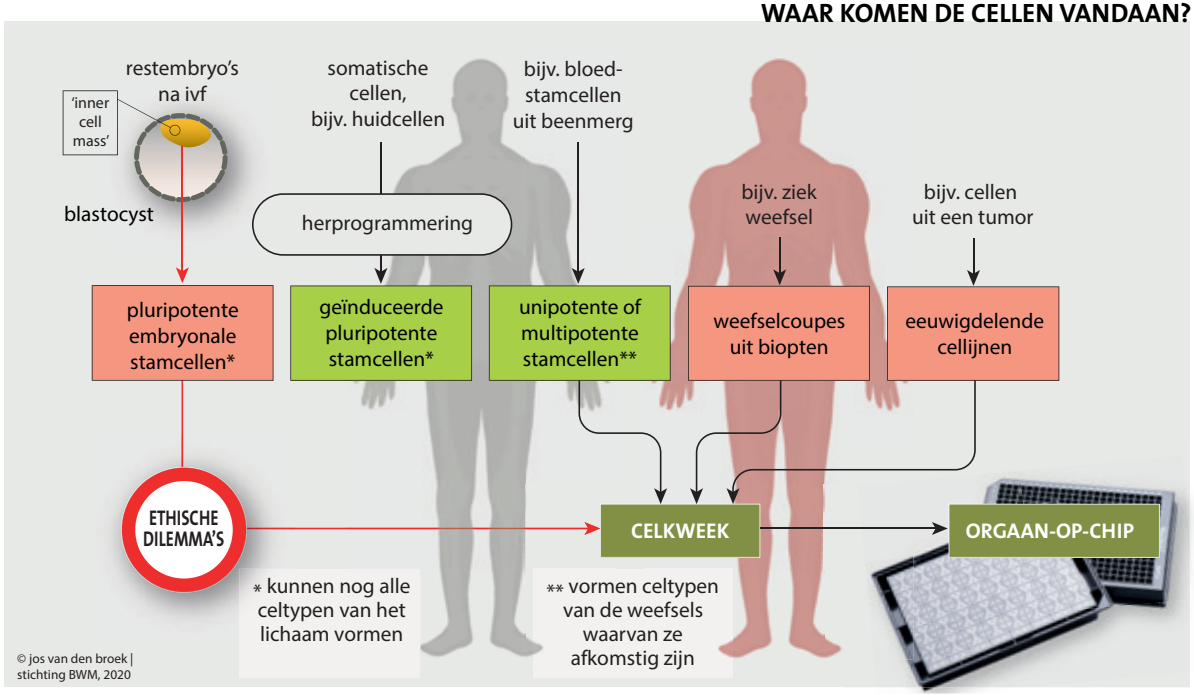
Het grote voordeel van hiPSC's is dat ze van lichaamscellen van elk afzonderlijk individu kunnen worden gemaakt, zowel van zieke als gezonde mensen. hiPSC's kunnen in het laboratorium voor onbepaalde tijd worden bewaard. Ze kunnen genetisch aangepast worden om verschillende celtype-specifieke 'markers' te produceren, zoals fluorescerende eiwitten, waardoor het gedrag en de identiteit van de cellen te volgen en te controleren is (zie Hoe weet je wat er gebeurt in een chip?). Ook kunnen specifieke genetische mutaties ingebracht of gerepareerd worden, zoals het vervangen van een enkel DNA bouwsteentje (nucleotide) maar ook grotere stukken van het DNA (chromosomale translocaties). Hierdoor is het mogelijk om genetisch gelijkwaardige paren van hiPSC's te maken, één met en één zonder de mutatie die de ziekte veroorzaakt, waardoor een juiste vergelijking tussen de zieke en gezonde cellen mogelijk is. hESC's en hiPSC's worden gezamenlijk aangeduid als pluripotente stamcellen of hPSC's, omdat ze zich kunnen ontwikkelen tot alle cellen van alle organen in het lichaam.

Volwassen stamcellen

Naast hPSC's zijn er ook stamcellen in het volwassen lichaam. In tegenstelling tot hPSC's – die nog

Cellen voor organen-op-chips kunnen afkomstig zijn van meerdere bronnen: humane embryonale stamcellen uit een blastocyst, geïnduceerde pluripotente stamcellen door herprogrammering van een lichaamscel, en uni/multipotente stamcellen uit het volwassen lichaam. De embryonale en pluripotente stamcellen kunnen uitgroeien tot alle cellen van het lichaam, de uni/multipotente stamcellen tot één of enkele lichaamscellen van weefsels waar ze vandaan komen. Naast deze cellen kunnen ook cellijnen en intacte stukjes weefsel (weefselcoupes) afkomstig van een biopt in de chips worden gebruikt. Welke cellen of weefsels nodig zijn hangt af van de onderzoeksvraag.

WAAR KOMEN DE CELLEN VANDAAN?



alle celtypen van het lichaam kunnen worden – zijn volwassen stamcellen ongedifferentieerde voorlopercellen die nog maar één of enkele specifieke celtypen kunnen worden. Ze zijn unipotent of multipotent. Deze cellen zijn gedurende het hele leven van een volwassene aanwezig en bevorderen de groei van organen (in de kindertijd) en het herstel ervan. De meest bekende volwassen stamcellen zijn bloedstamcellen (hematopoëtische stamcellen). Deze cellen zijn aanwezig in het beenmerg en maken tijdens ons hele leven alle bloedceltypen aan (rode en witte bloedcellen, en afweercellen). Veel organen die voortdurend worden vernieuwd of zeer gevoelig zijn voor beschadiging bevatten multipotente stamcellen, zoals de darm, de huid, de haarwortels, de lever, het bot en de skeletspieren. Sommige organen, zoals het hart, hebben echter geen volwassen stamcellen. Daarom zijn hiPSC's of hESC's voor het hart de enige manier om orgaan-specifieke cellen in het laboratorium te kweken. De afgelopen jaren is uitgebreid onderzoek gedaan om niet alleen betere methoden te ontwikkelen voor de differentiatie van hESC's en hiPSC's naar orgaan-specifieke celtypen, maar ook om nieuwe manieren te ontwikkelen voor het zogenaamd 'direct herprogrammeren' van volwassen cellen of hPSC's naar orgaanspecifieke cellen.

Volwassen worden

De belangrijkste vraag is hoe vergelijkbaar zijn de cellen die zijn afgeleid van hPSC's met de oorspronkelijke cellen in het menselijk lichaam. Veel van de cellen die momenteel afkomstig zijn uit hPSC's zijn zeer onvolwassen, ze lijken meer op cellen van een foetus. Of het mogelijk is om deze cellen tot meer volwassenheid te kunnen laten uitrijpen (matureren) in het laboratorium en of ze gebruikt kunnen worden om leeftijdsgebonden aandoeningen na te bootsen, is een vraag die de komende jaren beantwoord moet worden.

Wat zijn geschikte materialen voor de chips?

PROF. DR. IR. JAAP DEN TOONDER, DR. MASSIMO MASTRANGELI EN PROF. DR. ROMAN TRUCKENMÜLLER

Materialen waarvan de chips zijn gemaakt moeten aan nogal wat eisen voldoen. Ten eerste moeten ze celvriendelijk ofwel biocompatibel zijn en de cellen en weefsels niet nadelig beïnvloeden. Daarnaast zijn ook flexibiliteit (mechanisch laten bewegen), optische transparantie (microscopie) en maakbaarheid (chipproductie) belangrijke eigenschappen.

Rubberen chips

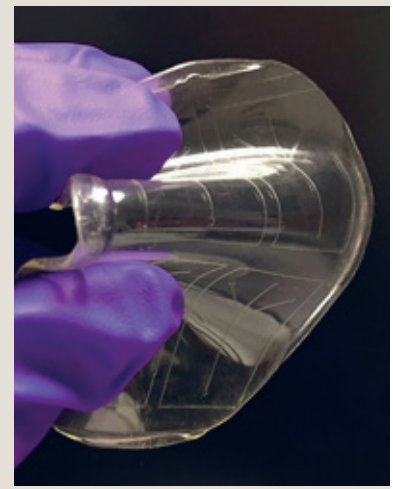
Het materiaal dat in onderzoek en ontwikkeling van organen-op-chips tot nu toe veruit het meeste wordt gebruikt, is het rubber polydimethylsiloxaan (PDMS). Dit materiaal heeft veel van deze eigenschappen in zich verenigd. PDMS is biocompatibel en doorlaatbaar voor zuurstof, waardoor het zeer celvriendelijk is. Daarnaast is het optisch transparant voor microscopie, zeer flexibel zodat het mechanisch kan worden bewogen en is het via een eenvoudig gietproces met hoge nauwkeurigheid in allerlei vormen te produceren. PDMS is daarom een ideaal materiaal om, zeker in een onderzoeksfase, snel tot het ontwikkelen en testen van organen-op-chips prototypes te komen.
Echter, PDMS heeft ook belangrijke nadelen waardoor het voor de uiteindelijke industriële productie en toepassing minder geschikt is. Ten eerste absorbeert het materiaal kleine moleculen, inclusief mogelijke medicijnen, op een aspecifieke en daardoor moeilijk te voorspellen manier. Voor gebruik in medicijnontwikkeling is dit een groot probleem. Ten tweede is het PDMS-fabricageproces niet goed op te schalen, omdat het tijdrovend is, zodat de kosteneffectieve productie van PDMS-chips nauwelijks te realiseren is.

Plastic chips

Er vindt daarom steeds meer onderzoek plaats naar alternatieve materialen. Zo zijn plastics als polystyreen en polycarbonaat geschikt voor celkweek en ze zijn optisch transparant. Bovendien kunnen deze materialen op grote schaal geproduceerd worden met industriële processen zoals spuitgieten. Echter deze materialen zijn weer veel minder flexibel dan PDMS waardoor ook alternatieven zoals polyurethaan en hydrogel, worden onderzocht. Deze zijn weliswaar flexibel, maar hebben ook nadelen zoals beperkte transparantie (polyurethaan) en maakbaarheid (hydrogel).

Silicium chips

Silicium is een klassiek materiaal dat in de elektronische industrie wordt gebruikt voor het maken van microchips in combinatie met oxiden, nitriden en metalen; siliciumchips kunnen op grote schaal en met grote precisie worden geproduceerd. Echter silicium is niet optisch transparant en zeer rigide, en dat zijn grote nadelen voor organen-op-chips toepassing.
De toekomst ligt waarschijnlijk in het combineren van verschillende materialen in hybride chips – bijvoorbeeld het integreren van zachte rubberachtige materialen in silicium chips of in de stuggere plastic chips.



Het ideale chipmateriaal is transparant, flexibel en biocompatibel, en ook nog makkelijk te maken in grote hoeveelheden.

Deze mogelijkheden worden op dit moment door steeds meer organen-op-chipwetenschappers en -technologen onderzocht.

Hoe maak je een chip die op een lichaam lijkt?

PROF. DR. IR. JAAP DEN TOONDER, DR. MASSIMO MASTRANGELI EN PROF. DR. ROBERT PASSIER

Om functies van organen natuurgetrouw na te bootsen in een chip, is het niet voldoende om de juiste cellen en weefsels te kweken. Het is cruciaal om, naast de biologie, ook de gehele (micro-)omgeving van de weefsels in het menselijk lichaam na te bootsen. Deze varieert van bloedstroming en elektrische prikkels tot mechanische aspecten als stijfheid en beweging. De recente technologische ontwikkelingen op het gebied van microfluïdische systemen maken dit voor organen-op-chips mogelijk.

Microkanalen voorzien de cellen van voedingsstoffen en voeren afvalstoffen af

Laboratorium-op-een-chip

Microfluïdische systemen zijn oorspronkelijk ontwikkeld om complexe biochemische processen die in laboratoria plaatsvinden, te verkleinen en te integreren op een chip van een paar centimeter groot. In deze zogenoemde 'lab-op-een-chip' kunnen bijvoorbeeld bloedmonsters worden geanalyseerd voor medische diagnostiek. Het voordeel is dat een medische test wordt uitgevoerd met slechts enkele druppels bloed, een minimale hoeveelheid reagentia en in veel kortere tijd dan in de standaard laboratoria. Dit maakt diagnostisch testen sneller, minder duur en vaak ook preciezer.

Een microfluïdische chip bevat kleine reactiekamertjes waarin biochemische reacties plaatsvinden. De kamertjes zijn verbonden door microkanaaltjes waarin op een gecontroleerde manier een vloeistof wordt getransporteerd om dit proces nauwkeurig te beheersen.

Kweekkamers-op-een-chip

Microfluïdische chips vormen ook de basis voor organen-op-een-chip. De kamertjes vormen nu geavanceerde kweekcompartimenten, vaak gescheiden door een membraan met poriën, waarin driedimensionale weefsels, vaak bestaande uit meerdere celtypen, gekweekt kunnen worden. De microkanalen voorzien de cellen van de nodige voedingsstoffen en voeren afvalstoffen af. Maar er kan meer. De microkanalen die technici heel precies in de chip kunnen aanbrengen, geven gelijk de mogelijkheid om de mini-organen te voorzien van de juiste (bio)chemische omgeving, net als in het lichaam. Zo kunnen het zuurstof- en kooldioxidegehalte en de zuurgraad (O_2, CO_2 en pH) precies worden ingesteld, maar kunnen ook gradiënten, zoals die in ons lichaam voorkomen, worden nagebootst.

Fabricage van chips

Microfluidische chips zijn veelal gemaakt van een hoogwaardig polymeer, zoals polydimethylsiloxaan (PDMS), een soort rubber (zie kader Wat zijn geschikte materialen voor de chips?). Dit zachte siliconenmateriaal is transparant, zuurstofdoorlatend en flexibel, en is gemakkelijk te bewerken. Het PDMS-monomeer wordt in een precies bewerkte mal gegoten en hardt uit. Na verwijdering van de mal zijn er in de PDMS-laag kleine kanaaltjes zichtbaar en is de helft van de chip klaar. In veel chips komt op de kanaaltjes een poreus membraan te liggen waarop later de cellen kunnen groeien. Door twee van deze PDMS-helften aan elkaar te binden ontstaat de uiteindelijke chip. Dit proces heet soft-litography en is geschikt voor het snel en goedkoop ontwerpen van chips voor kleinschalige tests, meestal voor gebruik in laboratoria van universiteiten.

Een andere technologie voor de productie van chips voor miniorganen is de silicium wafertechnologie. Deze technologie wordt ook gebruikt voor chips in smartphones of computers. Daarbij wordt gebruik gemaakt van apparatuur in de cleanroom, een speciale werkomgeving die ontworpen is om

vervuiling van producten door aanwezige stofdeeltjes uit te sluiten. Met dit conventioneel en gestandaardiseerd microfabricageproces is grootschalige productie van robuuste en reproduceerbare chips mogelijk.

Kracht en stijfheid

Op de wanden van de microkanalen kunnen endotheelcellen (bloedvatcellen) worden gezaaid om bloedvaten na te bootsen. Endotheelcellen zijn, net als veel cellen, gevoelig voor mechanische prikkels. Wanneer bloed door onze vaten stroomt, oefent het een grote kracht uit op de bloedvatwand. Die kracht bepaalt hoe de endotheelcellen zich gaan organiseren en gedragen. Door de vloeistofstroming in de microkanalen heel precies te regelen, kan de bloedcirculatie natuurgetrouw in de chip worden nagebootst.

Een andere belangrijke omgevingsfactor die het gedrag van cellen bepaalt, is de stijfheid van de omgeving. In ons lichaam hebben verschillende organen verschillende stijfheden, denk aan sterke en stevige botten of een flexibele, elastische huid. Door de juiste keuze en het juiste ontwerp van materialen in de chips te gebruiken, is het mogelijk deze mechanische micro-omgeving te imiteren, en op die manier het gedrag van de cellen te sturen.

Elektrische prikkels en beweging

Verder zijn ook actieve prikkels belangrijk voor het functioneren van bepaalde weefsels, zoals spiercellen of hartcellen die elektrische prikkels nodig hebben. Dankzij microfabricage-technologie is het mogelijk om in de microfluïdische chips elektrodes te integreren die elektrische prikkels kunnen afgeven aan de cellen in het kweekkamertje, net zoals dat in ons lichaam gebeurt. Dit is bijvoorbeeld belangrijk voor de ontwikkeling van een hart-op-een-chip. In het hart produceren gespecialiseerde hartspiercellen (pacemakercellen) elektrische impulsen die andere hartspiercellen

Het Microfab Lab van de TU Eindhoven is een geavanceerde microfabricagefaciliteit, inclusief een cleanroom, voor het maken van microsystemen voor organen-op-chips en aanverwant onderzoek. Het gele licht beschermt de gebruikte materialen tegen aantasting door UV-straling die in daglicht zit.

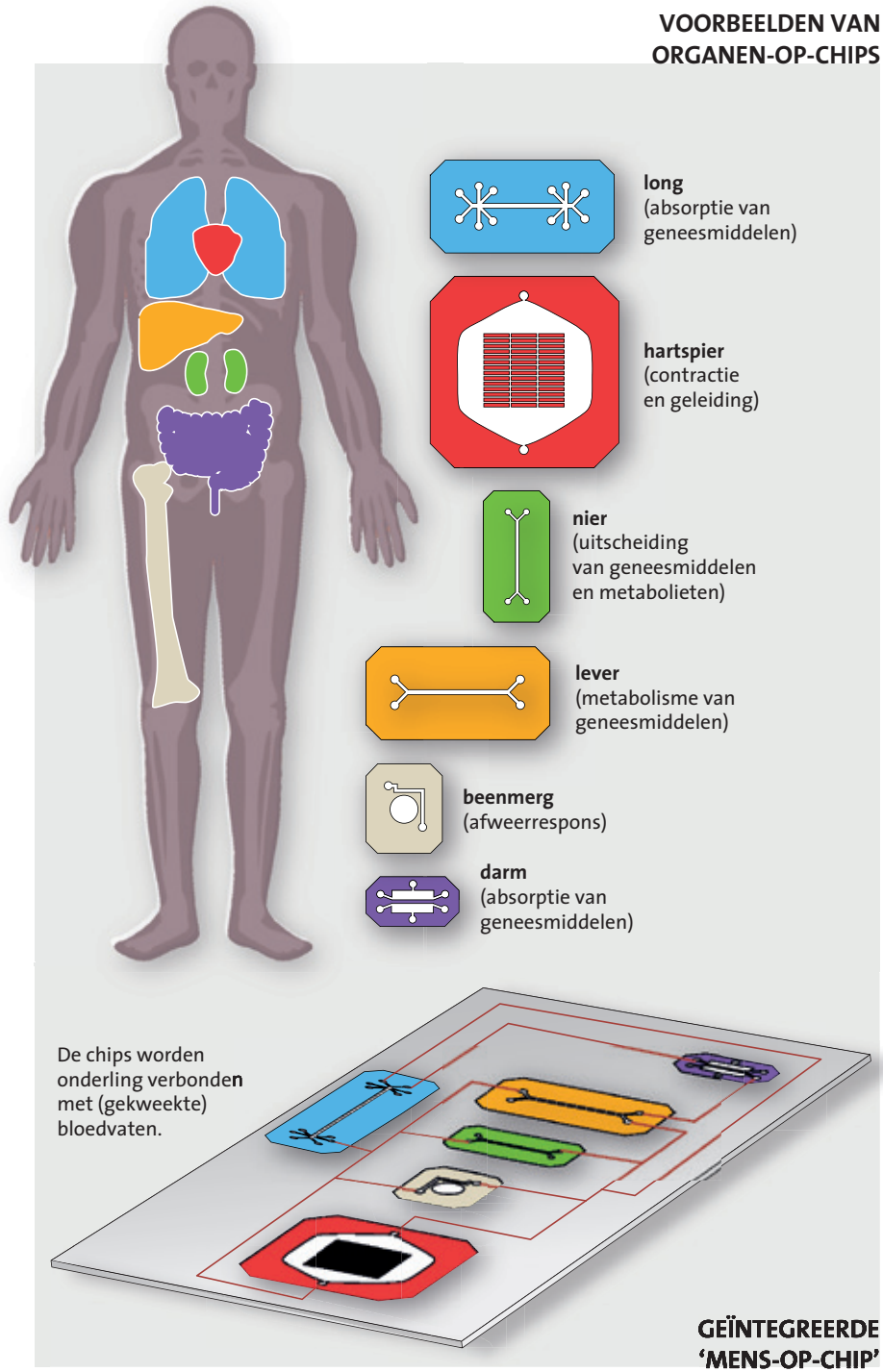
activeren. Hierdoor kan het hart gecoördineerd bloed naar andere organen pompen. In een chip wordt de pacemakerfunctie uitgevoerd door een elektrode die elektrische signalen produceert in de frequentie van de hartslag, zodat naastgelegen hartspiercellen gezamenlijk samentrekken.

Door flexibele materialen te gebruiken kunnen weefsels in beweging worden gebracht, of kunnen krachten worden uitgeoefend op de cellen. Zo kan bijvoorbeeld het ademen door de longen worden geïmiteerd in long-op-een-chip. De longcellen worden daarvoor gekweekt op een flexibel membraan dat met een luchtpompsysteem herhaaldelijk kan worden 'opgeblazen'. De beweging die hiermee wordt gerealiseerd, bootst die van de longblaasjes na tijdens het in- en uitademen (zie ook Het eerste orgaan-op-een-chip: de long).

Verbinden van kweekkamers

Tenslotte is het technisch mogelijk om heel complexe chips te maken, die bestaan uit meerdere aan elkaar gekoppelde mini-orgaanmodellen, elk in hun eigen specifieke micro-omgeving. De microkanalen met bloedvatcellen verbinden de compartimenten met mini-organen aan elkaar en zorgen voor de uitwisseling van stoffen en daarmee voor interactie tussen de organen, zoals dat in ons lichaam ook gebeurt. In het ultieme geval, maken we een 'lichaam-op-een-chip'.

Al deze technologieën bij elkaar zorgen ervoor dat organen-op-chips veel natuurgetrouwere modellen opleveren dan de huidige simpele petrischaal-gebaseerde celkweek. Hoe preciezer we op een chip de micro-omgeving van organen in het lichaam kunnen simuleren, des te betrouwbaarder worden de orgaan-op-een-chipmodellen voor allerlei toepassingen, zoals het beter leren begrijpen van de functie van gezonde en zieke organen, of het testen van medicijnen.



Zelforganisatie of sturing?

PROF. DR. MARCEL KARPERIEN EN PROF. DR. IR. JOS MALDA

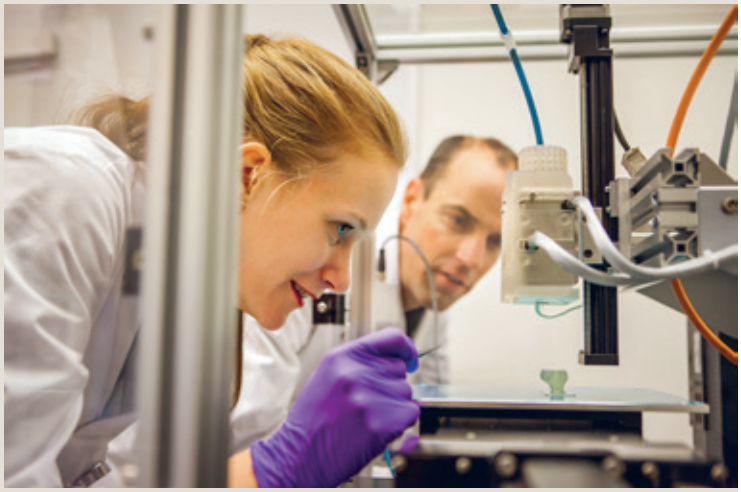
De organen in ons lichaam zijn opgebouwd uit een groot aantal verschillende celtypen die georganiseerd zijn in een voor elk weefsel typerende hiërarchische structuur. Denk hierbij aan verschillende weefselspecifieke cellen, endotheelcellen, zenuwcellen en lymfevatcellen om er maar een paar te noemen. Deze structuren zijn ontstaan door miljoenen jaren van evolutie en geselecteerd om de functies van het weefsel zo goed mogelijk uit te voeren. Voor het bestuderen van de werking (fysiologie) van een orgaansysteem in gezondheid en ziekte in een mini-orgaantje-op-een-chip is het van groot belang om deze hiërarchische weefselstructuur zo goed mogelijk na te bootsen. Maar hoe doe je dit?

Spontane organisatie

Grofweg zijn er twee verschillende benaderingen mogelijk om de natuurlijke structuur na te bootsen, ofwel door middel van zelforganisatie of door sturing. Tijdens de embryonale ontwikkeling organiseren de (stam)cellen die met elkaar een nieuw orgaansysteem gaan vormen, zich spontaan in de juiste hiërarchie. Dit proces zouden we kunnen nabootsen in een chip door bijvoorbeeld rechtstreeks weefselspecifieke stamcellen met endotheel- en zenuwcellen te combineren. Onder de juiste kweekcondities kunnen de cellen zich spontaan organiseren in de typische weefselarchitectuur en worden er kleine bloedvatstructuren gevormd. Nadeel van dit proces is dat het lang duurt en dat er geen controle is over de uiteindelijk gevormde structuren. Dit betekent dat elk mini-orgaantje-op-een-chip net even iets anders is. Hetzelfde geldt voor de testresultaten; de reactie van de mini-orgaantjes op een bepaalde testprikkel zal sterker variëren. Dit kan nadelig zijn als je condities met elkaar wil vergelijken in een groot aantal mini-orgaantjes.

Bioprinting

Dit proces van organisatie kan versneld worden door gebruik te maken van bioprinting. Bioprinting is een techniek waarmee levende cellen laag-voor-laag geprint kunnen worden in een 3-dimensionale structuur zonder dat zij hun functie of activiteit verliezen. Met deze techniek kan dus sturing worden gegeven aan de vorming van de hiërarchische weefselstructuur door de natuurlijke organisatie op cellulair niveau te reproduceren. Als bouwstenen worden in bioprinting verschillende soorten 'bioinkt' gebruikt, veelal een combinatie van levende cellen met een hydrogel. Deze hydrogels hebben de eigenschappen van de weefselspecifieke extracellulaire matrix, een soort 3-dimensionale steunstructuur, waarmee een mini-orgaantje nagebouwd kan worden. Vervolgens is het de beurt aan de geprinte cellen om tot een functioneel geheel te komen. Door sturing te geven aan het weefselvormingsproces via bioprinting zijn we dus in staat om veel sneller en meer reproduceerbaar complexe mini-orgaantjes te maken.



Bioprinting van levende cellen tot een driedimensionaal miniorgaantje in het laboratorium van UMC Utrecht.

Hoe weet je wat er gebeurt in een chip?

PROF. DR. ERIK DANEN EN PROF. DR. IR. LOES SEGERINK

Zoals voor elk modelsysteem, geldt ook voor een orgaan-op-een-chipmodel dat de waarde ervan bepaald wordt door de informatie die je eruit kunt halen. Hoe weet je wat er gebeurt in een orgaan-op-een-chip? Wat kun je allemaal meten? En hoe kun je daarmee begrijpen hoe het mini-orgaan zich ontwikkelt, hoe het functioneert en hoe het reageert op bijvoorbeeld geneesmiddelen of blootstelling aan schadelijke stoffen?

Het genexpressie-patroon vertelt of het miniorgaan lijkt op het echte orgaan

Genexpressie en metabolieten

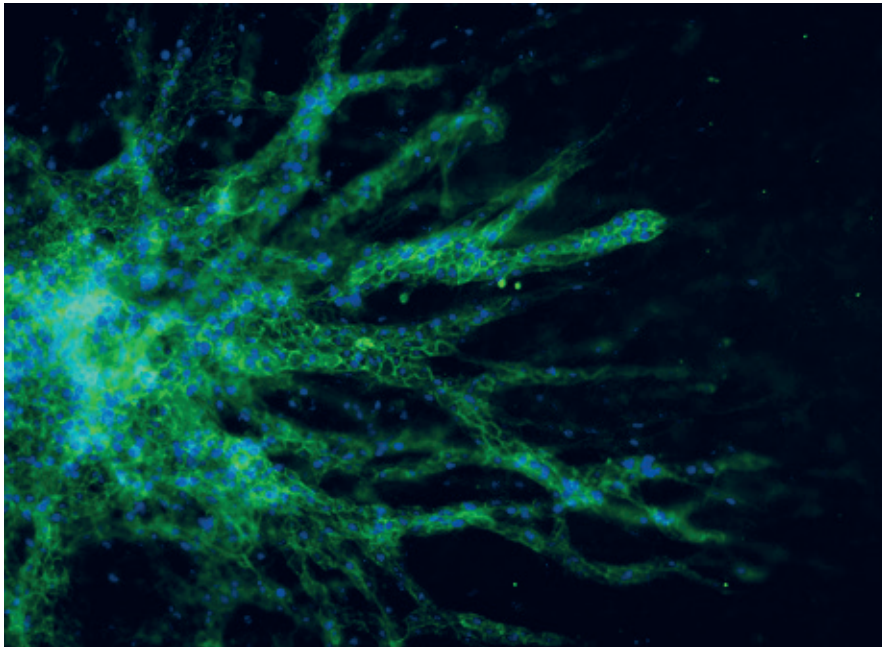
Het functioneren van een orgaan-op-een-chip wordt, net als bij een echt orgaan, bepaald door de individuele cellen en de samenwerking hiertussen. Of de cellen in een chip zich ontwikkelen tot een functioneel mini-orgaan kunnen onderzoekers bestuderen door naar het genexpressiepatroon te kijken. Dat betekent dat in kaart wordt gebracht welke genen in de cellen 'aan' en welke genen 'uit' staan. Dat patroon is voor elk orgaan anders en geeft dus informatie of het orgaan op de chip lijkt op het orgaan dat nagebootst moet worden.

Het bepalen van een genexpressiepatroon is tegenwoordig relatief eenvoudig. Na de ontrafeling van het menselijk genoom, begin 21ste eeuw, volgde een technologische revolutie die leidde tot de zogenaamde *next generation sequencing* technologie. Hiermee kan op een snelle en kosteneffectieve manier voor alle genen tegelijk worden bepaald of ze aan- of uitstaan door de hoeveelheid RNA voor elk gen te bepalen. Wanneer een gen aan staat en dus tot expressie komt, wordt het DNA afgelezen en vertaald in RNA. Het RNA wordt in de cel weer vertaald in een eiwit.

Het genexpressiepatroon kan ook worden gebruikt om te bestuderen hoe een orgaan reageert op veranderingen, bijvoorbeeld wanneer het wordt blootgesteld aan een geneesmiddel of schadelijke omgevingsfactoren. Voor het herhaaldelijk isoleren van RNA is wel voldoende celmateriaal nodig, iets waar een orgaan-op-chipmodel niet in grote hoeveelheden over beschikt omdat het juist een geminiaturiseerd orgaanmodel is. Gelukkig is de gevoeligheid van de technologie in de afgelopen jaren sterk toegenomen, en is er dus maar heel weinig RNA nodig om een genexpressiepatroon te bepalen. Ook andere moleculen in de cel kunnen inmiddels op basis van heel weinig celmateriaal geanalyseerd worden. Veelbelovend in dit opzicht is *metabolomics*, een technologie waarmee aan de hand van kleine moleculen (metabolieten) de chemische vingerafdruk wordt bepaald die cellulaire processen achterlaten. Naast de hierboven genoemde genexpressie geeft dit een uniek beeld van de weefselactiviteit onder normale of stressvolle omstandigheden.

Weefselbiopten

Voor het bepalen van genexpressiepatronen en het analyseren van metabolieten, moet het orgaan-op-chipmodel toegankelijk zijn voor het nemen van een monster, een biopt. Een biopt kan een stukje celweefsel zijn, net als bij een patiënt, maar ook een beetje vloeistof dat in de chip circuleert, vergelijkbaar met het nemen van een bloedmonster van een patiënt. Het voordeel van zo'n vloeistofmonster is dat het gemakkelijk meerdere keren is af te nemen zonder het mini-orgaan te beschadigen. Uit zo'n vloeistofbiopt kunnen losgeraakte cellen uit het weefsel en RNA moleculen en metabolieten die uit de cellen zijn gelekt, worden geïsoleerd. Verder kunnen signaalstoffen zoals cytokines en hormonen worden gedetecteerd, stoffen die de mini-organen produceren als reactie op veranderingen in de omgeving.



Met fluorescerende reportergenen kan de groei van cellen en de expressie van bepaalde genen in de cel gevolgd worden.

Barrièrefunctie en sensoren

In een orgaan-op-een-chip wordt vaak ook de barrièrefunctie van een orgaan gemeten. Deze functie geeft aan hoe gemakkelijk bepaalde stoffen uit de omgeving of bloed in het orgaan terechtkomen. Een voorbeeld hiervan is de bloed-hersenbarrière. In gezonde toestand zorgt deze barrière ervoor dat gevaarlijke stoffen vanuit het bloed niet zomaar in de hersenen terechtkomen en die beschadigen. Om van een orgaan-op-een-chip de barrièrefunctie te bepalen, kan een doorlaatbaarheidstest (permeabiliteittest) worden gedaan. Hiervoor wordt een bepaalde stof met een herkenbaar label, vaak een fluorescerend molecuul, aan de ene kant van de weefsellaag geplaatst en wordt bekeken hoeveel van deze stof er na verloop van tijd aan de andere kant terechtgekomen is.

Een andere mogelijkheid is om sensoren te integreren in de orgaan-op-een-chip, bijvoorbeeld door het plaatsen van elektroden aan beide kanten van de barrière. De weerstand, die zo wordt gemeten geeft aan hoe 'dicht' de barrière is, wat wordt bepaald door de onderlinge hechting van cellen in een cellaag. Met deze methode kan ook het ontstaan van 3D-structuren gemeten worden, zoals de vorming van darmvlokken (villi) in darmepitheel.

Er kunnen nog veel meer sensoren in een orgaan-op-een-chip worden ingebouwd. Zo zijn er sensoren, die de zuurgraad, de zuurstofspanning, de temperatuur en de vloeistofstroom monitoren. Met al deze gegevens is het gedrag van de miniorganen gedurende het experiment nauwkeurig te volgen.

Microscopie en fluorescerende eiwitten

Met de bovengenoemde technologieën is het mogelijk het gedrag van het orgaan op *weefselniveau* te bestuderen. In een orgaan-op-een-chip zitten, net als in een echt orgaan, verschillende celtypen. Om die afzonderlijk te kunnen analyseren, is een andere aanpak nodig, namelijk microscopie. Door het weefsel in het orgaanmodel te fixeren en met specifieke kleuringen te behandelen, kunnen de weefselstructuur en de aanwezigheid van belangrijke eiwitten in de cellen zichtbaar gemaakt worden onder de microscoop. Hiermee kunnen bepaalde eigenschappen van de verschillende celtypen in het orgaanmodel in beeld worden gebracht. Het nadeel is dat deze analyse maar eenmalig kan worden gedaan, omdat het proces van fixeren en kleuren onomkeerbaar is.

De laatste decennia zijn grote stappen gezet in de ontwikkeling van geavanceerde confocale lasermicroscopie waarmee individuele cellen in weefsel 'real-time' kunnen worden bestudeerd. Deze microscopen worden inmiddels door robots aangestuurd en maken razendsnel grote hoeveelheden detailopnamen. Een voorwaarde is dat het orgaan-op-een-chipmodel toegankelijk moet zijn voor de microscoop. Bovendien stelt microscopie eisen aan de materiaalkeuze (zie kader Wat zijn geschikte materialen voor de chips?) wat betreft

lichtdoorlaatbaarheid, zodat alleen transparante chips geschikt zijn.

Door de confocale lasermicroscopie te combineren met cellen waarin zogenaamde "*reportergenen*" in het genoom zijn ingebouwd, kunnen onderzoekers nog specifieker naar celprocessen kijken. Reportergenen bestaan uit het gen dat men bestudeert, gekoppeld aan een gen voor een fluorescerend eiwit. De cellen produceren daardoor een fluorescerende variant van het eiwit van interesse. Op die manier kan dus op het niveau van de individuele cel in het orgaan op de chip de productie en zelfs de locatie van het eiwit in de cel worden bestudeerd. Deze methode kan worden ingezet voor eiwitten die kenmerkend zijn voor een bepaalde activiteit van een celtype of die betrokken zijn bij een cellulaire reactie op stress.

Door alle bovenstaande methoden te combineren, is het mogelijk biologische processen met ongekende resolutie te bestuderen, zoals de werking van organen maar ook het verloop van ziekteprocessen of reactie op schadelijke stoffen. Vragen zoals 'welke cellen in een weefsel reageren op therapie?' en 'welke genen staan aan en uit in verschillende celtypen in een gezond of een ziek weefsel?' kunnen dan met een orgaan-op-een-chip-model worden beantwoord.

Organen-op-chips, wat kunnen ze en wat (nog) niet?

Wat kunnen organen-op-chips nu of binnenkort nabootsen?	Wat kunnen organen-op-chips nog niet nabootsen?
– de functie van veel gezonde individuele organen, zoals hart, long, lever, darm, huid, nier, bot, spieren en bloedvaten Voorbeeld: voor hart-op-een-chip is aangetoond dat alle belangrijke interne mechanismen die in het hart voor samentrekking zorgen aanwezig zijn en functioneren zoals in het menselijk lichaam.	– ontwikkeling van embryo's – geslachtsorganen – effect van ouder worden – reacties van het afweersysteem – het intacte brein
– het functieverlies van organen door ziekte of door opgelopen schade Voorbeeld: met long-op-een-chip is aangetoond dat een virusinfectie kan worden nagebootst en dat de infectie anders verloopt bij een long die niet 'ademt' dan bij een long met periodieke rek (om de ademhaling na te bootsen).	– schade aan cognitieve hersenfuncties, zoals geheugen – het ontstaan van kanker en uitzaaiingen – effect van straling
– de interactie van organen met elkaar. Organen-op-chips die op dit niveau van ontwikkeling zijn: long, hart, lever, darm, huid, spieren en bloedvaten Voorbeeld: in een studie waar een darm-op-een-chip, lever-op-een-chip en nier-op-een-chip aan elkaar werden gekoppeld kon nagebootst worden hoe snel nicotine (uit bijvoorbeeld kauwgom) opgenomen kan worden in het lichaam via de darm en weer uitgescheiden kan worden via de nieren.	– verspreiding van medicijnen door het hele lichaam – littekenweefselvorming in het hart na hartinfarct – herstel van het brein na een hersenbloeding

Wat is er nog nodig?

Er is nog zeer precieze kennis nodig van alle kleine stapjes in de verschillende biologische processen, zoals het ontwikkelingsproces van een embryo of het proces van veroudering en hoe dat beïnvloed kan worden. In sommige gevallen is het nog niet mogelijk de juiste cellen in het laboratorium te maken. Zo kunnen er tot nu toe slechts een paar simpele cellen van het afweersysteem worden gemaakt, terwijl dat een hele grote rol speelt bij dit soort complexe biologie. Veel vooraanstaand wetenschappelijk onderzoek is gericht op het verkrijgen van deze kennis, ook voor de toepassing in orgaan-op-een-chipmodellen.

Wat is de impact op de zorg en de ec

NORA FRANZEN, MSC EN PROF. DR. MAARTEN IJZERMAN

Stel je voor: mensen met kanker die een behandeling krijgen die toegesneden is op hun genetisch profiel, een levensmiddelenbedrijf dat ingrediënten checkt op het veroorzaken van allergieën, of instellingen voor de volksgezondheid die drinkwater beter kunnen monitoren op de aanwezigheid van gevaarlijke stoffen. Dit kan allemaal mogelijk worden dankzij nieuwe orgaan-op-chiptechnologie.

Hoewel deze technologie zich nog in een vroege fase van ontwikkeling bevindt, is er veel enthousiasme over de mogelijke toepassingen ervan. De meest veelbelovende zijn vooralsnog het personaliseren van medische behandelingen en het ontwikkelen van nieuwe geneesmiddelen binnen de farmaceutische industrie.

Kosten gezondheidszorg

Het onderzoeksbureau IMS (Institute for Healthcare Informatics) in de Verenigde Staten heeft geschat dat de wereldwijde uitgave voor medicijnen in 2020 maar liefst 1,26 biljoen euro bedraagt. Dit is een toename van 35% in de afgelopen vijf jaar. In deze markt is er grote behoefte aan meer efficiëntie bij de medicijnontwikkeling om de kosten van innovatieve behandelingen te verlagen, waardoor deze voor meer mensen toegankelijk zijn. Technologische innovaties, die dit mogelijk maken, zijn één van de grootste uitdagingen in de gezondheidszorg op dit moment.

De farmaceutische industrie, universiteiten en regelgevende instanties zijn continu bezig om medicijnen te verbeteren en zo snel mogelijk beschikbaar te maken. Hoewel de farmaceutische industrie de werkelijke kosten voor medicijnontwikkeling niet bekend maakt, wordt geschat dat deze variëren van 552 tot 2520 miljoen euro per nieuw medicijn.

Naast de directe kosten voor de onderzoekslaboratoria zijn er twee andere grote kostenposten: de lange ontwikkeltijd van een medicijn van circa 5 tot 10 jaar door lange en kostbare klinische studies, en de beperkte slaagkans op een werkzaam en veilig medicijn omdat er in elke onderzoeksfase weer mogelijke medicijnen afvallen. Vandaar ook de grote maatschappelijke belangstelling om de efficiëntie van het farmaceutische ontwikkelproces te verhogen. Dit kan door de kosten van onderzoek en ontwikkeling (R&D) te verminderen of door de slaagkans (van nieuwe medicijnen) te verhogen.

Voorspellend en toepasbaar?

Waarom is dit belangrijk voor de discussie over de impact van organen-op-chips? In een studie, gepubliceerd in het tijdschrift *Drug Discovery Today* in 2019, is een kwantitatieve schatting gemaakt van de mogelijke impact op basis van de analyse van directe kosten, ontwikkeltijd en slaagkans. De onderzoekers schatten in, dat het gebruik van organen-op-chips een kostenbesparing van 10-26% per nieuw medicijn kan realiseren. Dit zou het gevolg zijn van met name de afname van de directe kosten en de toename van het succespercentage van hits in de preklinische fase.

Uit diezelfde studie bleek, dat er nog veel vragen zijn over de toepassing en technologische barrières. Zo is het de vraag of organen-op-chips de efficiëntie van medische studies met patiëntengroepen

onomie?

kunnen verhogen. Ook is het de vraag of beter begrip van het ziektemechanisme kan leiden tot besparing van directe kosten van medische studies doordat patienten meer gericht geworven kunnen worden. Wel denken sommigen dat organen-op-chips kunnen bijdragen aan de ontdekking van kenmerken (biomarkers) voor bepaalde ziekten waardoor een bepaalde behandeling beter gekoppeld kan worden aan een patiënt die daar baat bij heeft. Echter, de mate waarin organen-op-chips voorspellend en toepasbaar kunnen zijn voor de fysiologische processen in het menselijk lichaam, valt nog te bezien.

Er zijn ook grote uitdagingen betreffende automatisering, standaardisatie en gebruiksvriendelijkheid, die van cruciaal belang zijn voor de implementatie van de technologie in een industriële setting. Technische behoeften en snelheid van adoptie zijn anders voor meer massale therapeutische toepassingen dan voor het identificeren van ziektemechanismen in de universiteit en zullen de impact van de technologie op onderzoek en ontwikkeling bepalen.

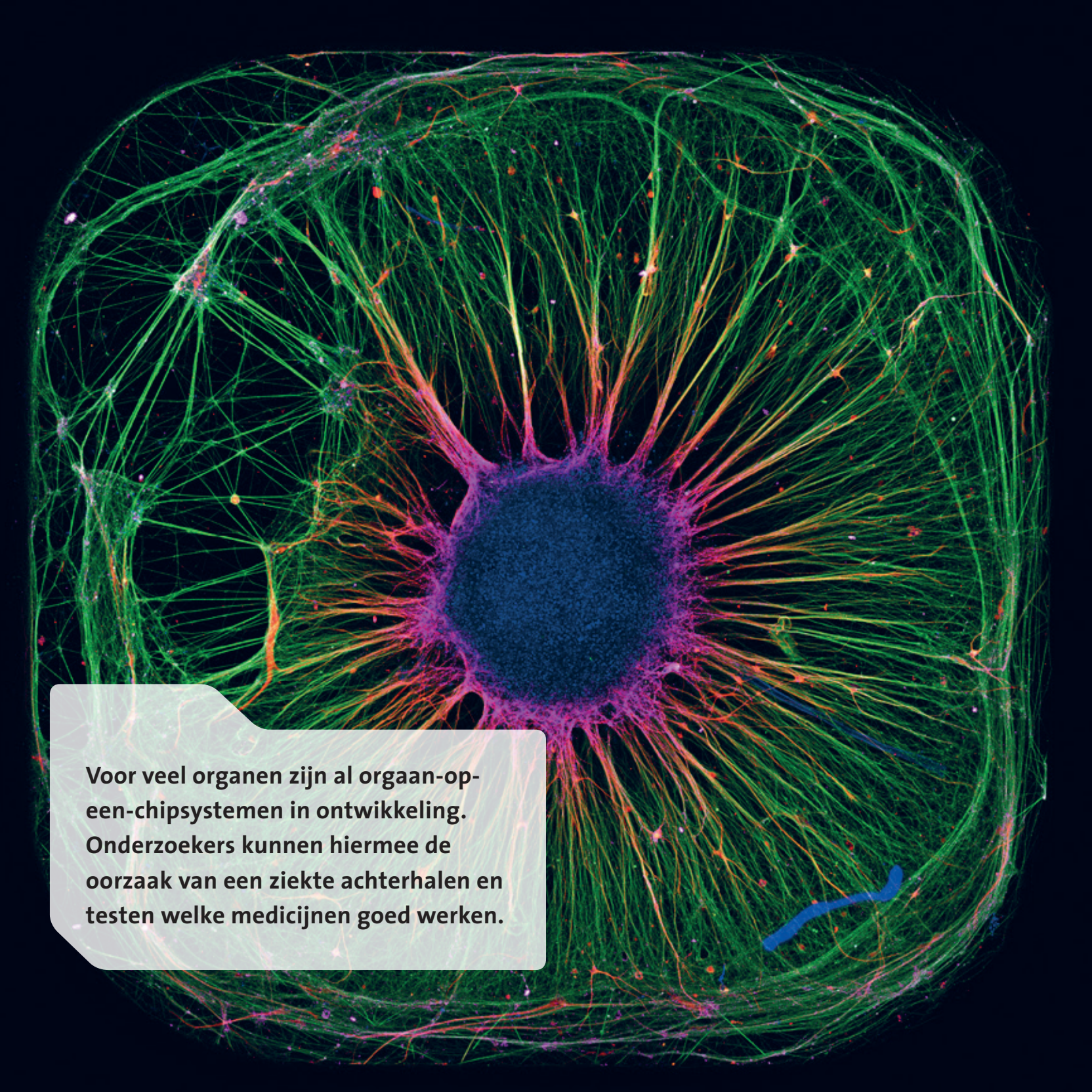
Transformatie

Nu de ontwikkeling van organen-op-chips snel vordert en het een serieus alternatief vormt voor diermodellen bij medicijnontwikkeling, zijn er voor daadwerkelijke toepassing nieuwe regels nodig. De strenge regelgeving waarmee de farmaceutische industrie te maken heeft, is op dit moment nog een belemmering voor het gebruik van de technologie. Het blijft de vraag hoe het gebruik van de huidige in-vitrosystemen en diermodellen kan worden veranderd. Als organen-op-chips alleen iets kunnen toevoegen aan de bestaande R&D-procedures blijft de impact beperkt. Kunnen ze echter conventionele protocollen vervangen, dan kan dat een transformatie teweegbrengen.

Voorlopig benadrukken de regelgevers dat het aan de industrie is om gegevens aan te leveren die inzicht geven in de betrouwbaarheid van organen-op-chips voor de bepaling van de effectiviteit en veiligheid van medicijnen. Wetenschappers moeten zich hiervan bewust zijn, zodat de aanpassing van de regelgeving parallel kan lopen met de verdere groei tot volwassenheid van de technologie.

De vraag is wie de technologische ontwikkeling aanstuurt en wie ervan profiteert. Is dat de industrie of de overheid of de burger/patiënt of een combinatie van deze partijen? Een dialoog over de impact van publieke investeringen in R&D en over kostenbesparing voor de maatschappij door verlaging van de geneesmiddelenprijs, is hiervoor noodzakelijk.

Kostenbesparing en medicijnen sneller en effectiever naar de patiënt. Kan dat?



Voor veel organen zijn al orgaan-op-een-chipsystemen in ontwikkeling. Onderzoekers kunnen hiermee de oorzaak van een ziekte achterhalen en testen welke medicijnen goed werken.

3

Waar kun je organen-op-chips voor gebruiken?

De belangrijkste toepassingsgebieden voor organen-op-chips zijn de ontwikkeling van geneesmiddelen en therapieën, toxicologische testen, en het ontrafelen van ziektemechanismen. Er zijn veel verschillende orgaan-op-een-chipmodellen in ontwikkeling. Het ene model wordt al bijna toegepast, met het andere beginnen de eerste proeven. Ook worden de modellen steeds complexer door toevoeging van het afweersysteem en het microbioom, wat belangrijke onderdelen zijn van de micro-omgeving voor een darm-op-een-chip. Ook al bootsen de cellen en weefsels op een chip de menselijke organen nog zo goed na, het blijven modellen en daarmee een benadering van de werkelijkheid.

Van kinderschoenen tot zevenmijlslaarzen

PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY EN
DR. JANNY VAN DEN EIJNDEN-VAN RAAIJ

Hoewel het eerste orgaan-op-chipmodel al 10 jaar geleden is beschreven, staat de orgaan-op-chiptechnologie als geheel nog steeds in de kinderschoenen. Orgaan-op-een-chipmodellen zijn nog niet breed omarmd door de farmaceutische industrie, en ze zijn ook nog niet geaccepteerd door de regelgevende instanties voor het testen van geneesmiddelen. Echter het recente gebruik van humane geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC) heeft de weg gebaand voor grote stappen voorwaarts: organen-op-chips staan nu op het punt om ingezet te worden voor een groot aantal biomedische toepassingen.

Brein-op-een-chip: zichtbaar zijn de axonen (zenuwceluitlopers, groen), synapsen (roze), celkernen (blauw) en zenuwcel met dendrieten (rood).

Toxiciteits- en ziektemodellen

Er zijn al verschillende voorbeelden van organen-op-chips, waaronder een handvol hiPSC-gebaseerde modellen, die duidelijk laten zien wat de potentie van de technologie is. Zo zijn er toxiciteitsmodellen, waarmee de veiligheid van medicijnen getest kan worden, bijvoorbeeld voor de nieren in een **nier-op-een-chip**, en voor het hart in een **hart-op-een-chip**. Het voorspellen van toxiciteit

van nanodeeltjes met **long-op-een-chipmodellen** is al in een ver gevorderd stadium.

Ook zijn er ziektemodellen ontwikkeld, waaronder een model voor trombose in **bloedvaten-op-een-chip**. Door een vernauwing in het vloeistofkanaaltje van de chip aan te brengen wordt slagaderverkalking (atherosclerotische plaque) nagebootst, waardoor zich bloedstolsels vormen net na de vernauwing. Voor een andere ziekte, genaamd erfelijke hemorragische telangiëctasie (HHT), is een **3D-bloedvat-op-een-chipmodel** ontwikkeld. Mensen met HHT hebben last van zwakke bloedvaten die tot ernstige bloedingen kunnen leiden. Met het bloedvatmodel wordt gezocht of bestaande medicijnen de zwakke vaten kunnen stabiliseren.

Hart-op-een-chipmodellen kunnen de essentiële processen van hartcellen nabootsen, zoals het samentrekken, de schommeling van calciumconcentraties en de elektrische actiepotentiaal die gezamenlijk de hartactiviteit bepalen. De modellen kunnen ook de hartcellen van patiënten met hartfalen bevatten. Momenteel worden deze modellen toegepast voor het testen van medicijnen om de ziekte te behandelen. De resultaten worden gebruikt om medicijnen te selecteren voor klinische trials.

Modellen voor longinfectie en astma zijn al zover ontwikkeld dat ze ingezet worden voor het ontdekken van nieuwe medicijnen. **Zenuwcellen- en gliacellen-op-een-chip,** gemaakt met cellen van patiënten met een (zeldzame) genetische zenuwaandoening zoals de ziekte amyotrofische laterale sclerose (ALS), worden gebruikt om de ziekteoorzaak te achterhalen. Ook vormen deze modellen de basis voor het screenen van mogelijke medicijnen tegen deze ziekte. Dit is belangrijk, want er is nog geen behandeling beschikbaar en er zijn ook geen geschikte diermodellen die deze ziekte daadwerkelijk kunnen nabootsen.

Een ander model is het **bloed-hersenbarrière-model**. Hiermee is bevestigd dat het antibioticum minocycline, dat veel gebruikt wordt voor de behandeling van acne, mogelijk zou kunnen werken tegen het ontstaan van schizofrenie, met name in families met aanleg hiervoor.

Kanker-op-een-chipmodellen, met daarin driedimensionaal gevormde bloedvaten worden gebruikt om het mechanisme van uitzaaiingen van kankercellen te bestuderen en te testen welke behandelingen dit proces tegengaan.

Darm-op-een-chipmodellen zijn nu in opmars. Gevouwen darmepitheel, de cellaag die de darmwand bedekt, kan gemaakt worden van volwassen menselijke stamcelorganoïden of van pluripotente stamcellen en kan worden uitgerold tot een laag (2D) om ze in orgaan-op-een-chip formaat te groeien. De stroming van het darmvocht langs het epitheeloppervlak kan worden nagebootst, en het darmmicrobioom en afweercellen kunnen worden geïntegreerd. Op deze manier is het mogelijk om te onderzoeken hoe een complex geheel van darm, microbioom en afweersysteem die met elkaar interacteren, een effect heeft op de gezondheidstoestand van de mens en hoe ziekte kan ontstaan.

Multi-orgaanchips

Hoewel de basisfuncties van verschillende organen inmiddels zijn nagebootst, en orgaanmodellen zijn gecombineerd tot multi-orgaanchips, blijft de grootste uitdaging om het vaatstelsel, zenuwen en afweercellen in de modellen te integreren. Het ultieme doel is om in deze modellen het inwendige milieu, de omgeving van de organen, constant te houden. Dat wordt homeostase genoemd en is van belang voor het goed functioneren van de organen in het lichaam.

Een andere uitdaging is het precies meten van de farmacokinetiek en farmacodynamiek in de multi-orgaansystemen. Bij farmacokinetiek wordt gekeken wat het lichaam doet met een geneesmiddel, hoe het middel wordt opgenomen, omgezet en verdeeld in de verschillende organen van het

Toepassing van orgaan-op-een-chipmodellen in de farmaceutische industrie voor medicijnontwikkeling.

Orgaan-op-een-chipmodel	Toegepast voor				
	identificatie, kwalificatie en selectie medicijnen	ontdekking nieuwe medicijnen	preklinische veiligheid	farmaco-kinetiek en farmaco-dynamiek	werkzaamheid medicijn
bloedvat, vaatstelsel-op-een-chip	■	■	■	■	
beenmerg-op-een-chip			■		
darm-op-een-chip		■	■		
long-op-een-chip		■	■		■
lever-op-een-chip			■	■	
oog-op-een-chip		■			
nier-op-een-chip				■	
lever-alvleesklier-op-een-chip	■				
lever-schildklier-op-een-chip			■		
huid-tumor-op-een-chip			■		■

Bron: ALTEX doi:14573/altex.200124

lichaam. Bij farmacodynamiek kijkt men waar een geneesmiddel (biochemisch) op aangrijpt, hoe de wisselwerking verloopt tussen de organen en welke processen of stoffen de werking verstoren. De verwachting is dat dit, naarmate het onderzoeksveld zich meer en meer ontwikkelt, op termijn mogelijk is.

Adoptie en acceptatie

De vele beschreven voorbeelden zullen naar verwachting de adoptie van orgaan-op-een-chiptechnologie door de industrie en de acceptatie door regelgevende instanties stimuleren. Dit zal de ontdekking van nieuwe, werkende medicijnen bevorderen. De 'early adopters' in de farmaceutische industrie hebben aangegeven de orgaan-op-een-chipmodellen al te gebruiken voor interne besluitvorming bij de ontwikkeling van nieuwe medicijnen; is een medicijn kansrijk of niet om verder te ontwikkelen? Echter, de meeste testen met orgaan-op-een-chipmodellen worden momenteel gedaan buiten het reguliere farmaceutische onderzoeksprogramma om. Dit onderzoek gebeurt in een precompetitieve setting: de onderzoeksfase voordat er concurrentie tussen verschillende industrieën optreedt. Vanuit een gezamenlijk belang werken gebruikers, ontwikkelaars en regelgevende instanties samen aan de orgaan-op-chiptechnologie om die in te zetten in allerlei toepassingen.

Samenvattend zijn de belangrijkste toepassingsgebieden van orgaan-op-een-chipmodellen toxiciteitstesten, medicijnontwikkeling (werkzaamheid en herbestemming van medicijnen) en het ontrafelen van ziektemechanismen. Personalisering van de modellen zal wellicht voor elk individu, of meer waarschijnlijk voor specifieke groepen, een behandeling op maat mogelijk maken door de effecten van medicijnen te relateren aan verschillen in geslacht, leeftijd en bevolkingsgroep.

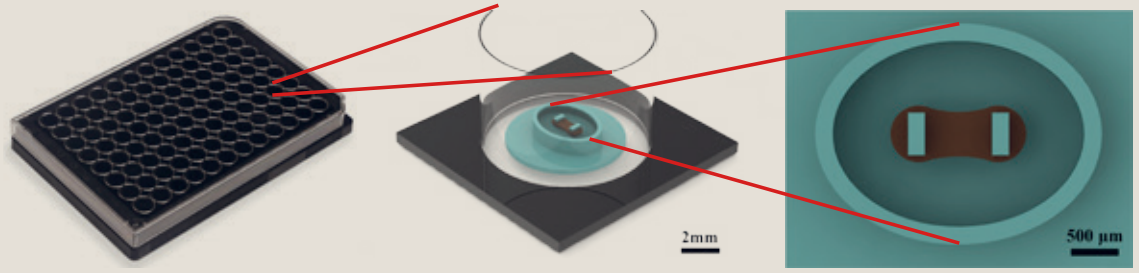
Hoe groei je een minihart-op-een-chip?

LAURA WINDT, MSC EN MILICA DOSTANIC, MSC

Om een miniatuurmodel van het menselijke hart-op-een-chip te maken, zijn verschillende celtypen nodig. Daarvoor kunnen cellen van een patiënt gebruikt worden als het gaat om onderzoek naar hartziekten, of gezonde cellen als het gaat om een beter begrip van de werking van het hart. De cellen die gebruikt worden komen van oorsprong niet uit het hart van een patiënt, maar uit urine, bloed of de huid. Hieruit worden cellen geïsoleerd die in het laboratorium worden omgezet naar stamcellen door ze te herprogrammeren. Door vervolgens specifieke stoffen toe te voegen kunnen de stamcellen zich ontwikkelen tot de benodigde cellen voor een minihart: hartspiercellen, bindweefselcellen en bloedvatcellen. De cellen worden gemixt in een verhouding die gelijk is aan die in het menselijk hart: 70% hartspiercellen, 15% bindweefselcellen en 15% bloedvatcellen. In totaal bestaat een minihart uit zo'n 16.000 cellen.

Naast de cellen is er een chip nodig die als leefomgeving van de cellen gaat dienen. De chip ter grootte van een paar millimeter wordt met hoge precisie in een cleanroom gemaakt waarin stof de handeling niet kan verstoren. Deze speciale gecontroleerde ruimte is nodig voor het produceren op microschaal. De chip, met paaltjes in het midden waarop het minihartje gaat groeien, is gemaakt van zacht, elastisch en celvriendelijk materiaal (PDMS). Om de cellen nu naar de chip te kunnen transporteren en ze bij elkaar te houden, wordt aan het celmengsel collageengel toegevoegd. Aangezien de chip heel klein is, is er maar 1 microliter van het gel-celmengsel nodig om de chip te 'vullen'. Op de chip klonteren de cellen samen, organiseren ze zich en vormen ze weefsel-achtige structuren. Het mini-hartje is dan ongeveer 1 millimeter lang; kleiner dan een speldenknopje. Doordat het gel-cel mengsel zich reorganiseert, vormt het minihart zich als een bundel om de elastische paaltjes. Door het gebruik van dit materiaal, in plaats van hard plastic zoals in conventionele modellen, voelt het voor de cellen alsof ze in een menselijk lichaam zijn, waardoor ze zich ook zo gedragen. Zodra het weefsel is gevormd om de paaltjes, gaat het uit zichzelf samentrekken, net zoals een echt hart. Om het minihart voor een paar weken in leven te houden om experimenten te kunnen doen, worden de cellen continu van zuurstof en verse voedingsstoffen voorzien, net zoals bloed dat in het menselijk lichaam doet.
Door sensoren en elektrodes te integreren in de chip, kan de 'hart'-activiteit gemeten worden, en het effect van medicijnen hierop. Zo kan er bijvoorbeeld getest worden of bepaalde behandelingen, zoals chemotherapie, schadelijke bijwerkingen hebben voor het hart.

Een minihart bestaat uit zo'n 16.000 cellen

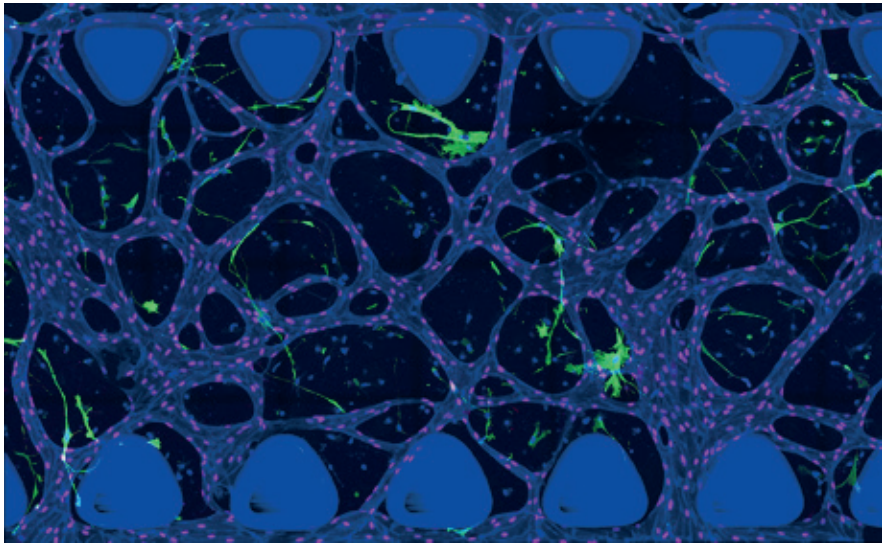


Een schematisch 3D-model van een hartweefselplatform met daarin een chip. Op de bodem van een plaat met 96 bakjes (een 96-wellsplaat) ligt een plastic laag van PDMS (blauw). Om de twee paaltjes is een hartweefsel gegroeid (bruin), omgeven door een ovaalvormige wand. Gebaseerd op onderzoek van het Leids Universitair Medisch Centrum en de Technische Universiteit Delft.

Bloedvaten-op-een-chip

PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY EN DR. VALERIA ORLOVA

Bloedvaten vormen een 60.000 kilometer lang netwerk van onderling verbonden kanalen in ons lichaam. Dit netwerk bestaat uit een grote aorta en slagaders die zuurstofrijk bloed vanaf het hart verder vervoeren. Deze vertakken zich vervolgens in kleinere slagaders die zich op hun beurt vertakken in een uitgebreid netwerk van haarvaten om de cellen in allerlei organen efficiënt van zuurstof en voedingsstoffen te voorzien. Het zuurstofarme bloed wordt vervolgens via een netwerk van haarvaten en aders naar het hart teruggestuurd. De diameter van de bloedvaten varieert van vijf tot tien micrometer in de haarvaten tot twee tot drie centimeter in de aorta. De binnenbekleding van de bloedvaten bestaat uit endotheelcellen. De buitenkant van kleine haarvaten is bedekt met pericyten, en die van de grotere bloedvaten met gladde spiercellen. Deze buitenste cellen stabiliseren het bloedvat en regelen de grootte ervan.



Bloedvatcellen van een patiënt met erfelijke hemorragische telangiectasie (HHT) op een bloedvat-op-een-chip. Endotheelcellen van het bloedvat (blauw) met celkernen (roze) en pericyten (groen). HHT-patiënten hebben afwijkingen in de bloedvaten waardoor deze heel zwak zijn en makkelijk bloeden.

Een slechte werking van de bloedvaten kan leiden tot veel verschillende ziekten, waarbij allerlei organen, zoals het hart, de hersenen, de longen en de darmen kunnen worden aangetast. Daarnaast zijn mutaties in genen die afwijkingen veroorzaken in endotheelcellen, pericyten en gladde spiercellen, gekoppeld aan een reeks van vasculaire aandoeningen. Daarom kunnen therapieën die de gezondheid van de bloedvaten verbeteren, helpen om orgaanziekten te voorkomen of te behandelen.

Bloedvaten namaken

Uit elk individu kunnen tegenwoordig menselijke geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC's) worden gemaakt en gebruikt om alle celtypen van het lichaam van te maken (zie Waar komen de cellen vandaan?). Die hiPSC's zijn de basis voor het kweken van de celtypen die nodig zijn voor de bouw van bloedvaten op een microfluïdische chip. In de vloeistofkanaaltjes van de chip worden eerst de endotheelcellen geïntroduceerd, waarna pericyten of gladde spiercellen worden toegevoegd om het bloedvat te vormen.

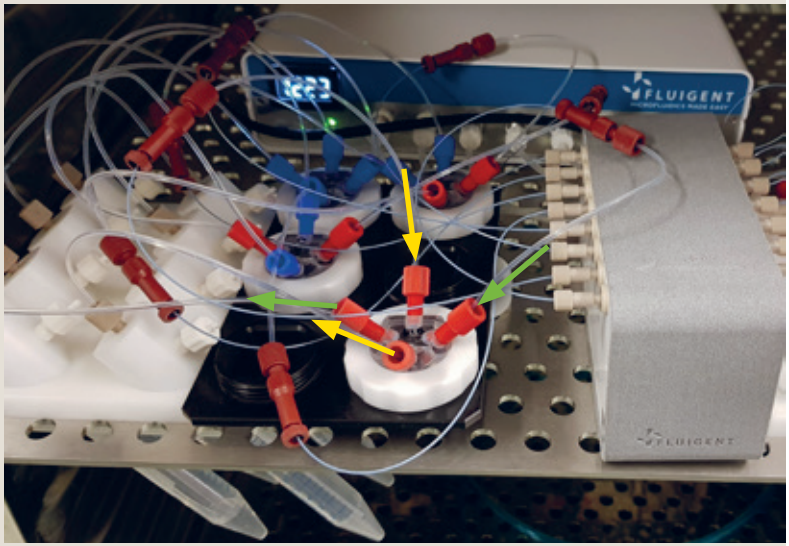
Leidse onderzoekers hebben bloedvaten van verschillende diameters kunnen namaken; kleine bloedvaten van 10 tot 20 micrometer in diameter tot grote bloedvaten en aders van 300 tot 500 micrometer in diameter. Met zeer nauwkeurige pompjes kunnen de bloedvaatjes van namaakbloed worden voorzien en zo kan ook de vloeistofstroom in de vaten worden nagebootst. Door deze chips onder een microscoop te plaatsen is te volgen hoe de cellen zich ontwikkelen en bewegen. De cellen plakken aan elkaar en vormen aftakkingen met een holte in een netwerk, net als echte bloedvaten in het lichaam. Dit is heel belangrijk, omdat het gedrag inzicht geeft in het al dan niet goed functioneren van de bloedvaten en wat er veranderd moet worden om dit te corrigeren. Met deze bloedvatmodellen kunnen onderzoekers verschillende vaatziekten bestuderen en zoeken naar behandelingen.

Borstkanker-op-een-chip

DR. DIK VAN GENT EN PROF. DR. JOHN MARTENS

De beweeglijkheid van tumorcellen kan worden onderzocht in het chipmodel

Zou het niet mooi zijn als van iedere borstkankerpatiënt precies bekend zou zijn of er kans is op uitzaaiingen? En als er al uitzaaiingen zijn, welke therapie dan het best aanslaat? Op dit moment komt het nog te vaak voor dat behandelingen gestart worden die helemaal niet noodzakelijk zijn of waar de tumor niet op reageert. Overbehandeling heet dat. Hierdoor ondervindt de patiënt wel de bijwerkingen, maar heeft geen enkele baat van de behandeling. Vervelend en onnodig voor de patiënt, maar eveneens een belasting van de gezondheidszorg en dus van de maatschappij.
Over deze belangrijke vragen breken onderzoekers zich al tientallen jaren het hoofd. Het klinkt simpeler dan het is. Om te kunnen bepalen of een borsttumor uitzaaicapaciteit heeft of gevoelig is voor een behandeling, moet eerst een stukje van die tumor in het laboratorium gekweekt kunnen worden. De omstandigheden waaronder die tumor in het laboratorium groeit, moeten zo veel mogelijk hetzelfde zijn als in het lichaam. Om dit te bereiken kweken onderzoekers van het Erasmus MC in Rotterdam kleine stukjes borsttumor op een chip, waar het weefsel onder nauwkeurig gecontroleerde omstandigheden doorgroeit terwijl voedingsstoffen continu worden aangevoerd en afvalstoffen worden afgevoerd. Het is hen gelukt om die stukjes tumor enkele weken te laten groeien, precies zoals dat ook in het lichaam gebeurt. De volgende stap is om verschillende behandelingen, zoals hormonale therapie, chemotherapie en combinatietherapie precies na te bootsen op een chip, zodat de modellen kunnen voorspellen hoe de tumor in de patiënt op de therapie zal reageren. In het huidige chipmodel kan ook onderzocht worden of tumorcellen beweeglijk zijn, wat er op kan duiden dat ze kunnen uitzaaien.
Om te bepalen of tumorcellen zich door het lichaam kunnen verplaatsen en zich in een ander orgaan kunnen huisvesten, zijn complexere chips vereist. De chip met het stukje borsttumorweefsel moet dan via gekweekte bloedvaten verbonden worden met een chip met gezonde organen erop. Dit type onderzoek ligt verder in de toekomst, maar is wel in ontwikkeling. De verwachting is dat er uiteindelijk test- en meetmodellen beschikbaar komen, waarin parallel de uitzaaicapaciteit en de gevoeligheid van de tumor voor alle beschikbare behandelingen uitgetest kan worden. Zo kunnen arts en onderzoeker vooraf bepalen of een behandeling überhaupt noodzakelijk is en, zo ja, welke behandeling voor de patiënt dan de beste optie is.



Een opstelling om tumorplakjes te kweken. Het kweekmedium stroomt van de buisjes rechts via de chip (zwarte plaat in het midden dat het tumorplakje bevat) naar de buisjes links.

Neusbloedingen

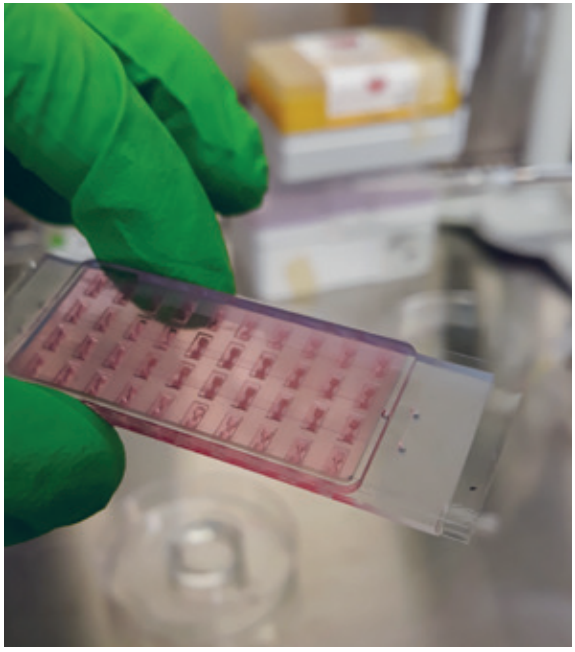
Een van die vaatziekten die in het Leids Universitair Medisch Centrum samen met het St Antonius Ziekenhuis in Nieuwegein bestudeerd wordt met een bloedvat-op-een-chip gemaakt van patiëntcellen, is erfelijke hemorragische telangiectasie (HHT). HHT-patiënten lijden aan zware en terugkerende neusbloedingen die meerdere malen per week kunnen voorkomen en minutenlang duren met gemiddeld een halve liter bloedverlies per keer. De enige echt succesvolle behandeling die de ernst van de bloedneuzen vermindert, is het vervangen van het neusslijmvlies (het slijmvlies in de neusholte) door een stukje huid als transplantaat. Omdat de therapeutische mogelijkheden zeer beperkt zijn, is er veel interesse in de ontwikkeling van een in-vitromodel voor deze ziekte dat kan worden gebruikt om nieuwe geneesmiddelen te selecteren die de bloedvaten bij HHT-patiënten herstellen. Hiervoor zijn van deze patiënten eerst hiPSC's gemaakt, die vervolgens zijn gedifferentieerd tot vaatcellen om een HHT-bloedvat-op-een-chipmodel te maken. De bloedvaten op de chip zijn net als bij HHT-patiënten onstabiel en gevoelig voor 'bloedingen'. Het HHT-bloedvat-op-een-chipmodel wordt nu gebruikt om te zoeken naar betere geneesmiddelen om neusbloedingen bij HHT-patienten te verminderen.

Deze aanpak kan ook worden gebruikt voor andere ziekten die worden veroorzaakt door een defecte bloedvatfunctie. Het toevoegen van bijvoorbeeld hartspiercellen of zenuwcellen aan het bloedvat-op-een-chipmodel zou kunnen helpen om de onderliggende mechanismen voor ziekten zoals hartfalen en vasculaire dementie te ontdekken en betere therapieën te vinden.

Hart-op-een-chip

PROF. DR. ROBERT PASSIER EN
PROF. DR. JOLANDA VAN DER VELDEN

Het menselijk hart klopt in rust gemiddeld ongeveer 60 tot 70 keer en tijdens zware inspanningen wel 200 keer per minuut, waarbij het 25 tot 45 liter bloed rondpompt. Deze topprestatie kan geleverd worden door een nauwkeurig gereguleerd proces. Eerst produceren pacemakercellen elektrische signalen, die via geleidingscellen worden verspreid naar hartspiercellen volgens een vast patroon. Dit resulteert in het gecoördineerd samentrekken van de hartspiercellen in de boezems en de kamers van het hart. Het is dan ook niet verrassend dat verstoringen in het genereren van elektrische impulsen, geleiding van het signaal of het samentrekken van hartspiercellen, kunnen leiden tot levensbedreigende situaties.



myHeart-on-Chip: een op hiPSC-gebaseerde hart-op-een-chip om hart-bloedvatinteracties en bloedstroompatronen te bestuderen. Elk bakje bevat een minihartje.

Hartfalen

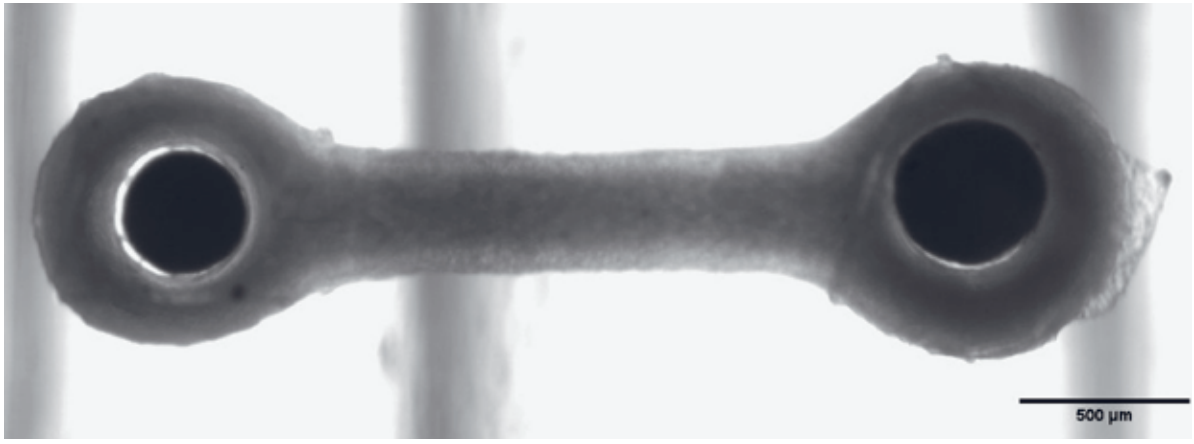
Hart- en vaatziekten is een verzamelnaam voor aandoeningen aan hart en vaten. Dat kan variëren van een ziekte waarbij slechts één gen is aangedaan tot een multifactoriële ziekte met een falend hart als eindresultaat, bijvoorbeeld een hartinfarct als gevolg van dichtslibbende vaten. Risicofactoren dragen niet altijd in dezelfde mate bij aan het ziektebeeld. Hartfalen betekent niet alleen dat hartspiercellen minder goed samentrekken, maar ook dat de hartspiercellen slecht ontspannen waardoor het hart minder goed gevuld wordt met bloed.

De complexiteit en de verschillende vormen van hart- en vaatziekten maken het zeer uitdagend om deze aandoeningen te behandelen, laat staan te genezen. Alhoewel de huidige ziektemodellen, veelal proefdieren, ons veel hebben geleerd over de mogelijke mechanismen die verantwoordelijk zijn voor het ontstaan en verloop van hartziekten, is extrapolatie naar de mens zeer lastig gebleken. De werking van het hart en het ziekteproces in dieren kunnen sterk verschillen van de mens (ter illustratie: het muizenhart klopt ongeveer 7 à 8 keer sneller dan het menselijk hart). Hierdoor blijven nieuwe succesvolle behandelingen van hartpatiënten vaak uit. Naast proefdieren biedt onderzoek aan bijvoorbeeld hartspierweefsel van patiënten – verkregen tijdens open hartoperaties – de mogelijkheid om ziektemechanismen te bekijken in de mens door zowel moleculaire als functionele studies te verrichten (zoals het samentrekken en ontspannen van hartspiercellen). Echter het hartweefsel kan maar op één moment in het ziekteproces verkregen worden en een goede controlegroep ontbreekt.

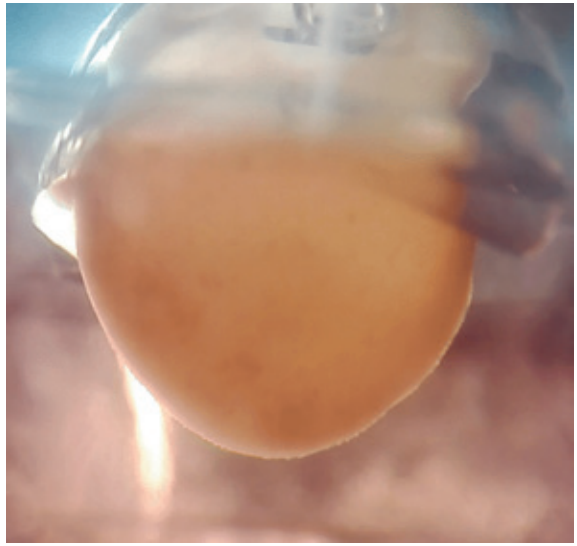
Er is een sterke behoefte aan andere testmodellen die lijken op het hart van de mens, en die gebruikt kunnen worden om ziekteprocessen te onderzoeken tijdens het verloop van de ziekte. Onderzoekers van het Leids Universitair Medisch Centrum, het Amsterdam Universitair Medisch Centrum en de Universiteit Twente werken met elkaar samen aan de ontwikkeling van dergelijke nieuwe modellen.

Stamcellen

Het gebruik van hiPSC's (zie Waar komen de cellen vandaan?) biedt de mogelijkheid om hartweefsel van de patiënt na te bouwen. De meeste celtypen van het hart, zoals hartspiercellen (boezem, kamer), pacemakercellen, bloedvatcellen en bindweefselcellen, kunnen van hiPSC's worden gemaakt. Door deze cellen te kweken op microfluïdische chips kunnen harten-op-chips gemaakt



Bovenaanzicht van 3D hartweefsel gemaakt van humane stamcellen dat zich gevormd heeft om twee elastische micropaaltjes (bovenkant is zwart gemaakt). Door de samentrekkingskracht van het hartweefsel worden de twee micropaaltjes naar elkaar toegebogen. Deze beweging wordt met een camera vastgelegd zodat de kracht berekend kan worden.



Minihartje met een echt hartkamertje dat pompt.

worden om moleculaire, celbiologische en functionele aspecten van hartweefsel 'real-time' te bestuderen. Maar hoe ziet een ideaal hart-op-een-chip eruit en wat kan eraan gemeten worden? Is het voldoende om hartcellen in een laag (2D) te kweken of zijn juist weefselstructuren (3D) noodzakelijk? Hoe kan het menselijk hart, of bepaalde aspecten ervan, zo goed mogelijk worden nagebootst?

Voor het bestuderen van bepaalde genetische hartritmestoornissen of neveneffecten van medicijnen, is een enkele laag hartspiercellen, die gekweekt wordt in een chip met sensoren voor het meten van elektrische signalen, een zeer betrouwbaar testmodel. Bij complexere, multifactoriële hartziekten kan men ervoor kiezen om slechts een deel van het ziekteproces te bestuderen als het volledig nabootsen niet uitvoerbaar is (zoals bij een hartinfarct).

Minispiertjes en minihartjes

Voor het bestuderen van hartziekten waarbij de pompfunctie van het hart is verminderd, heeft het de voorkeur om hartcellen te gebruiken voor het vormen van 3D-hartweefsels, die qua organisatie en functie meer lijken op volwassen hartweefsel. Door het 3D-hartweefsel, een soort minispierbundel, als een ring om elastische micropaaltjes te kweken (zie Hoe groei je een minihart-op-een-chip?), kan de mate van buiging van deze paaltjes door de samentrekkingskracht van het hartweefsel via video-opnames vastgelegd en vervolgens berekend worden. Het meten van de samentrekkingskracht is zeer informatief voor het bepalen van het ziektebeeld en de effecten van medicijnen. Het is echter geen directe maat voor de pompfunctie van het hart. Sinds kort is het mogelijk om een kloppend 3D-minihartje te maken, bestaande uit één hartkamer, waarbij zelfs de uitstoot van vloeistof via de microfluïdische kanaaltjes in de chip gemeten kan worden.

Deze ontwikkelingen zijn veelbelovend. Er moet nog wel aangetoond worden dat deze complexe 3D-minihartjes ook daadwerkelijk een toegevoegde waarde hebben. Kunnen deze modellen een realistisch beeld geven van hartziekten en leidt dit tot betere behandelingen van hartpatiënten? Zijn deze modellen beter geschikt dan huidige diermodellen of een goede aanvulling voor het beantwoorden van specifieke onderzoeksvragen? Zijn aanpassingen nodig om de werking van het menselijk hart en het ontstaan van ziekten accuraat na te bootsen, bijvoorbeeld meerdere compartimenten, weefselorganisatie, kleppen, druk, nabootsen van andere aandoeningen (co-morbiditeiten) die een rol spelen in het ziekteproces van hart- en vaatziekten, etc.? Om al deze vragen te beantwoorden is een multidisciplinaire samenwerking nodig en een goede vergelijking met de huidige testmodellen (zowel *in vitro* als *in vivo*) en hartspierweefsel van de mens.

Spier-op-een-chip

DR. PIM PIJNAPPEL EN DR. JESSICA DE GREEF

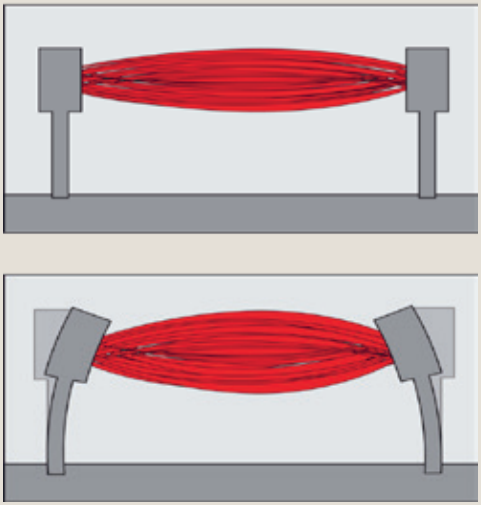
Hoewel er meer dan 700 spierziekten bekend zijn, is voor slechts enkele van deze ziekten een behandeling beschikbaar. Een belangrijke reden hiervoor is het ontbreken van modellen voor menselijke skeletspieren voor wetenschappelijk onderzoek. Onderzoekers van het Erasmus Medisch Centrum en het Leids Universitair Medisch Centrum werken daarom samen aan een driedimensionaal model van menselijke skeletspieren.

Spiercellen maken

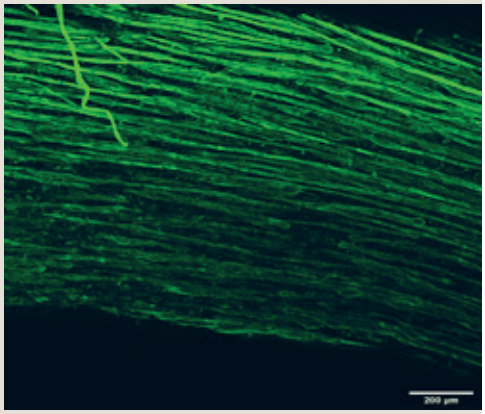
Voor het spiermodel worden de spiercellen in het laboratorium gemaakt uit geïnduceerde pluripotente stamcellen afkomstig van huidcellen van een patiënt. Vervolgens worden de spiercellen gemengd met een vloeibare gel (welke onder andere de bloedstollingsfactor fibrinogeen bevat) die tussen twee flexibele paaltjes op een chip wordt gegoten. Zowel de paaltjes als de chip zijn gemaakt van het polymeer polydimethylsiloxaan dat celvriendelijk is. Na het toevoegen van trombine, een enzym dat fibrinogeen omzet in fibrine, wordt een fibrinenetwerk gevormd waardoor de gel hard wordt. De spiercellen groeien verder in deze gel en vormen uiteindelijk spiervezels (meerkernige cellen).

Spiervezels vormen

Omdat spiercellen graag samentrekken, gaan ze tijdens de groei al aan de paaltjes trekken. Op deze manier organiseren ze zichzelf tot de parallelle spiervezels die samen een miniatuur spiertje vormen tussen de paaltjes. Afhankelijk van het model kan een minispier een paar millimeter tot een halve centimeter groot zijn. Met elektroden kunnen de spiertjes elektrisch worden gestimuleerd, waarna ze gecontroleerd samentrekken (contractie). Omdat de paaltjes flexibel zijn, zullen deze meebewegen met de contractie. Door de verplaatsing van de paaltjes met een hogesnelheidscamera te filmen, kan de kracht van het spiertje worden berekend. De organisatie van de contractiele eenheden (de sarcomeren) in het spiertje is te bestuderen door eiwitten in de spiercellen aan te kleuren. Verder kan de hoeveelheid spiereiwitten gemeten worden met antilichamen of met massaspectrometrie. Dit geeft informatie over de opbouw van het spiertje en toont mogelijke afwijkingen die betrokken zijn bij een specifieke spierziekte.



Het spier-op-een-chipmodel voor skeletspieren. De vervorming van de pilaren na spiercontractie wordt gemeten met een camera. Daaruit kan de kracht van het spiertje worden berekend.



Parallelle lange spiervezels in een menselijke spier-op-een-chip. Met een antilichaam is het titine-eiwit groen aangekleurd. Dit eiwit is onderdeel van de contractiele eenheid van het spiertje, de sarcomeer. Wanneer meerdere sarcomeren tegelijktijdig samentrekken, ondergaat de spier een contractie.

Nieuwe behandelingen

Met dit spiermodel kan het verloop van een spierziekte worden bestudeerd, en kunnen ook nieuwe behandelingsmethoden voor individuele patiënten worden getest. Dat laatste is een belangrijk thema. De ervaring leert namelijk dat er grote verschillen bestaan tussen individuen waardoor deze zeer wisselend kunnen reageren op een behandeling. Het spiermodel maakt het mogelijk om behandelingen te selecteren waar elke afzonderlijke patiënt baat bij zal hebben.

Darm-op-een-chip

DR. IR. HANS BOUWMEESTER, DR. SEBO WITHOFF EN DR. EVITA VAN DE STEEG

Een gezonde en goed functionerende darm is cruciaal voor een gezond leven. Wanneer de darm niet goed werkt, worden niet alleen voedingstoffen minder goed opgenomen, maar heeft dit ook nadelige effecten op het afweersysteem en andere organen. Die nauwe relatie tussen de darm, het afweersysteem, de hersenen en tal van andere organen wordt pas sinds kort onderkend. Daarnaast laat onderzoek van de laatste jaren zien dat er een belangrijke rol voor de darmbacteriën is weggelegd voor het goed functioneren van de darm.

Ondanks dat er al decennia lang onderzoek wordt gedaan aan darmen, is er nog veel onbekend over deze complexe interacties. Voornamelijk omdat er relatief eenvoudige laboratoriumopstellingen werden gebruikt, veelal voorzien van één celtype, om het spijsverteringsproces en het effect van darmbacteriën op de darmfunctie of darmaandoeningen te onderzoeken. De ontwikkeling van microfluïdische chips met darmweefsel – de zogenaamde darm-op-een-chip – maakt het nu mogelijk om de interactie van de darm met darmbacteriën en andere organen beter te onderzoeken. Dergelijke modellen worden ontwikkeld door onderzoekers van het Universitair Medisch Centrum Groningen, TNO en Wageningen Universiteit.

Functie en vorm

De belangrijkste taak van de darm is het opnemen van voedingsstoffen en het bijdragen aan een goede waterbalans. Tegelijkertijd moet de darm ervoor zorgen dat ziekmakende bacteriën en andere pathogenen niet binnendringen in ons lichaam. Deze op het oog moeilijk te combineren taken kunnen uitgevoerd worden doordat de darm er aan het begin anders uitziet dan aan het einde. Grofweg bestaat de darm uit drie delen: de dunne darm, de dikke darm en de einddarm, alle met specifieke functies en anatomische en fysiologische eigenschappen. Om het functioneren van een darm in gezonde en zieke mensen te kunnen onderzoeken zijn laboratoriummodellen voor elk van de delen van de darm nodig.

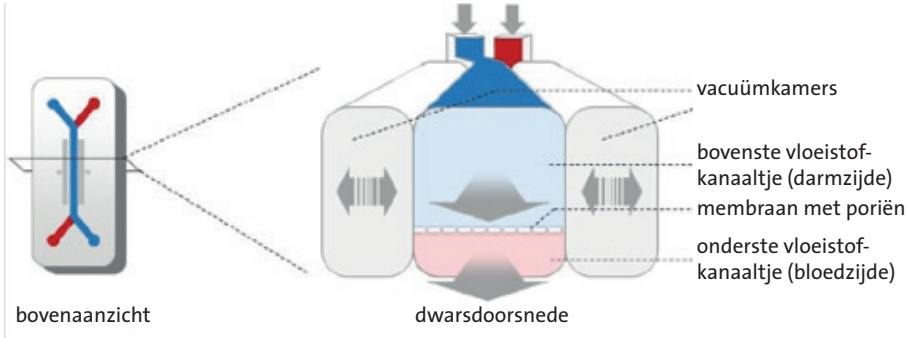
Dunne darm

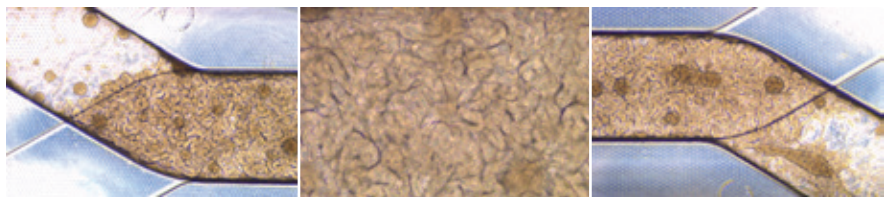
In de dunne darm worden de meeste voedingsstoffen opgenomen. Dit wordt mogelijk gemaakt doordat de darmwand (darmepitheel) in dit deel van de darm sterk geplooid is, waardoor er een groot oppervlak is om voedingsstoffen te absorberen. Deze darmplooien worden ook wel de crypte en villusstructuur genoemd. In dit deel van de darmen zijn nog niet zoveel darmbacteriën aanwezig. De vertering van het voedsel wordt vooral door enzymen uitgevoerd afkomstig van de maagwand en alvleesklier.

In het darmepitheel zijn vijf celtypen aanwezig: de enterocyten (cellen voor de opname van stoffen), Gobletcellen (produceren een beschermende slijmlaag: mucus), enteroendocriene cellen (zorgen voor afgifte van hormonen om de werking van de darm optimaal aan te sturen) en Paneth-cellen (belangrijk voor de afweer tegen lichaamsvreemde deeltjes). Diep in de crypten van de epitheellaag liggen de stamcellen waaruit deze celtypen continu ontstaan en die het darmepitheel vernieuwen.

Er zijn recentelijk protocollen ontwikkeld voor het kweken van menselijke darmcellen uit stamcellen in een laboratoriummodel. Na het kweken van deze cellen op microfluïdische chips is gebleken dat de vijf bovengenoemde celtypen terug te vinden zijn. Hoewel dat een goede basis vormt voor het maken van darmmodellen, is het nog niet geheel compleet.

Onze darmen zijn namelijk continu in beweging. Niet alleen passeert er een continue stroom





Schematische voorstelling van een darm-op-een-chip (gebaseerd op het ontwerp van Emulate Inc, Boston, MA, USA) en foto's van gekweekte minidarmen in zo'n chip (RUG/UMCG). Het bovenste microfluïdisch kanaal bootst het darmkanaal en het onderste een bloedvat na. De kanalen worden gescheiden door een poreus membraan waarop de epitheelcellen kunnen groeien. De microkanalen worden geflankeerd door vacuümkamers om de peristaltische beweging van de darm te simuleren.

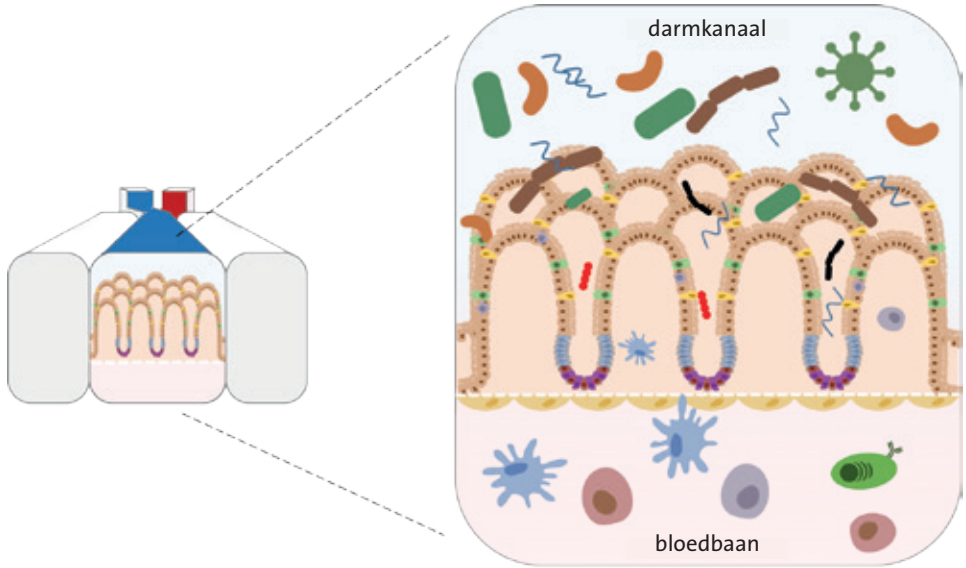
van deels verteerd voedsel, maar de darm trekt ook steeds samen (peristaltische beweging) om dit voedsel te transporteren. Daardoor worden darmcellen steeds opgerekt om daarna weer te ontspannen. Darmcellen reageren op deze bewegingen. In de darm-op-een-chipmodellen wordt dat nagebootst door een continue vloeistofstroom langs de cellen, en in sommige modellen worden de cellen zelfs opgerekt. Bijzonder is dat na het inzaaien van de menselijke darmcellen op deze chips, er mini-darmpjes, en na een aantal dagen zelfs darmplooien met crypten en villistructuur ontstaan. Deze 3D-structuur wordt niet gevormd onder statische condities.

Dikke darm

In de dikke darm zijn veel darmbacteriën (het darm microbioom) aanwezig. Deze bacteriën breken resterende voedselbestanddelen af en produceren essentiële vitamines (vitamine K) en vetzuren. Deze bijproducten zijn niet alleen de brandstof van darmcellen, maar hebben in ons hele lichaam een belangrijke functie voor onze gezondheid. Met name door de belangrijke rol van darmbacteriën in de dikke darm is het veel complexer om goede darm-op-een-chipmodellen voor de dikke darm te ontwikkelen.

In een klassiek laboratoriummodel overgroeien bacteriën vaak snel de darmepitheelcellen, waardoor dit model maar beperkte tijd gebruikt kan worden. Door gebruik te maken van een continue vloeistofstroom in een dikkedarm-op-chipmodel wordt deze overgroei voorkomen en kunnen bacteriën soms wel tot twee weken lang in het systeem gehouden worden. Een belangrijke eis aan het ideale dikkedarmmodel is dat zuurstof aan de binnenzijde (lumen) afwezig is. In de menselijke dikke darm bevindt zich geen zuurstof en veel darmbacteriën sterven zelfs als er zuurstof aanwezig is. De epitheellaag van de darm (bloedzijde) behoeft echter wel zuurstof. In ons lichaam wordt dit verzorgd door de toevoer van zuurstof via bloed. Dat wordt nu nagebootst in darm-op-een-chipmodellen waarbij de verschillende compartimenten (lumen- en bloedzijde) worden gescheiden door een permeabel membraan. Hierin worden epitheelcellen in het bovenste compartiment op het

Voedingsstoffen en eventueel afweercellen kunnen door de poriën in de onderkant van de epitheellaag de darm (lumen) bereiken.



membraan gekweekt en hierop kunnen bacteriën worden geënt onder zuurstofloze (of zuurstofarme) condities. Het onderste compartiment kan gebruikt worden voor aanvoer van zuurstofhoudend medium en eventueel afweercellen die ook van belang zijn voor een gezonde evenwichtstoestand in de darm (homeostase).

Darm in gezondheid en ziekte

Darmgezondheid gaat verder dan het goed opnemen van voedingsstoffen. Er zijn allerlei aandoeningen van de darmen, zoals verschillende soorten darmkanker, immuun-gemedieerde complexe chronische ziekten waaronder chronische darmontsteking (inflammatory bowel disease, IBD; ulceratieve colitis en de ziekte van Crohn), prikkelbare darmsyndroom (irritable bowel syndrome, IBS) en coeliakie (gluten-intolerantie). Deze ziekten kunnen nu nagebootst worden in darm-op-een-chipmodellen, door stamcellen te gebruiken die geïsoleerd worden uit patiënten (zie ook Genetische Diversiteit). Zowel bij opname van voedingstoffen als bij deze ziekten speelt de interactie van darmcellen met bacteriën een grote rol. Door gebruik te maken van patiënt-specifieke darmbacteriën kan ook de rol van het microbioom in ziekte en gezondheid in darm-op-een-chipmodellen verder onderzocht worden.

Ook de communicatie van de darm met andere organen is van groot belang. Er zijn zelfs indicaties dat sommige chronische ziekten een gedeeltelijke oorzaak hebben in een verstoord microbioom in de darm (bijvoorbeeld schizofrenie en de ziekte van Alzheimer). Om dit soort interacties te kunnen onderzoeken is het essentieel dat alle celtypen die een rol spelen in darmbiologie aanwezig zijn op de chip (epitheel, microbioom, afweercellen, endotheelcellen, fibroblasten) en dat deze darm gekoppeld kan worden aan de hersenen (darm-hersenen as), de lever (darm-lever as; voor metabolisme) en het hart (darm-hart as; korte keten vetzuren kunnen hartproblemen veroorzaken).

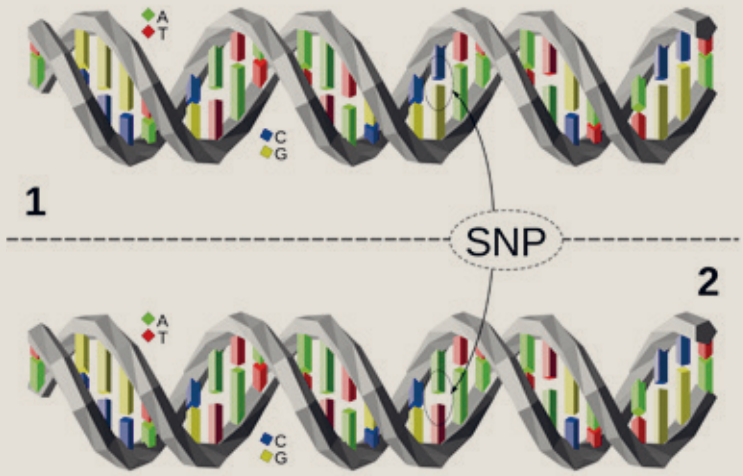
Hoe dit werkt op moleculaire en cellulaire schaal wordt nu onderzocht met nieuwe darm-op-een-chipmodellen die aan andere orgaan-op-een-chipmodellen gekoppeld kunnen worden.

Genetische diversiteit

DR. SEBO WITHOFF

Slechts 0,1% van de genetische informatie (het DNA) van een individu verschilt van dat van een ander willekeurig individu, dat geen familie is. Dit lijkt weinig, maar aangezien het DNA van een mens uit ongeveer 3 miljard bouwstenen bestaat, betekent dit dat elk individu 3 miljoen DNA-verschillen bij zich draagt ten opzichte van een ander individu. DNA heeft slechts vier verschillende bouwstenen: de nucleotiden adenosine, cytidine, guanosine en thymidine, die elkaar opvolgen in een lange keten.

SNPs kunnen de gevoeligheid voor medicijnen bepalen



Het kleinste verschil dat op DNA-niveau kan worden gemeten, is een verschil in één van de vier bouwstenen van het DNA. Dit verschil wordt een Single Nucleotide Polymorphism (SNP) genoemd.

Bouwstenen

Het kleinste verschil dat op DNA-niveau kan worden gemeten, is een verschil in één van de vier bouwstenen van het DNA. Dit verschil wordt een Single Nucleotide Polymorphism (SNP) genoemd. Deze SNPs kunnen overal in het DNA voorkomen, en dus ook in of nabij genen die coderen voor RNA (circa 5% van het DNA, zorgt voor aanmaak van eiwitten) waardoor de functie, respectievelijk het expressieniveau van de producten van deze genen kan veranderen. Met de opkomst van grote genetische studies en de oprichting van bevolkings-biobanken waar biomateriaal en patiëntgegevens worden bewaard, is het duidelijk geworden dat de genetische oorzaak van complexe ziekten met een ontspoord afweersysteem – zoals multipele sclerose, reuma, diabetes en coeliakie (glutenintolerantie) – voor een groot deel ligt in de aanwezigheid van tientallen tot honderden SNPs in het niet-coderende deel van het DNA van de patiënten. Deze 'niet-coderende SNPs' beïnvloeden het expressieniveau van genen (en niet de nucleotide-volgorde van deze genen wat de functie zou verstoren).
Een andere belangrijke bevinding is dat farmacogenetische studies hebben aangetoond dat SNPs de gevoeligheid voor medicijnen kunnen bepalen. In het meest extreme geval kan de aanwezigheid van een bepaalde SNP zelfs tot ernstige bijwerkingen leiden.

Individu-specifieke modellen

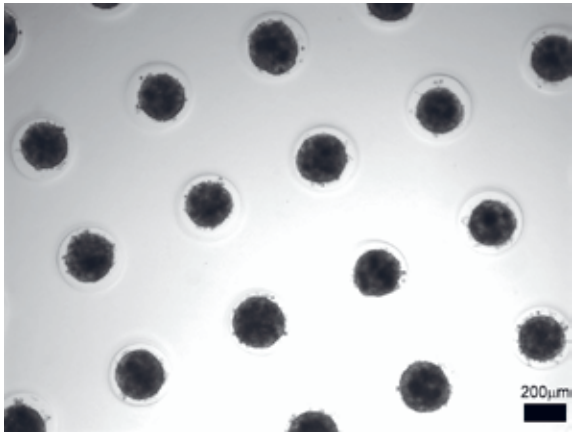
Vanwege de genetische diversiteit tussen individuen en tussen patiënten en gezonde mensen is het belangrijk om individu-specifieke modellen te ontwikkelen voor onderzoek naar ziekten, maar ook voor de individu-afhankelijke effecten van medicijnen (gepersonaliseerde geneeskunde). Dit kan door weefselspecifieke stamcellen te isoleren uit biopten of door hiPSC's (zie Waar komen de cellen vandaan?) te genereren – van zowel zieke als gezonde individuen – en deze te differentiëren naar het weefseltype van interesse. Orgaan-op-chipmodellen, gemaakt met deze weefsels, zijn het meest logische en veelbelovende platform om te onderzoeken waarom iemand wel of geen ziekte krijgt en welk medicijn werkt voor elke afzonderlijke patiënt.

Lever-op-een-chip

DR. GEURT STOKMAN, DR. ROELAND HANEMAAIJER EN PROF. DR. BOB VAN DE WATER

De lever speelt een belangrijke rol in de omzetting van zowel voedingsstoffen als geneesmiddelen en schadelijke stoffen. Daarnaast slaat de lever ook zelf bepaalde voedingsstoffen op. De meeste van de leverfuncties worden vervuld door hepatocyten, het meest voorkomende celtype in de lever. Daarnaast spelen de stellaatcellen (betrokken bij vetopslag en fibrose) en Kupffercellen (onderdeel van het afweersysteem) een rol wanneer de leverfuncties zijn verstoord.

Het omzetten van allerlei stoffen maakt de lever erg vatbaar voor schade. De vorming of aanwezigheid van toxische stoffen, of de opstapeling van een geneesmiddel of van vetten (steatose) in hepatocyten kan de normale leverfunctie verstoren, een ontstekingsreactie (hepatitis) veroorzaken door activatie van Kupffercellen, en uiteindelijk leiden tot celdood van hepatocyten en vorming van littekenweefsel door stellaatcellen (fibrose). Ook kunnen verschillende leverziekten leiden tot verlies van leverfunctie, waardoor voedingsstoffen, geneesmiddelen of schadelijke stoffen onvoldoende kunnen worden verwerkt door het lichaam.



Fase-contrast microscoopopname van enkele leversferoïden met een diameter van 150-200 µm, bestaande uit ongeveer 3.000-5.000 cellen, tijdens de kweekprocedure in bakjes op een plaat.

Vanwege de centrale rol van de lever, is het belangrijk om de functies goed te kunnen meten en te volgen. Welke stoffen zijn toxisch voor de lever en in welke hoeveelheid, welke medicijnen worden door de lever omgezet of hoe is een zieke lever weer te genezen? Omdat dit niet in mensen kan worden onderzocht, worden voor dit onderzoek cel- en diermodellen gebruikt.

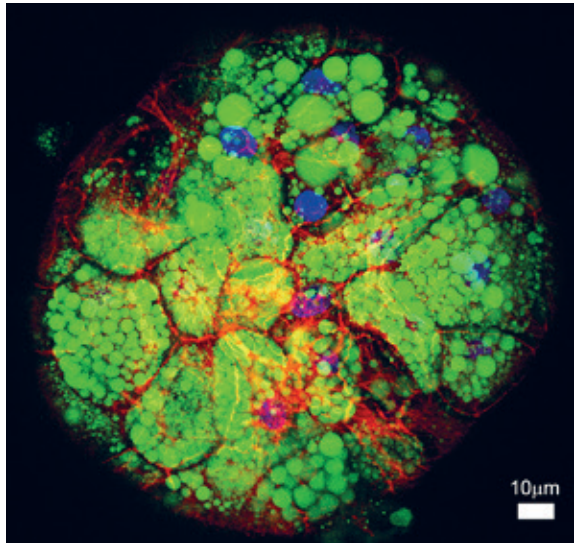
In de huidige celmodellen wordt vaak één enkel celtype bestudeerd. Dit beperkt de relevantie van het model omdat het de complexe interactie die optreedt tussen de verschillende celtypen in de lever niet laat zien. In diermodellen is deze interactie wel aanwezig, maar er zijn enkele verschillen tussen het metabolisme van mens en dier, bijvoorbeeld hoe hepatocyten omgaan met vetten, toxische stoffen en geneesmiddelen. Deze verschillen kunnen zorgen voor een onjuiste vertaling van de resultaten naar de mens, waardoor behoefte is aan een celmodel dat de lever van een mens zo goed mogelijk benadert.

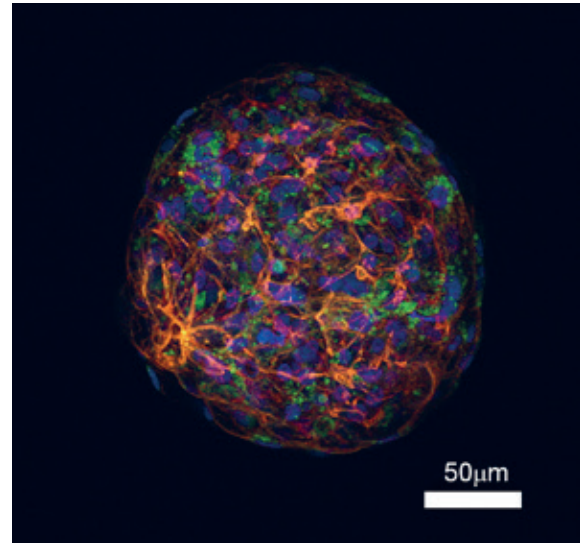
Sferoïden

De lever is niet eenvoudig na te bootsen vanuit losse opgekweekte cellen. In een platte plastic kweekschaal verliezen hepatocyten en andere cellen heel snel hun functie. Om deze functie zo goed mogelijk te behouden, moeten de kweekomstandigheden voor die cellen precies kloppen. Maar omdat er meerdere celtypen nodig zijn om de processen in de lever na te bootsen, en elk celtype zijn eigen eisen aan de kweekomstandigheden stelt, is dat een ingewikkelde puzzel.

Onderzoekers van TNO en de Universiteit Leiden werken samen aan een oplossing. Door nu de verschillende typen menselijke levercellen samen op te kweken tot een bolletje van cellen (een sferoïde) en er vloeistof langs te laten stromen die de

Confocaal microscoop-opnamen van leversferoïden met een diameter van ongeveer 150-200 micrometer (µm). Links: De Kupffercellen (groen), het actine-celskelet (rood) en celkernen (blauw) zijn gekleurd met fluorescerende markeringsstoffen. Rechts: Steatose in hepatocyten, zichtbaar gemaakt door het vet met een groen fluorescerende stof aan te kleuren. Het actine-celskelet (rood) en celkernen (blauw) zijn ook aangekleurd.





doorbloeding van de lever nabootst, blijven de sferoïden goed gevoed en functioneel. De grootte van de sferoïden (tussen de 150 en 300 micrometer) kan vrij eenvoudig worden bepaald door ze in holtes met de gewenste dimensie te kweken. Hierdoor kunnen er tegelijkertijd honderden losse sferoïden gevormd worden. De gebruikte hepatocyten, stellaatcellen en Kupffercellen zijn afkomstig van menselijke donoren. Ook worden hepatocyten uit hiPSC's gemaakt. De Kupffercellen zijn onderdeel van het afweersysteem dat voornamelijk in de lever voorkomt en ontstekingsreacties activeert bij leverschade. Door deze leverceltypen samen te kweken is het mogelijk om de complexiteit van een echte lever in een lever-op-een-chipmodel na te bootsen, inclusief de metabole processen die kenmerkend zijn voor de mens en relevant voor het onderzoek.

Leververvetting en leverfibrose

TNO gebruikt de leversferoïden voor onderzoek naar niet-alcoholische leververvetting, beter bekend onder de Engelse afkorting NAFLD: *non alcoholic fatty liver disease*. NAFLD is een aandoening waarvan het ontstaan sterk afhankelijk is van de leefstijl: een vet- en suikerrijk dieet, onvoldoende lichaamsbeweging, hoge bloeddruk en een verhoogde BMI. Het aantal patiënten met NAFLD neemt de laatste decennia snel toe bij zowel volwassenen als kinderen, en komt in Europa voor bij 25-30% van alle mensen. Kenmerkend voor NAFLD is steatose, dat kan leiden tot hepatitis, leverfibrose en uiteindelijk tot volledig verlies van leverfunctie. Er bestaan nog geen goede geneesmiddelen, mede omdat voor onderzoek naar nieuwe medicijnen nog geen modellen aanwezig zijn die goed kunnen voorspellen of een potentieel medicijn in patiënten effectief zal zijn. Leversferoïden kunnen daar verandering in brengen.

Toxische stoffen

De Universiteit Leiden bestudeert levertoxiciteit. De lever is het orgaan dat de meeste schade kan ondervinden van chemische stoffen, inclusief geneesmiddelen. Voor de toelating van nieuwe chemische stoffen en geneesmiddelen op de markt is het van essentieel belang te kunnen voorspellen of deze stoffen schadelijk voor de lever zijn.

Proefdieren hebben in het verleden vaak gefaald om levertoxiciteit van geneesmiddelen bij de mens te voorspellen.

De leverschade kan het gevolg zijn van een toxisch effect dat het geneesmiddel veroorzaakt in hepatocyten, maar er kan ook sprake zijn van een effect op de interactie tussen meerdere celtypen van de lever of van het afweersysteem. Deze interacties zijn veel moeilijker aan te tonen. De verwachting is dat door het gebruik van multicellulaire leversferoïden de veiligheid van deze stoffen nauwkeuriger kan worden voorspeld.

Hersenen-op-een-chip

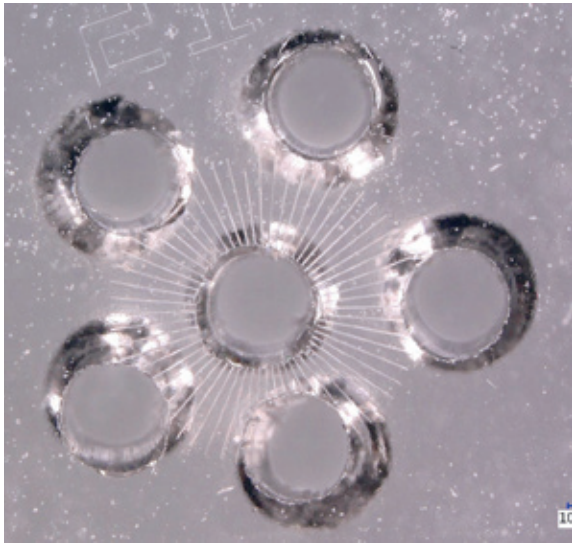
PROF. DR. STEVEN KUSHNER EN DR. REGINA LUTTGE

Is het mogelijk om neurale netwerken en menselijke hersenfuncties in het laboratorium na te bouwen? En hoe kan een brein-op-een-chip gebruikt worden bij het ontdekken van geneesmiddelen voor complexe hersenziekten, zoals de ziekte van Alzheimer, de ziekte van Parkinson en schizofrenie?

Hersenziekten

Psychische en verslavende aandoeningen treffen wereldwijd meer dan 1 miljard mensen die ongeveer een vijfde van hun levensjaren met die handicap leven. Alleen al voor dementie zijn de huidige schattingen dat tegen 2060 bijna 200 miljoen mensen wereldwijd dement zullen zijn. De zorgkosten zullen daarvoor in 2030 al meer dan 0,9 biljoen euro bedragen wereldwijd.

Om effectievere behandelingen voor hersenziekten te ontwikkelen staan wetenschappers en medici nog voor tal van uitdagingen. Eén van



Deze chip vormt de basis voor een nieuw Parkinson-op-een-chipmodel. Het model maakt gebruik van een straalvormige chip met microtunnels om de verschillende weefsels van het zenuwstelsel te kunnen scheiden. Zo kan een organoïde van de middenhersenen in het centrum worden geplaatst en kunnen de neurale netwerken van het spijsverteringsstelsel worden geplaatst in de reservoirs aan de buitenrand van de chip.

Onderzoek aan hersencellen gekweekt op een chip aan de TU Eindhoven.

de belangrijkste beperkingen is de toepasbaarheid (validiteit) van bestaande celmodellen om de oorzaak van hersenziekten systematisch te onderzoeken, aangrijpingspunten voor behandeling te vinden en mogelijke medicijnen te testen.

De hersenen worden heel goed beschermd door een dikke schedel en een bloed-hersenbarrière. Ook is het lastig voor hersenwetenschappers om onderzoek te doen aan levend hersenweefsel omdat de enorme hoeveelheid aan neuronale cellen zeer gespecialiseerde functies vervult en geen herstellend vermogen heeft. Hierdoor is de toegang tot hersenweefsel zeer beperkt. Levend hersenweefsel komt uitsluitend kortstondig vrij op het moment dat iemand overlijdt of wanneer iemand door een hersenaandoening (bijvoorbeeld kanker of epilepsie) een operatie moet ondergaan. Dit beperkt het onderzoek aan zowel gezond als ziek weefsel, dat nodig is om de processen in hersencellen en de onderliggende moleculaire biologie van hersenziekten te doorgronden.

In de afgelopen jaren is er wel grote vooruitgang geboekt bij het ontrafelen van de genetica van hersenziekten. Zo zijn er nu duizenden genetische varianten bekend van neurologische ontwikkelingsstoornissen die verregaande, levenslange gevolgen voor kinderen hebben. Maar om deze kennis te vertalen naar een beter begrip van het onderliggende neurobiologische mechanisme en mogelijke behandelingen blijkt bijzonder lastig te zijn. In het bijzonder door het gebrek aan hersenweefsel voor onderzoek in de vroege stadia van de ziekten en aan betrouwbare diermodellen.

Alzheimer-op-een-chip

iPSC's bieden nu een unieke kans om dit probleem aan te pakken. Hierdoor beschikken onderzoekers over levende menselijke zenuwcellen afkomstig van mensen met een bekend genetisch risico (zie kader Waar komen de cellen vandaan?).

Hoewel de eerste studies met menselijke zenuwcellen afkomstig van iPSC's, zijn uitgevoerd in een monolaagje cellen in een petrischaal, heeft het gebruik van een 3D hersenen-op-een-chipmodel grote voordelen. Voor Alzheimer is bijvoorbeeld al aangetoond dat een 3D hersenen-op-een-chipmodel van deze ziekte de *in vivo* neuronale organisatie, de biochemische veranderingen en pathologische structuren die in hersenweefsel van overleden patiënten worden waargenomen, nauwkeuriger kan nabootsen.

Nu zelforganiserende hersenweefsels in het laboratorium te kweken zijn, kunnen hersenwetenschappers eindelijk ook levend menselijk hersenweefsel op celniveau onderzoeken. Hiermee is een historische, technische barrière overwonnen en is het mogelijk om celbiologische en biomedische technieken te combineren. Met orgaan-op-een-chiptechnologie (gebaseerd op productietechnieken van de micro-elektronische chiptechnologie en de toepassing van microfluïdische vloeistofuitwisseling) kan nu *real-time* de hersenactiviteit gevolgd worden ook op cellulair en

Netvlies-op-een-chip

DR. ANDRIES VAN DER MEER EN PROF. DR. ANNEKE DEN HOLLANDER

Eén op de vijf ouderen in Nederland heeft een vorm van leeftijdsgebonden maculadegeneratie, een aandoening van het netvlies (retina) ter hoogte van de gele vlek (macula). Dit leidt tot slechtziendheid en steeds verdergaande visuele beperkingen in het dagelijks leven. Zij krijgen moeite met autorijden, gezichten herkennen, lezen, televisiekijken.
Leeftijdsgebonden maculadegeneratie wordt veroorzaakt door een combinatie van erfelijke factoren en leefstijl. Zo leidt roken tot een hoger risico op maculadegeneratie, terwijl een dieet rijk aan omega-3 vetzuren en antioxidanten (luteïne, zeaxantine) beschermend werkt. De aandoening komt iets vaker voor bij vrouwen dan bij mannen. Uit genetische studies blijkt dat het complement systeem, een onderdeel van het afweersysteem, een belangrijke rol speelt bij de ontwikkeling van de ziekte. Bij maculadegeneratie ontstaat schade aan de lichtgevoelige cellen van het netvlies, achter in de oogbol. Ook de andere weefsels in het netvlies zijn hierbij betrokken, zoals het retinaal pigmentepitheel en kleine bloedvaten (haarvaten). Er is op dit moment geen effectieve behandeling voor maculadegeneratie. Er is alleen een therapie op basis van injecties in de oogbol met vaatgroeiremmende stoffen die de meest agressieve vorm weet af te remmen.
Over het exacte verloop van maculadegeneratie is nog niet veel bekend. Welke weefsels in het netvlies worden als eerste aangetast? Welke rol speelt het afweersysteem in het verloop van de aandoening? Hoe dragen geslachtshormonen zoals oestrogeen en genetische factoren bij? En wat zijn aanknopingspunten voor een effectieve behandeling? Om dergelijke vragen te beantwoorden zijn laboratoriummodellen van het netvlies essentieel. Deze modellen moeten niet alleen iemands erfelijke componenten en andere persoonspecifieke kenmerken zien te vangen, maar ook de ingewikkelde opbouw van dit unieke stuk weefsel.
Twentse en Nijmeegse onderzoekers gebruiken sinds kort orgaan-op-een-chiptechnologie om modellen van het menselijk netvlies na te bouwen en zo het verloop van maculadegeneratie te bestuderen. Deze netvlies-op-een-chipmodellen bootsen de opbouw van het netvlies na, inclusief de lokale haarvaten met stromend bloed. De weefsels in het model zijn afgeleid van menselijke stamcellen, afkomstig van individuele patiënten, en vormen zo een afspiegeling van iemands erfelijk materiaal. Door nu ook lichtgevoelige cellen in te bouwen, begint het er zelfs een beetje op te lijken dat de netvlies-op-een-chipmodellen iets kunnen 'zien'.

Dit is wat iemand ziet met maculadegeneratie.

moleculair niveau. Dat is cruciaal in de zoektocht naar genezing van deze ziekten.

De ontwikkeling van een geneesmiddel kost gemiddeld bijna 2 miljard dollar. Voor de ziekte van Alzheimer is na meer dan dertig jaar onderzoek nog steeds geen geneesmiddel gevonden. Dit komt deels doordat de huidige cel- en diermodellen niet lijken op de complexiteit van het menselijk weefsel en daardoor een beperkte toepasbaarheid hebben. Bovendien hebben diermodellen van hersenziekten vaak een zogeheten lage evolutionaire (cross-species) validiteit, wat betekent dat de resultaten van studies met knaagdiermodellen een slechte voorspellende waarde hebben voor de werkzaamheid van geneesmiddelen bij aandoeningen van het centrale zenuwstelsel in de mens.

Bemoedigend is dat wetenschappers al hebben laten zien dat hersenen-op-een-chipmodellen heel waardevol zijn in onderzoek naar de werking van medicijnen. Zoals bijvoorbeeld bij de ontrafeling van het mechanisme van neurotoxiciteit tijdens een first-in-humanstudie naar een hydrolaseremmer die in dierproeven voor toxiciteit geen problemen had vertoond (zie Hoe een klinische test fout kon aflopen). Of na de uitbraak van het zikavirus, toen een internationale serie studies met hersenen-op-een-chip de oorzaak van microcefalie bij pasgeboren kinderen van met zika geïnfecteerde vrouwen wist op te sporen. De cellulaire specificiteit en de moleculaire aangrijpingspunten van dit menselijke virus hadden niet met diermodellen opgehelderd kunnen worden.

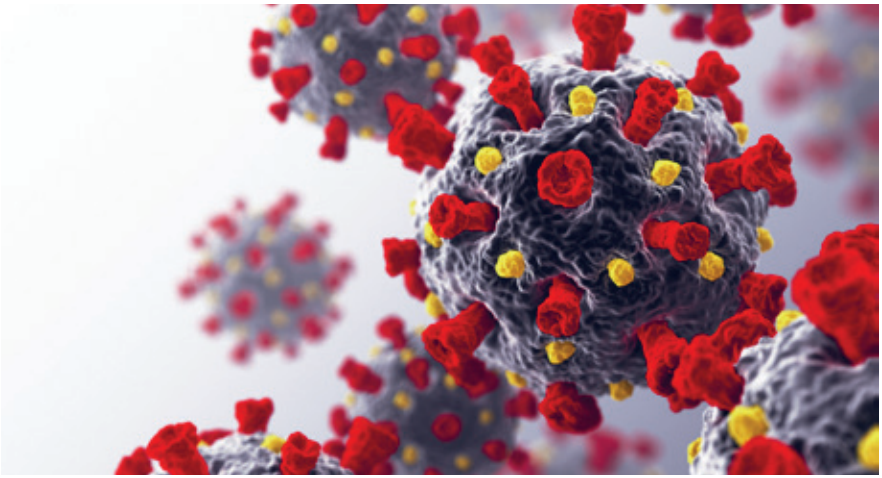
Deze voorbeelden bevestigen de wetenschappelijke en maatschappelijke waarde van hersenmodellen die gebaseerd zijn op echt menselijk materiaal. Daarom is er een sterke behoefte aan een volgende generatie van geavanceerde cellulaire modellen van het menselijk brein om nieuwe medicijnen te ontdekken, en daar hebben 3D hersenen-op-een-chipmodellen uitstekende papieren voor.

Modellen voor virusinfecties

DR. KATJA WOLTHERS, DR. DASJA PAJKRT EN DR. BARRY ROCKX

Nadat in december 2019 in China enkele mensen voor ernstige luchtweginfectie werden behandeld, werd al snel de veroorzaker ontdekt: het coronavirus SARS-CoV-2. Drie maanden later, waren er wereldwijd bijna 3 miljoen mensen geïnfecteerd waarvan meer dan 200.000 mensen waren overleden. Ook de wereldeconomie lag plat doordat veel landen, de een na de ander een lockdown afkondigden; een gezondheidscrisis en een economische crisis in één.

Uitbraken met nieuwe virussen gebeuren regelmatig, echter zelden op zo'n schaal. Veel van de nieuw ontdekte virussen worden overgedragen van dier op mens. De factoren die vervolgens bepalen of een virus de mens kan infecteren, ziek maken en zich verder verspreiden, zijn zeer complex. Ook van bekende virussen zoals het griepvirus, zijn er nog veel zaken onbekend met betrekking tot de verspreiding van het virus en hoe mensen ziek worden.



Schematische voorstelling van het coronovirus, de veroorzaker van Covid-19.

Cellen, dieren en organoïden

Binnen de virologie worden verschillende experimentele modellen gebruikt om een risico-inschatting te maken van de overdracht van virussen van dier naar mens of van mens naar mens. Deze kennis wordt gebruikt om de mogelijke impact van bijvoorbeeld nieuwe virusinfecties op de volksgezondheid te berekenen.

Om virusinfecties te kunnen bestrijden moeten vaccins of antivirale middelen ontwikkeld worden. Daarvoor zijn levende modellen nodig waarbij een infectie wordt opgewekt. Hiervoor worden celkweken of proefdieren gebruikt. Een vaccin of een antiviraal middel kan dan in zo'n model getest worden op efficiënte voorkoming of bestrijding van de virusinfectie. Deze modellen hebben hun beperkingen omdat ze niet altijd goed vertaalbaar zijn naar de situatie bij de mens, of omdat dergelijke modellen niet werken bij bepaalde virussen zoals de veel voorkomende darmpathogenen rotavirus en norovirus.

Met het beschikbaar komen van menselijke organoïden kunnen virusinfecties die bijvoorbeeld de darm-, luchtwegen of hersenen infecteren, nu beter bestudeerd worden. Hierdoor heeft het gebruik van menselijke organoïden voor virologie een enorme vlucht genomen.

Bloedvat- en longmodellen

Het gebruik van orgaan-op-een-chipmodellen voor het bestuderen van (nieuwe) virussen is tot op heden nog zeer beperkt, terwijl de potentiële mogelijkheden zeer uitgebreid zijn. Zo hebben Leidse onderzoekers recent aangetoond dat de lekkage van bloedvaten na infectie met het ebolavirus is na te bootsen met een bloedvat-op-een-chipmodel en dat ditzelfde model vervolgens te gebruiken is om nieuwe behandelingen tegen deze bloedlekkage te testen.

Zeer veelbelovend zijn ook de resultaten van een Amerikaanse studie van de groep van Don

Ingber (Wyss Instituut) met een long-op-een-chip waarbij de mate van schade aan het long-endotheel en de afweerreactie die verschillende griepvirussen oproepen, overeenkwamen met de mate van ernst van de ziekte bij de mens. De onderzoekers toonden ook aan dat deze long-op-een-chip zeer geschikt is voor het screenen van antivirale middelen zoals bij de uitbraak van SARS-CoV-2.

Verder zijn de orgaan-op-een-chipmodellen zeer geschikt om infectie en afweerreacties te meten. De eerste verdedigingslinie, de aangeboren afweer, kan al goed gemeten worden in dergelijke modellen. Echter, de afweerreactie van het menselijk lichaam tegen een virus is een complex samenspel van geïnfecteerde cellen in een orgaan of in bloed, met cellen van het afweersysteem. Om ook dit na te kunnen bootsen worden nu de cellen van het afweersysteem ingebouwd in het orgaan-op een-chipmodel.

Op deze wijze groeit niet alleen het inzicht in de eigenschappen van (nieuwe) virussen, maar is het ook mogelijk om behandelingen uit te testen in laboratoriummodellen die lijken op het menselijk lichaam. Het gevolg hiervan is dat nieuwe medicijnen sneller op de markt komen, met minder gebruik van proefdieren. Tegelijkertijd zullen minder proefpersonen worden blootgesteld aan ineffectieve medicijnen met schadelijke bijwerkingen. Door gebruik te maken van cellen van de patiënt zelf kan er ook voor virusinfecties een gepersonaliseerd model ontwikkeld worden om te meten of een bepaald medicijn bij deze specifieke patiënt gaat werken of bepaalde bijwerkingen heeft.

Met de ontwikkeling van biologische modellen die de complexiteit van een geïnfecteerde mens nabootsen, kunnen sneller en objectiever kritische factoren voor ziekte, verspreiding en behandeling bepaald worden dan met de huidige modellen. Dit is zeer veelbelovend voor de bestrijding van virusinfecties, en in het bijzonder voor het snel kunnen controleren van nieuwe virusuitbraken.

Een long-op-een-chip is zeer geschikt voor het screenen van antivirale middelen

Regeneratieve biomaterialen testen-op-een-chip

PROF. DR. CARLIJN BOUTEN EN DR. IR. ANTHAL SMITS

Biomaterialen, materialen die vriendelijk zijn (compatibel) voor levende organismen, vinden sinds mensenheugenis hun toepassing in medische implantaten, prothesen en instrumenten. Hedendaagse voorbeelden zijn: de kunstheup van titanium of roestvrijstaal, contactlenzen van siliconen hydrogelen, nitinol stents, of (afbreekbaar) hechtdraad van bijvoorbeeld nylon, zijde of polyester.

Kenmerkend is dat de materialen zich een tijdlang in het lichaam bevinden – of in aanraking met het lichaam zijn – en om die reden in harmonie met het lichaam moeten functioneren. Enerzijds moet het materiaal vriendelijk zijn voor de cellen en de weefsels in het lichaam; anderzijds moeten cellen en weefsels het materiaal accepteren. Afweerreacties tegen lichaamsvreemde materialen kunnen leiden tot chronische ontsteking, trombose, inkapseling en fibrose (woekering van bindweefsel), of zelfs afbraak van het materiaal, waardoor prothesen gaan falen of afbraakproducten vrijkomen. Dergelijke reacties kunnen leiden tot ernstige complicaties, zoals lekkende siliconen borstprothesen of pijnlijke fibrose als gevolg van kunststof bekkenbodemimplantaten.

Eigen weefsels en dragermaterialen

Ter verbetering van de interactie tussen materiaal en levend weefsel werken biologen, materiaalwetenschappers, ingenieurs en artsen aan verschillende oplossingen. Zo worden materialen chemisch of fysisch aangepast om ze geschikter te maken voor het menselijk lichaam. Ook worden materialen van dierlijke oorsprong gebruikt, zoals de hartklepprothese, gemaakt van een taai vlies

rond het hart van een rund , waaruit alle cellen zijn verwijderd.

Daarnaast ontwikkelden *tissue engineers* de afgelopen twee decennia zelfs levende, lichaamseigen weefsels in het laboratorium: weefsels, gemaakt van cellen en biomaterialen, die na implantatie niet meer te onderscheiden zijn van het bestaande weefsel en zich kunnen aanpassen aan veranderingen in het lichaam.

De meest vooruitstrevende oplossing bestaat echter uit de ontwikkeling van slimme, afbreekbare materialen die het lichaam zelf aanzetten tot regeneratie of vervanging van beschadigde of ontbrekende weefsels. Bij deze vorm van regeneratieve geneeskunde wordt een tijdelijk dragermateriaal – *scaffold* genoemd – als prothese in het lichaam geplaatst. Omdat het lichaam de scaffold herkent als lichaamsvreemd stuurt het cellen uit omringend weefsel en bloed naar de scaffold om deze op te ruimen en het weefsel te herstellen. Door een slim gekozen chemische samenstelling en fysische structuur van de scaffold kan de reactie van de afweercellen ten goede gekeerd worden: na een gecontroleerde ontsteking stimuleert de scaffold de cellen om gezond weefsel aan te maken via een wondgenezingsproces, terwijl de scaffold zelf langzaam afgebroken wordt.

Van dier naar bioreactor naar chip

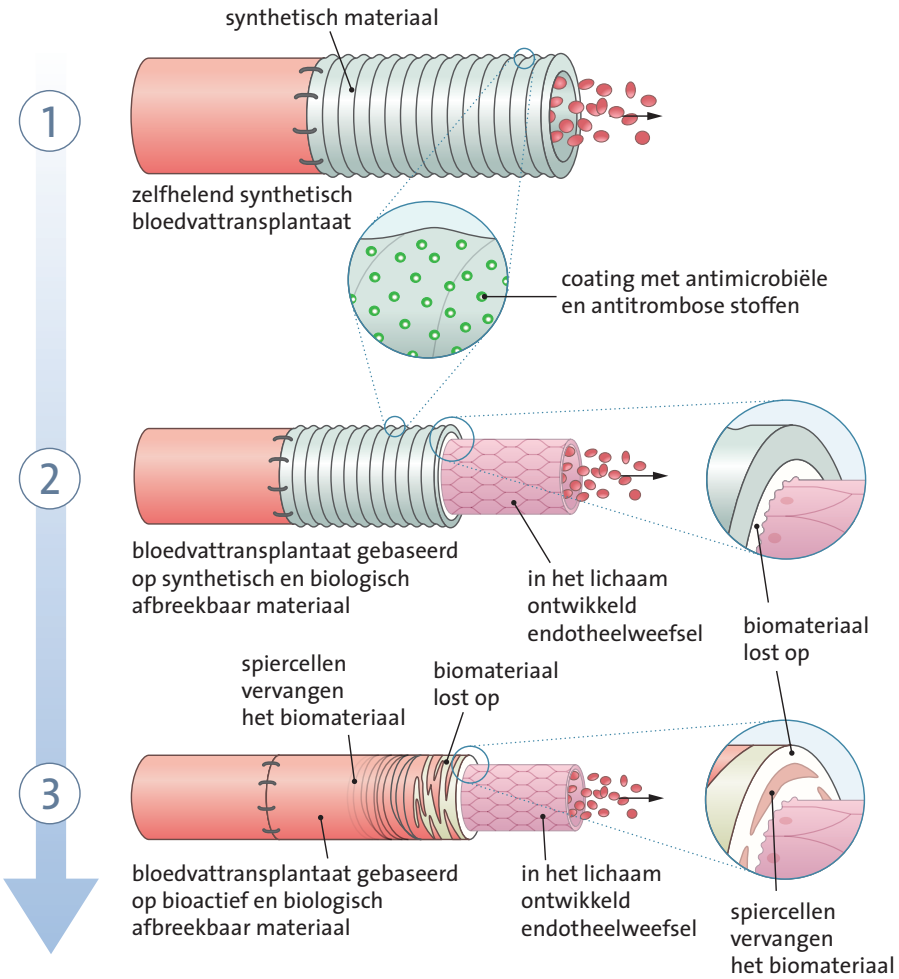
Net als bij het testen van geneesmiddelen, wordt voor het testen van biomaterialen traditioneel gebruik gemaakt van laboratoriumstudies met geïsoleerde cellen of weefsels en diermodellen. Bij dit soort studies wordt onder strikte omstandigheden vooral gekeken of de biomaterialen een afweerreactie uitlokken, waarbij het diermodel het voordeel van de aanwezigheid van een intact afweersysteem heeft.

Om preciezer en met minder dierproeven te kunnen voorspellen hoe een biomateriaal zich zal gedragen in het lichaam van een mens, of beter, een zieke patiënt, zijn gerichtere modellen nodig. Humane weefsel- en orgaan-op-een-chipmodellen bieden ook hier uitkomst. Deze modellen ontstonden als het ware vanzelf toen *tissue engineers* levende weefsels in het laboratorium gingen kweken. Zij gebruikten veelal kleine stukjes weefsel, gemaakt uit lichaamseigen cellen en een afbreekbare scaffold. Om functioneel weefsel te maken werden bioreactoren ontwikkeld die de dynamische situatie in het lichaam nabootsten. Een voorbeeld hiervan is een bioreactor waarin hartklepweefsel ritmisch wordt belast, vergelijkbaar met het openen en sluiten van een echte hartklep, voor snellere weefselvorming en sterkere kleppen.

De kweek in de bioreactoren werd uitgebreid met chemische of biologische stimuli om meer verschillende situaties na te bootsen. De bioreactoren zelf werden steeds compacter voor efficiënter gebruik van de cellen en scaffolds en om er beter aan te kunnen meten, bijvoorbeeld met microscopie. Ze werden ook op grotere schaal geproduceerd om veel verschillende kweekomstandigheden te kunnen testen.

Regeneratie-op-een-chip

Tegenwoordig worden deze systemen ook gebruikt als testmodel voor regeneratie(nieuwe weefselvorming)-op-een-chip. Om het proces van weefselvorming in een regeneratieve scaffold in detail te kunnen volgen en begrijpen, worden 3D-scaffolds op een gecontroleerde manier blootgesteld aan omstandigheden zoals die voorkomen in het lichaam: de krachten op de scaffold, de aanwezigheid van cellen en een afweersysteem, en bloed dat langs stroomt. Tegelijkertijd kunnen testen worden uitgevoerd die informatie geven over de functie van de cellen, de vorming van nieuw weefsel, de stevigheid en organisatie van dat weefsel, de afbraak en afbraakproducten van de scaffold, en de reactie van afweercellen. Kortom: er wordt zo specifiek mogelijk gesimuleerd en



Scaffold voor een ader (links) en een hartklep (rechts). De tekening laat zien hoe de scaffold van een ader transformeert in levend weefsel.

gemeten wat er in het menselijk lichaam zal plaatsvinden. Een groot voordeel van deze aanpak is dat de effecten van veranderingen aan het scaffoldmateriaal, zoals de toevoeging van een signaalstof die bepaalde cellen aantrekt, efficiënt getest kunnen worden. Bovendien kunnen bepaalde aspecten van de 'ontvanger' (ziekte, sekse, leeftijd, e.d.) van dat materiaal nagebootst worden, en het effect ervan bekeken.

Een voorbeeld: nieuw gevormde slagaders

Voor de vervanging van kleine slagaders wordt een poreuze, afbreekbare kunststof scaffold ontwikkeld in de vorm van een buisje. Deze scaffold moet direct na implantatie als bloedvat kunnen functioneren en dat ook blijven doen terwijl de scaffold langzaam afbreekt en vervangen wordt door nieuw weefsel.

Om dit proces te onderzoeken wordt een deel van het buisje in een chip geplaatst waarin de druk van bloed op de vaatwand en de ritmische vervorming van de vaatwand worden nagebootst. Het systeem wordt voorzien van een bloed-vervangende groeivloeistof waarin afweercellen circuleren, en de scaffold wordt ingezaaid met vaatwandcellen. Dit geheel wordt blootgesteld aan chemische of fysische prikkels die een ziekte simuleren, zoals diabetes, nierfalen of hypertensie, die uiteindelijk resulteert in aangetaste bloedvaten. Zo kan met deze chip worden getest welke aanpassingen aan de scaffold nodig zijn om de afweerreactie en de vorming van nieuw bloedvatweefsel te sturen. Op deze manier kunnen in de toekomst op maat gemaakte vaatscaffolds voor patiënten ontwikkeld en getest worden.

Kunnen hersenen-op-een-chip iets v

DR. DOROTHEE HORSTKÖTTER

Een bijzonder orgaan dat als organoïde of op-een-chip nagebootst kan worden, zijn de hersenen. Hersenen verschillen op een belangrijke manier van andere organen zoals de lever, nieren of darmen. Hersenen worden namelijk gezien als het biologische substraat voor wie wij zijn als persoon, van ons zelfbegrip en handelen en daarmee van de mogelijkheid om een betekenisvol leven te leiden. Dit maakt onderzoek naar de werking van, maar ook naar ingrepen in de hersenen bijzonder. Het is bijzonder belangrijk omdat hersenenaandoeningen direct hun weerslag vinden in iemands persoonlijke identiteit. Maar tegelijk is het ook bijzonder problematisch, omdat onderzoek naar en ook met hersenen kan ingrijpen op ons idee van wat persoonlijkheid is.

Bewustzijn-op-een-chip?

Vanuit ethisch perspectief roept de ontwikkeling van levende hersenmodellen belangrijke vragen en allerlei zorgen op. Zo doet het kweken van hersen-organoïden en hersenen-op-een-chip de vraag rijzen of dergelijke modellen zelf niet iets van bewustzijn of gevoeligheid kunnen ontwikkelen. Zo ja, zouden ze dan, tenminste op termijn, niet vergelijkbare rechten en bescherming verdienen als mensen of dieren? Paradoxaal genoeg zou het ontstaan van bewustzijn een belangrijk ethisch voordeel teniet kunnen doen. De hersenmodellen worden immers ontwikkeld mede met het idee dat ze dieronderzoek overbodig kunnen maken en dus gevoelige wezens leed kunnen besparen. Des te beter de levende hersenmodellen worden, des te problematischer uit ethisch oogpunt is het doen van onderzoek aan deze modellen, zou gesteld kunnen worden.

Vooralsnog geldt dat bewustzijn-in-een-petri-schaal of op-een-chip nog heel ver weg is. Toch is het belangrijk om met deze consequenties die mogelijk in de toekomst ontstaan rekening te houden. Tegelijkertijd is het de vraag of een gevoelig of bewust 'hersenwezen' in een petrischaal wel een realistisch toekomstbeeld is en niet voorbehouden zal blijven aan science fiction scenario's. Want daarmee wordt impliciet aangenomen dat bewustzijn en sensitiviteit los van een lichaam en zonder enige sociale interactie kan bestaan. En dat is in strijd met alles wat bekend is over het belang van bio-psychosociale interactiemechanismen voor de ontwikkeling en het functioneren van ieder mens.

Toegegeven, levende hersenmodellen laten nu al verbazingwekkend veel zelforganisatie en elektrische activiteit zien. Maar dit betekent niet dat er een rechte stijgende lijn bestaat tussen een enkel neuron zonder bewustzijn en een complex van wellicht enkele tienduizenden of miljoenen neuronen met iets van bewustzijn of zelfbegrip, laat staan een persoonlijke identiteit. Daarvoor is altijd ook een vormende sociale omgeving, het verwerven van een taal en de interactie met andere personen nodig. Dit plaatst de bovenstaande ethische zorg in een gepaster licht. Tegelijkertijd noopt het onderzoekers om niet alleen naar hersenmodellen van een patiënt met een psychiatrische aandoening (zoals psychose, depressie of post-traumatische stressstoornis) te kijken, maar om ook aandacht te hebben voor diens persoonlijke omstandigheden. Dit brede blikveld speelt voor

oelen? En (van) wie zijn ze eigenlijk?

Waar zit je persoonlijkheid?

onderzoek met hersenweefsel nog meer dan bij onderzoek naar andere organen.

Toestemming en eigenaarschap

Toch roept de ontwikkeling en het gebruik van hersenen-op-een-chip nog andere ethische vragen op. Nu vooral menselijke geïnduceerde pluripotente stamcellen (hiPSC's) gebruikt worden voor de ontwikkeling van hersenmodellen, staan ethische vragen rond het gebruik van embryonale stamcellen niet langer centraal. Wel rijst de vraag hoe toestemming moet worden gevraagd aan personen die cellen afstaan voor onderzoek en ook wie de eigenaar wordt van de stamcellijnen. Donoren van cellen aan een biobank wordt meestal in een algemene bewoording toestemming gevraagd en onderzoekers houden de onderzoeksmogelijkheden betrekkelijk open. Ook staan donoren het eigenaarschap van hun cellen af en komt dit te liggen bij de onderzoeksinstelling. Dat geldt overigens voor toepassing in elk mini-orgaan.

Toch hebben de hersenen een andere culturele status omdat aan het brein de fundamentele rol is toegekend als drager van iemands persoonlijke identiteit. Voor celdonoren kan dit een reden zijn om wel bij te willen dragen aan orgaan-op-een-chiponderzoek in het algemeen, maar niet aan de ontwikkeling van levende hersenachtige structuren in het bijzonder. Om geïnformeerde toestemming te kunnen geven, moeten celdonoren weten waarvoor hun lichaamsmateriaal gebruikt wordt en moeten onderzoeksinstellingen zo goed mogelijk openheid en transparantie over de beoogde toepassingen geven. Donoren moeten de optie geboden krijgen om voorwaardelijk te doneren en bijvoorbeeld gebruik van hun materiaal voor hersenonderzoek uit te sluiten, maar andere toepassingen wel toe te staan.

De zorg voor bewustzijnsontwikkeling in de petrischaal hoeft dit soort onderzoek niet te verguizen. Maar ethische reflectie blijft essentieel. Ethiek helpt om de randvoorwaarden scherp te krijgen: om te kijken hoe de autonomie van donoren gerespecteerd kan worden, hoe mogelijke therapeutische voordelen gegenereerd kunnen worden, en hoe deze vervolgens zo rechtvaardig mogelijk onder patiënten verdeeld kunnen worden.

In Nederland worden er jaarlijks gemiddeld 450 duizend dierproeven verricht. Niet alleen op muizen en ratten, maar ook op honden, cavia's en katten.

4 Kunnen organen-op-chips proefdieren vervangen?

Een mooie bijvangst van de ontwikkeling van organen-op-chips is dat het kan helpen om het gebruik van proefdieren te verminderen. In Nederland is daarvoor een speciaal versnellingsprogramma door de overheid in gang gezet: transitie proefdiervrije innovatie (TPI). Om de veiligheid van cosmetica aan te tonen zijn proefdieren al verboden. Het huid-op-een-chipmodel is al vergevorderd om bijvoorbeeld het effect van cosmetica te testen. Maar soms kan onderzoek toch niet zonder dierproeven.

Dieren of geen dieren: hoe verder naar een meer humane geneeskunde?

PROF. DR. DANIELA SALVATORI

Sinds menseneugenis zijn er in de wetenschap en bij onderzoek dieren gebruikt. Al duizenden jaren, sinds de geschiedenis van de geneeskunde, worden de anatomie en fysiologie van de gewervelden bestudeerd. Zo ontleedden artsen in het oude Griekenland dieren om het menselijk lichaam beter te begrijpen. Veel van onze kennis over de werking van cellen, weefsels en organen, en ook ziektemechanismen is tot stand gekomen door studies uitgevoerd op dieren. Al die kennis heeft bijgedragen aan vele medische toepassingen zoals het gebruik van medicijnen, vaccins en chirurgische ingrepen.

Bijna 90% van het geneeskundig Nobelprijsonderzoek maakte gebruik van proefdieren voor hun ontdekkingen. Zo werd bijvoorbeeld de behandeling van diabetes type I met insuline eerst vastgesteld bij honden door Banting en Macleod (Nobelprijs 1921).

Diermodellen hebben geholpen vaccins te ontwikkelen die miljoenen menselijke en dierlijke levens hebben gered. Begin twintiger jaren nam de kindersterfte over de hele wereld aanzienlijk af na de introductie van een vaccin tegen difterie. Dit vaccin was in eerste instantie uitgeprobeerd op paarden. Veel nieuwe chirurgische ingrepen zijn ontwikkeld en uitgeprobeerd op varkens omdat hun organen ongeveer dezelfde afmetingen als die van mensen hebben.

Muismodellen

Dieren zijn vergelijkbaar met, maar niet identiek aan mensen. Knaagdieren, muizen in het bijzonder, zijn het meest gebruikte zoogdier voor experimenteel onderzoek. Muizen worden gekozen vanwege hun genoom dat voor 95% vergelijkbaar is met het menselijke genoom. Bovendien zijn muizen klein, gemakkelijk te hanteren en planten zij zich snel voort.

Ongeacht de overeenkomsten lopen muizen niet dezelfde genetische ziekten op als mensen. Wetenschappers moeten het muizengenoom daarom eerst veranderen om een menselijke ziekte in de muis te veroorzaken. Daarvoor is geavanceerde gentechnologie beschikbaar die muisgenen zo kan veranderen dat ze menselijke ziekten kunnen krijgen, de zogenaamde muismodellen voor menselijke ziekten. Hoewel er veel verschillende muismodellen beschikbaar zijn om menselijke ziekten te bestuderen, garandeert een succesvolle behandeling bij een muis niet hetzelfde resultaat bij een mens. En dit is niet alleen te wijten aan genetische verschillen tussen muizen en mensen.

Geen enkel diermodel is in staat om een menselijke ziekte precies na te bootsen

De ene muis is de andere niet

In laboratoria worden meestal inteeltstammen van muizen gebruikt. Deze muisstammen worden gekweekt door 'broers en zussen' te laten paren gedurende tenminste 20 opeenvolgende generaties, wat resulteert in een hoge homogene samenstelling. De resultaten zijn erg afhankelijk van de specifieke inteeltstam die men gebruikt. Een treffend voorbeeld werd in 2014 in het wetenschappelijk tijdschrift *Science* gepubliceerd. Een onderzoeksteam meldde dat sommige muisstammen volledig resistent waren tegen het ebolavirus en dat andere stierven zonder specifieke symptomen, terwijl muizen van weer een andere stam fatale hemorragische koorts ontwikkelden. Dit voorbeeld toont aan hoe we diermodellen moeten beschouwen: geen enkel diermodel is in staat om een bepaalde menselijke ziekte precies na te bootsen.

Bovendien is het niet mogelijk om bij muizen alle symptomen van een bepaalde menselijke ziekte te creëren. Bij leeftijdsgebonden hersenziekten zoals Alzheimer of Parkinson moet men voorzichtig zijn bij het interpreteren van cognitieve, emotionele en (uiteraard) taalgebreken die karakteristiek zijn voor dergelijke ziekten. Daarom moet er worden nagedacht over de verschillen in ontwikkeling en functie van het brein bij knaagdieren en bij de mens.

Wettelijk verplicht

Het is momenteel niet toegestaan nieuwe medicijnen rechtstreeks op mensen te testen, want het is wettelijk vereist de tests eerst op dieren uit te voeren (preklinisch onderzoek). Deze werkwijze die voornamelijk door de farmaceutische industrie wordt gehanteerd, vergt gemiddeld 10-15 jaar per medicijn en is erg kostbaar. Onderzoekers bij farmaceutische bedrijven besluiten op basis van de resultaten van dierproeven of een mogelijk medicijn effectief en veilig bij mensen zal zijn. Ondanks alle pogingen, geld, tijd en proefdieren zien de farmaceuten zich geconfronteerd met een ernstig probleem: slechts 1 op de 10 medicijnen die een positief effect op dieren hebben, werkt ook bij mensen. Slechts een fractie van de duizenden menselijke ziekten heeft een goedgekeurde behandeling, waarbij in veel gevallen ook nog eens ongewenste bijwerkingen optreden. Dit is erg zorgwekkend voor alle patiënten die wachten op genezing.

De oorzaken voor dit ontoelaatbare, wereldwijde falen zijn geanalyseerd en worden toegeschreven aan fouten in studieontwerp, analyse en rapportage van proeven. Dit kan zeker verbeteren, maar zal de verschillen tussen menselijke en dierlijke soorten niet oplossen. Deze verschillen maken het onmogelijk preklinische resultaten in dieren direct te vertalen naar mensen.

De route naar proefdiervrij onderwijs en onderzoek

Ondernemers, onderzoekers en maatschappelijke organisaties zien steeds meer mogelijkheden voor onderzoek en testen zónder dieren. Mentale verandering, samenwerking en ontwikkeling van nieuwe methoden staan centraal. Communicatie is een cruciale factor: uitwisseling van data, uitwisseling van ideeën, bijvoorbeeld via de helpathons of helpdesks, die vragen beantwoorden en contact leggen met de experts. Helpathons zijn bijeenkomsten waarbij een onderzoeksvoorstel waarin dierproeven zijn opgenomen, kritisch wordt bekeken en daar waar mogelijk de dierproeven worden vervangen door alternatieven of wordt gewezen op kennis die al opgedaan is in andere onderzoeksprojecten.

Huid-op-een-chip

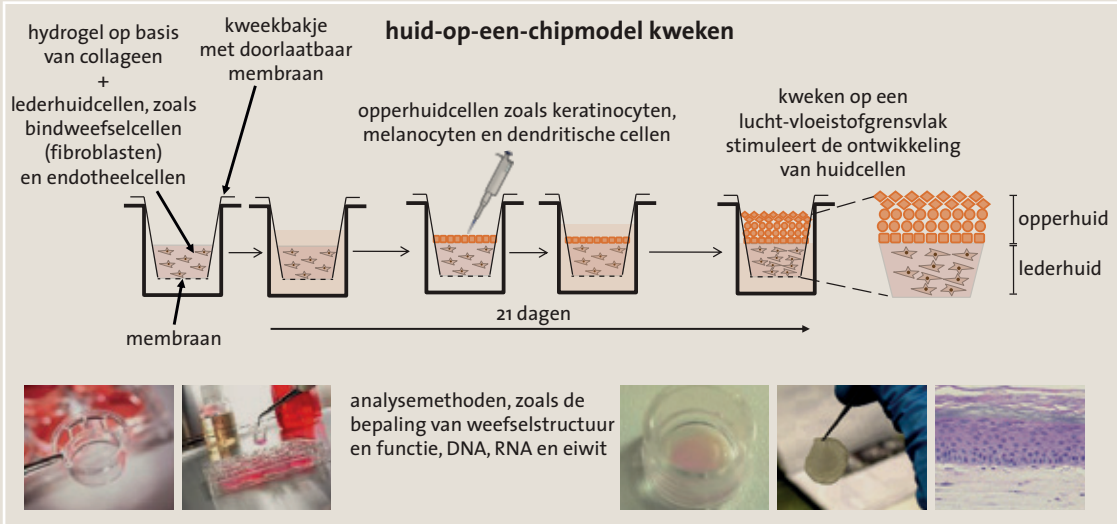
PROF. DR. SUE GIBBS

In het dagelijks leven komt onze huid met allerlei producten in contact, zoals cosmetica, haarverf, parfums en geneesmiddelen, en ook allerlei huishoudelijke, industriële en landbouwproducten. Dit contact is soms 'wenselijk', maar vaak ook niet en dan toch onvermijdelijk.

Opname van stoffen

De huid beschermt onze interne organen tegen stoffen uit de omgeving. Echter veel stoffen die op de huid worden aangebracht, worden opgenomen en activeren vervolgens het afweersysteem voordat ze in het bloed terechtkomen. Eenmaal in het bloed kunnen ze andere organen beïnvloeden. Daarom is een strikte veiligheidsbeoordeling van actieve stoffen en andere ingrediënten in producten en medicijnen die op de huid worden aangebracht essentieel om een veilige concentratie te kunnen bepalen. Dit betekent dat er huidmodellen nodig zijn die het gedrag van de menselijke huid (de huidfysiologie) kunnen nabootsen, temeer omdat Europa het gebruik van dieren heeft verboden om te bepalen of stoffen in cosmetica irritatie, beschadiging (2009) of allergieën (2013) veroorzaken.

Er zijn al veel testen op basis van huidcellen ontwikkeld. Zo zijn er bijvoorbeeld testen met een reconstructie van de menselijke opperhuid (epidermis) al of niet voorzien van bepaalde afweercellen (dendritische cellen). Deze testen zijn bijvoorbeeld waardevol om te onderzoeken welke cosmetische ingrediënten irritatie of allergieën veroorzaken. Sommige van deze testen zijn officieel gevalideerd door het Europese referentielaboratorium voor alternatieven voor dierproeven (EURL-ECVAM).



In drie weken kan een minihuid worden gekweekt om huidproeven mee te doen. Het gekweekte stukje menselijke huid bestaat uit de opperhuid (keratinocyten, melanocyten en dendritische cellen) boven op een lederhuid (dermis) van hydrogel met collageen en bindweefselcellen (fibroblasten). De verschillende celtypen zijn geïsoleerd uit kleine huidbiopten. De cellen worden vermeerderd in de kweek en gebruikt om een grote hoeveelheid huidmodellen te maken. Zo levert bijvoorbeeld een biopt van 3 cm² huid een serie van 50 huidmodellen (van 4 cm² elk). Er zijn verschillende analysemethoden om het effect van stoffen op de minihuid te meten.

Complexere huidmodellen

De uitdaging is om complexere huidmodellen te ontwikkelen waarin afweercellen zijn verwerkt, en die via vloeistofkanaaltjes met andere organen zijn verbonden. Het is dan mogelijk om te bepalen of op de huid aangebrachte stoffen zich verspreiden en elders in het lichaam tot schadelijke effecten leiden.

Een voorbeeld is het bepalen of stoffen schadelijk voor de lever zijn. Het benodigde huid-op-een-chipmodel zou kunnen bestaan uit een in het laboratorium gekweekt stukje huid opgebouwd uit een opperhuid, lederhuid (dermis) en afweercellen, dat via een systeem van vloeistofkanaaltjes bekleed met bloedvatcellen verbonden is met minilevers (organoïden). Dergelijke modellen zijn momenteel in ontwikkeling en zullen in de toekomst een nauwkeuriger beeld kunnen geven van de schadelijkheid van stoffen die op de huid worden aangebracht.

Verandering aanvaarden

De laatste vijftig jaar is er veel verbeterd. Het gebruik van proefdieren is ethisch omstreden en controversieel. Nederland heeft daarom de ambitie het gebruik van proefdieren de komende jaren significant te verminderen. De beschikbaarheid van nieuwe, op de mens gebaseerde methoden zoals de orgaan-op-een-chiptechnologie, is enorm gegroeid.

Het is echter erg moeilijk voor jonge onderzoekers om van de gebaande paden af te wijken en te kiezen voor alternatieven. Dierproeven zijn heel lang een belangrijk onderdeel van het onderzoekswerk geweest. Om op een actieve manier naar alternatieven te kunnen zoeken, moeten studenten al vroeg in het curriculum bekend worden gemaakt met mogelijke proefdiervrije methoden. En er moet een open dialoog met de overheid tot stand worden gebracht, met initiatieven die het delen van data promoten.

Het is een emotionele en moeilijke afweging, maar we moeten bereid zijn een mentale verschuiving te aanvaarden. Vooruitgang is investeren in voor de mens relevante onderzoeksmethoden en technologieën. Het is een morele plicht tegenover patiënten en dieren om de geneeskunde te vermenselijken.

Dierproeven vervangen door proefdiervrije innovaties is geen gemakkelijke opgave

De zoektocht naar alternatieven

DR. CYRILLE KRUL EN DR. ANNE KIENHUIS

Al tientallen jaren wordt er gewerkt aan de 3V's: de verfijning, vermindering en vervanging van dierproeven. Enerzijds omdat diermodellen niet altijd goede voorspellers zijn voor de situatie van de mens. Anderzijds vanwege de wens van werkveld, maatschappij en politiek om dierproeven te verminderen. In de afgelopen jaren zijn er veel alternatieven ontwikkeld. Denk hierbij aan cellen in een kweekbakje, computermodellen of meer geavanceerde 3D-modellen zoals organen-op-een-chip. Helaas zijn nog maar weinig alternatieven ver genoeg ontwikkeld en gestandaardiseerd om in wetgeving opgenomen te worden.

Proefdiervrije innovaties

Dierproeven vervangen door een geheel nieuwe test zonder proefdieren, een zogeheten proefdiervrije innovatie, is geen gemakkelijke opgave. Het is nog niet mogelijk om de werking van geneesmiddelen en toxiciteit (giftigheid) van chemische of voedingsstoffen zonder proefdieren te onderzoeken. Er is namelijk zekerheid nodig dat nieuwe geneesmiddelen en stoffen die op de markt komen veilig zijn.

Voor de ontwikkeling van proefdiervrije innovaties is meer kennis nodig van de biologie van de mens, de invloed van geneesmiddelen en stoffen op het menselijk lichaam, en de vertaling hiervan naar relevante en betrouwbare testmethoden. Om die kennis te bundelen en uit te wisselen, en om de juiste prioriteiten te stellen, moet geïnvesteerd worden in internationale samenwerking tussen de verschillende belanghebbenden uit de wetenschap, industrie en overheid, en tussen verschillende disciplines, zoals technologie, data-analyse, biologie, farmacologie en toxicologie.

Beter dan de gouden standaard

IR. BEREND VAN MEER

Een testmodel gebaseerd op menselijke hartcellen klinkt veelbelovend, maar is het ook echt beter dan dierproeven of andere beschikbare modellen? Om dat uit te zoeken is er in 2013 een project gestart met verschillende Europese onderzoeksgroepen die allemaal een eigen testmodel hadden ontwikkeld met hartcellen afkomstig van menselijke stamcellen. Op één na, deze onderzoeksgroep gebruikte hartcellen die geïsoleerd waren uit een konijnenhart. Het konijnenhartmodel is namelijk de 'gouden standaard' voor het testen van eventuele bijwerkingen op het hart van nieuwe medicijnen. Dat betekent dat alle potentiele nieuwe medicijnen op deze konijnenhartcellen getest moeten worden voordat ze in mensen getest kunnen worden.
Aan het project nam ook een farmaceutisch bedrijf deel dat 27 verschillende medicijnen aan de onderzoeksgroepen leverde om uit te testen op de hartspiercelmodellen. Dit gebeurde 'geblindeerd': de onderzoekers wisten niet welk medicijn ze aan het testen waren. Voor elk medicijn noteerden de onderzoekers – op basis van hun testresultaat – of het hart van een patiënt sterker zou gaan samentrekken, minder sterk of dat er niets zou gebeuren. Uit de klinische praktijk was al bekend wat het effect van de 27 medicijnen op een menselijk hart was zodat gecontroleerd kon worden of het model het effect ook goed voorspelde.
De onderzoeksgroep van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) had daarbij een speciale microscoop ontwikkeld om heel nauwkeurig kleine veranderingen in het samentrekken van de hartspiercellen, de elektrische activiteit en de calciumstromen te kunnen meten na toediening van een medicijn. Beide laatste elementen zijn onmisbaar voor hartcellen om goed samen te trekken.
De modellen met konijnenhartcellen voorspelden het effect in 67% van de gevallen goed. Dat is over het algemeen vergelijkbaar met de voorspellende waarde van dierproeven. Het hartcellenmodel afkomstig van menselijke stamcellen in combinatie met de LUMC-meetmethode voorspelde het effect voor 78% goed, een mooie stijging en beter dan de gouden standaard – in elk geval voor het beperkte aantal medicijnen dat hier getest werd. De overige onderzoeksgroepen die ook menselijke hartspiercellen gebruikten, maar een andere meetmethode hanteerden, scoorden tussen de 56% en 67%.
Dat de LUMC-meetmethode beter scoorde dan de metingen van sommige andere groepen met dezelfde soort hartspiercellent laat zien dat het niet alleen belangrijk is om het juiste hartmodel te hebben, maar ook om dit te combineren met de juiste meetmethoden. Iets dat bij uitstek kan bij organen-op-een-chip.

Het LUMC-meetsysteem: een speciale microscoop ontwikkeld om heel nauwkeurig kleine veranderingen in het samentrekken van hartspiercellen, elektrische activiteit en calciumstromen te kunnen meten na toediening van een medicijn.

Orgaan-op-een-chip is een veelbelovende proefdiervrije innovatie, met de mogelijkheid om (combinaties van) menselijke cellen langdurig (langer dan een maand) te kweken onder condities die de fysiologie van de mens benaderen. Daardoor kunnen langetermijneffecten van geneesmiddelen of andere stoffen, zoals bijwerkingen, worden onderzocht. Voor een aantal organen, zoals long, huid, lever, nier, hart en darm, zijn orgaan-op-een-chipmodellen in ontwikkeling. Maar waar en hoe kunnen deze worden toegepast in onderzoek naar de werking en toxiciteit van geneesmiddelen en stoffen?

Toxiciteit

Op korte termijn is de toepassing van een orgaan-op-een-chip het meest kansrijk in onderzoek naar de effectiviteit en het werkingsmechanisme van een geneesmiddel. Zo kan een orgaan-op-chipmodel worden ingezet bij de screening van mogelijke geneesmiddelen. Dit kan in een heel vroege fase van het onderzoek, wanneer er nog veel verschillende potentiële geneesmiddelen beschikbaar zijn, maar ook in een later stadium om van een veelbelovend geneesmiddel beter te begrijpen hoe het werkt.

De toepassing van een orgaan-op-een-chip voor onderzoek naar toxiciteit van geneesmiddelen en chemische stoffen is ingewikkelder, omdat alleen methoden die zijn opgenomen in internationale richtlijnen mogen worden gebruikt. De modelsystemen zijn wel zeer kansrijk voor toxiciteitsonderzoek omdat cellen langdurig kunnen worden blootgesteld onder fysiologische condities. Hierdoor kan mogelijk inzicht verkregen worden in toxische effecten die na langere tijd optreden.

Onderzoek aan darmorganoïden in Utrecht, een van de proefdiervrije innovaties die in ontwikkeling zijn.

Proefdiervrij astmaonderzoek

DEBBY WEIJERS, MSC

In Europa worden jaarlijks meer dan 10 miljoen dieren ingezet voor wetenschappelijke doeleinden. Wereldwijd zijn dat er meer dan 100 miljoen, maar omdat er in veel landen nog geen goede registratie is, blijft het gissen.
In Nederland worden ongeveer een half miljoen dierproeven per jaar uitgevoerd. Zo'n 98% van dat aantal wordt gedaan ten behoeve van de mens. Denk hierbij aan veiligheidstesten van stoffen, medicijnontwikkeling of onderzoek naar humane ziekten. Hiervoor zoeken wetenschappers continu naar een model dat zo dicht mogelijk bij de mens komt. Lang waren dat (genetisch gemodificeerde) dieren, maar de laatste jaren ontwikkelt de wetenschap zich in een hoog tempo. Een van de nieuwste ontwikkelingen is het nabootsen van complexe biologische systemen-op-een-chip. Door de combinatie van cel- en chiptechnologie is het mogelijk om organen-op-chips te bouwen, die grote potentie hebben om proefdieren overbodig te maken.

Astma-op-een-chip
Een mooi voorbeeld van deze ontwikkeling is het astma-op-een-chipmodel. Astmapatiënten reageren op allerlei onschuldige prikkels, zoals bijvoorbeeld koude lucht of pollen. Er ontstaat dan een hoest- en krampreflex waardoor de spiertjes rondom de luchtwegen sterk vernauwen, en de astmapatiënt bijna geen lucht meer krijgt. Tot nu toe wordt onderzoek naar astma alleen op dieren gedaan, met name op cavia's omdat deze dieren net als mensen benauwd kunnen worden. Maar astmaonderzoek op cavia's geeft lang niet alle informatie die nodig is om de ziekte te begrijpen. Onderzoekers zien wel dat de cavia benauwd wordt, maar kunnen niet onderzoeken waarom dat gebeurt. De anatomie van de zenuwen die de luchtwegen bereiken is namelijk anders bij cavia's dan bij de mens. Zolang de oorzaak niet bekend is, is het lastig gerichte behandelingen te ontwikkelen die astmapatiënten kunnen helpen.
Om beter te onderzoeken wat er in het menselijk lichaam bij astma gebeurt, ontwikkelt de Rijksuniversiteit Groningen nu een astma-op-een-chipmodel. Hiermee willen de wetenschappers de communicatie tussen de zenuwcellen en de longspiercellen onderzoeken, en daardoor meer zicht krijgen op de oorzaak van benauwdheid. Daarnaast is het onderzoek volledig proefdiervrij. Dat is onderzoek, dat beter is voor mens en dier!

In plaats van cavia's worden nu in Groningen plastic chips met menselijke cellen gebruikt om te onderzoeken hoe astma ontstaat.

Organen-op-chips leveren puzzelstukjes die de biologie van de mens beschrijven. Deze puzzelstukjes kunnen worden gecombineerd met allerlei andere relevante gegevens, zoals data over ziektestatus, leeftijd, geslacht, erfelijk materiaal en leefstijl. Dit kan keiden tot een 'digital twin' met voorspellende waarde.

Organen-op-chips kunnen al gebruikt worden in screeningsonderzoek, om een indicatie te krijgen of er mogelijk sprake is van een nadelige bijwerking. Maar om een proefdiervrije innovatie in te zetten voor het bepalen van toxiciteit moet deze eerst internationaal worden geaccepteerd.

Validatietesten

Om orgaan-op-chiptechnologie op te laten nemen in richtlijnen voor het bepalen van toxiciteit is een vorm van validatie nodig. Het onderzoeken van de validiteit van een orgaan-op-een-chipmodel geeft alle belanghebbenden inzicht in de relevantie en de betrouwbaarheid van dat model voor toxiciteitsbepalingen. Validatie is een tijdrovend en moeizaam proces en kan voor een gemiddelde innovatie per toepassing 10 jaar in beslag nemen. Wat het ook lastig maakt, is dat verschillende belanghebbenden bij het proces betrokken zijn, zoals de ontwikkelaars van het model, de industrie en de overheidsinstanties die de toxiciteit van geneesmiddelen en stoffen beoordelen.

Voor organen-op-chips zijn verschillende aspecten belangrijk in het validatieproces. Ten eerste moeten ze betrouwbare voorspellende informatie kunnen geven over de mogelijke toxiciteit in de mens. Daarvoor moet een orgaan-op-een-chip het specifieke mechanisme in de mens nauwkeurig benaderen. Dit wordt vastgelegd in een gestandaardiseerde methode. Deze methode moet robuust zijn. Dit betekent dat kleine verschillen in de omstandigheden waarin de methode wordt uitgevoerd geen invloed mogen hebben op de uitkomsten. Daarnaast moeten de uitkomsten reproduceerbaar zijn. Dat wil zeggen dat een onafhankelijke test door verschillende laboratoria met één set referentiestoffen dezelfde resultaten moet opleveren.

Deze aspecten van validatie gelden voor elke proefdiervrije innovatie. Bij de ontwikkeling van een orgaan-op-een-chip speelt ook de complexiteit van de techniek een rol. Een stelregel hiervoor is: ontwikkel een test die *zo simpel is als mogelijk is en zo complex als nodig*. Het gaat om de balans tussen een complex systeem met veel celtypen, dat een specifiek mechanisme van toxiciteit nauwkeurig kan voorspellen, en een systeem dat makkelijk genoeg te hanteren is om reproduceerbare resultaten in verschillende laboratoria te verkrijgen.

De virtuele mens

Organen-op-chips leveren puzzelstukjes op waarmee uiteindelijk de biologie van de mens in kaart kan worden gebracht. Ieder puzzelstukje leidt tot een set aan gegevens die gecombineerd kunnen worden met allerlei andere relevante gegevens, zoals data over ziektestatus, leeftijd, geslacht of genetische achtergrond, of zelfs over leefstijl. Met behulp van kunstmatige intelligentie en *machine learning* kan dit leiden tot geavanceerde computermodellen, die voorspellend kunnen werken. Een dergelijke virtuele aanpak (de virtuele mens) kan namelijk voor elke individuele patiënt of gezond individu, gebaseerd op zijn of haar data, relevante voorspellingen doen over de toxiciteit van geneesmiddelen en chemische stoffen. Hoewel dit in de toxicologie met de huidige aanpak (waarin de dierproef centraal staat) nog niet mogelijk is, zijn de ontwikkelingen rond deze benadering waarbij de digitale versie van de mens ('digital twin') wordt ingezet om preventief schadelijke effecten te voorkomen in volle gang.

Waarom er soms toch proefdieren n

PROF. DR. GUUS SMIT

Kan de muis of ander proefdier helemaal verdwijnen uit het laboratorium? Waarschijnlijk niet. Sommige organen zijn zo complex dat het onmogelijk is deze te begrijpen door naar cellen in een kweekbakje – of zelfs op een chip – te kijken. Een goed voorbeeld zijn de hersenen.

Complex netwerk

De hersenen van de mens bestaan uit zo'n 80 miljard zenuwcellen omgeven door ondersteunende glia. Recent onderzoek laat zien dat er tenminste honderden verschillende typen zenuwcellen bestaan. Deze zenuwcellen hebben allemaal unieke verbindingen en vormen grote netwerken die tijdens een jarenlang ontwikkelingsproces worden aangelegd. Dat proces begint al voor de geboorte en gaat door tot zeker het 20ste levensjaar. Zenuwcellen ondergaan continu veranderingen door interactie met elkaar en door het verwerken van informatie vanuit onze leefomgeving. Het netwerk van zenuwcellen kan daarbij leren, kan nieuwe verbindingen maken of verbindingen versterken of verzwakken. De hersenen ontvangen informatie van sensoren (zoals ogen en oren), integreren die informatie, en geven een afgewogen signaal naar andere organen, bijvoorbeeld de spieren. Dus je 'ziet' een auto (je herkent het als auto), schat in hoe snel deze bij jou is en je besluit dat het veiliger is om opzij te springen. En dat allemaal binnen een seconde. Een dergelijk ingewikkeld systeem als de hersenen kan daarom alleen worden bestudeerd als het volledig intact is, bijvoorbeeld in een levend mens of proefdier.

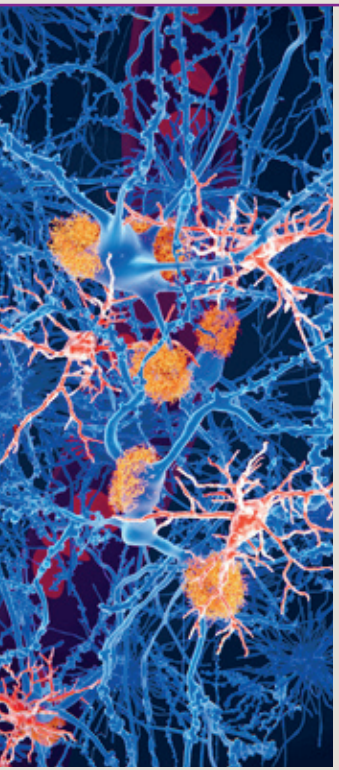
Hersenontwikkeling

Het is niet dat zenuwcellen niet kunnen groeien in een kweekbakje. Al decennia kweken onderzoekers zenuwcellen van knaagdieren in het laboratorium voor onderzoek naar de werking van zenuwcellen. De ontwikkeling van de hiPSC-technologie heeft het bestuderen van bijvoorbeeld menselijke zenuwcellen daaraan toegevoegd. Hier zijn geen proefdieren voor nodig. Echter, deze studies beperken zich allemaal tot de bestudering van 'celbiologie van de zenuwcel'. Dat levert interessante kennis op over de zenuwcel en de interactie met de enkele cellen eromheen. Maar deze experimenten zijn niet voldoende om de complexe communicatie tussen grote aantallen heel diverse zenuwcellen en hun specifieke verbindingen in de intacte hersenen te begrijpen. Niet alleen vanwege het geringe aantal maar bovenal omdat bij zenuwcellen in kweek de cruciale ontwikkelingsperiode van de hersenen ontbreekt, waarbij zenuwcellen zich ontwikkelen door de interactie met elkaar en door informatie van buiten. Daarnaast is het met de huidige stand van de technologie vooralsnog niet mogelijk om de immense diversiteit van hersencellen in kweek na te bootsen.

Hersenziekten

Onderzoek aan intacte hersenen is niet alleen belangrijk om inzicht te krijgen hoe onze hersenen zich ontwikkelen en werken, maar ook hoe hersenaandoeningen zich in de tijd aandienen. Denk bijvoorbeeld aan depressie of Alzheimer, beide het gevolg van langdurige processen door

odig zijn



Illustratie van zenuwcellen met amyloïdeplaques (oranje) en microglia (rood), de afweercellen van de hersenen bij iemand met de ziekte van Alzheimer.

de interactie van de zenuwcellen onderling en met de omgeving. Bij Alzheimer lijken verschillende typen zenuwcellen en afweercellen in onderlinge interactie een heel specifieke rol te spelen in het verdwijnen van het geheugen. Bij depressie is de interactie van het individu met de omgeving bepalend voor de ontwikkeling van het neerslachtige ziektebeeld. Om de ontwikkeling van deze complexe hersenaandoeningen zo goed mogelijk te bestuderen, zijn intacte hersenen nodig. Omdat dit onderzoek bij mensen lastig, zo niet soms onmogelijk is, zijn voor experimenteel onderzoek proefdieren nodig. Het betreft dan meestal muizen of ratten. Het additioneel gebruik van menselijke zenuwcellen in een kweek kan daarbij heel nuttig zijn, bijvoorbeeld om te begrijpen wat er misgaat binnen in een cel. In veel gevallen echter wordt het ziektebeeld bepaald door het niet goed samenwerken van zenuwcellen in grote netwerken; iets dat niet eenvoudig in kweek kan worden nagebootst.

Als onderzoek leidt tot een potentieel medicijn, is het slagen van die therapie vooralsnog afhankelijk van testen in proefdieren. Het is immers lastig om zeker te weten of bijeffecten die alleen in een complex systeem optreden wel in kaart worden gebracht in de simplistische kweekomgevingen. En dat wil men zeker weten voordat mensen aan de nieuwe therapie worden blootgesteld. Uiteindelijk zijn ook mensen aan de beurt in de vorm van een kleine klinische studie, die dan bij goed gevolg kan worden uitgebreid naar behandeling van patiënten op grote schaal.

Computermodel

Kunnen we dan de hersenen en hersenziekten wellicht simuleren in computermodellen of via kunstmatige intelligentie? Dat helpt zeker om inzicht te verkrijgen, maar ook hiervoor is de combinatie met dierexperimenteel werk essentieel. Eén van de belangrijkste doelen van deze modellen is om het functioneren van de complexe biologische systemen te begrijpen en de effecten daarop van externe factoren en stoffen. Dat kan alleen door de resultaten van deze twee onderzoeksrichtingen continu met elkaar in verband te brengen. Modelleren van hersenprocessen en effecten daarop zonder biologische bevestiging van deze neurofysiologische processen in de hersenen leidt al snel tot een verkeerde interpretatie van de werkelijkheid.

Zowel computermodellen als hersencellen in kweekbakjes of op een chip vormen een nuttige aanvulling op het hersenonderzoek. Maar in elk hersenonderzoek speelt uiteindelijk de vraag: doen we het ‘beste onderzoek’ met zo weinig mogelijk proefdieren of doen we het ‘best mogelijke onderzoek’ zonder proefdieren? Een nuttige ‘aanvulling’ is echter geen ‘vervanging’ of ‘transitie’. Hersenonderzoek duurt nu eenmaal lang en is heel duur, maar ook noodzakelijk om de ontwikkeling en complexiteit van de biologie van de hersenen zo goed mogelijk te beschrijven en te begrijpen.

Voor hersenonderzoek, en ook ander onderzoek waar proefdieren essentieel zijn, is het daarom goed te streven naar het ‘beste onderzoek’ met zo min mogelijk proefdieren in plaats van het ‘best mogelijke’ onderzoek zonder proefdieren.

Om een innovatie van het lab naar de praktijk te brengen, moet de zogenaamde ‘valley of death’ worden overbrugd. Dat blijkt vaak een kwestie van vroegtijdige samenwerking tussen ontwikkelaars en eindgebruikers, en alles wat daar tussen zit.

5 Uitdagingen en belemmeringen, hoe nu verder?

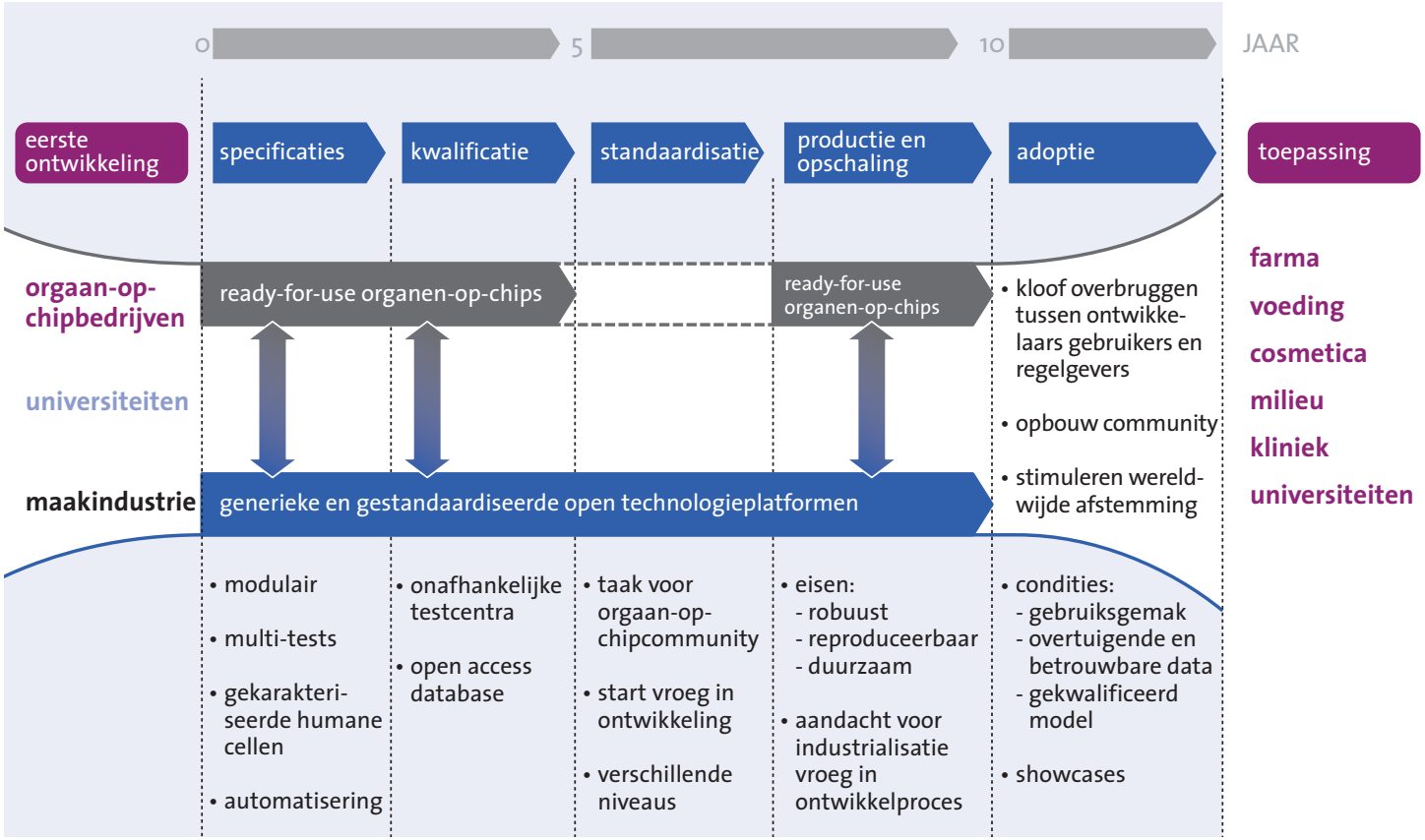
Voordat de organen-op-chips in de gezondheidszorg en bij de farmaceutische industrie als test- en onderzoeksmodellen gebruikt kunnen worden, is er nog heel wat te doen en te regelen. Academici, industrie en regelgevers in Europa hebben daarvoor gezamenlijk een routekaart opgesteld met de stappen die nodig zijn om deze nieuwe modellen in de praktijk te kunnen gebruiken. Om te beginnen moeten de modellen in verschillende laboratoria hetzelfde resultaat opleveren, en geschikt zijn voor standaardisatie en grootschalige productie.

Routekaart voor Europa

DR. JANNY VAN DEN EIJNDEN-VAN RAAIJ

Wat is de stand van zaken wat betreft organen-op-chips? Wat is er nodig om deze nieuwe testmodellen nuttig en aantrekkelijk te maken voor allerlei eindgebruikers? En wat is de weg daarnaar toe? Daarover hebben in 2019 wereldwijd wetenschappers, bedrijven, regelgevers en eindgebruikers gediscussieerd. Het initiatief voor de bijeenkomst kwam van het tweejarige Europese project ORCHID (Organ-on-Chip In Development), dat gecoördineerd werd vanuit Nederland en liep tot eind 2019. Via literatuurstudies, interviews en expertworkshops is geïnventariseerd wat de stand van zaken is van de technologie, waar gebruikers behoefte aan hebben en wat daarbij de grote uitdagingen voor de toekomst zijn.

De uitkomst is een uitgestippelde 'routekaart' voor Europa. Het is een soort wegwijzer die de stappen en tussenstations beschrijft die nodig zijn om orgaan-op-chiptechnologie als innovatie toe te passen in de praktijk. En te laten zien dat deze technologie oplossingen biedt voor maatschappelijke vraagstukken in de gezondheidszorg. De belangrijkste toepassingsgebieden voor de orgaan-op-chiptechnologie zijn voorlopig gepersonaliseerde geneeskunde, effectiviteit van geneesmiddelen, toxiciteit van stoffen en het ontrafelen van ziektemechanismen. Daarvoor moeten de modellen wel gebruiksvriendelijk zijn, voorzien zijn van geïntegreerde sensoren en pompen, aan elkaar te koppelen zijn voor het meten van orgaan-orgaan-interacties en geschikt zijn voor parallelle tests.



De Europese routekaart voor organen-op-chips ontwikkeld in het ORCHID-project.

Voor daadwerkelijke acceptatie van deze innovatie zijn de drie grootste uitdagingen: kwalificatie, standaardisatie en productie en opschaling van de orgaan-op-chipmodellen.

Kwalificatie

Steeds meer academici en bedrijven ontwikkelen eigen orgaan-op-chipmodellen, waardoor een veelheid aan keuzes ontstaat. Maar welke modellen kunnen nu waarvoor worden gebruikt? Eén van de aanbevelingen uit het ORCHID-rapport was dat de modellen onafhankelijk gekwalificeerd en gekarakteriseerd moeten worden voor een gedefinieerd en specifiek gebruiksdoel (*context-of-use*, zie Kwalificatie, overal hetzelfde resultaat). Die onafhankelijke toets is van groot belang om eindgebruikers te laten inzien dat een model betrouwbaar en reproduceerbaar is.

Voor de kwalificatie is een set van testmiddelen nodig waarvan bekend is hoe organen in het menselijk lichaam hierop reageren en hoe dat gemeten kan worden. Op deze wijze kan dan een model gekwalificeerd worden voor een bepaald doel. Het IQ-consortium, een non-profit organisatie van 21 farmaceutische en biotechnologische bedrijven, heeft een lijst van dergelijke testmiddelen, referentiestoffen genaamd, samengesteld. Het is ook belangrijk om de resultaten van de onafhankelijke kwalificatie van organen-op-chips voor de eindgebruikers toegankelijk te maken. Een elegante

manier is om deze data daarvoor op te slaan in een publiek toegankelijke database.

Standaardisatie

Voor standaardisatie moeten orgaan-op-een-chip-modellen reproduceerbaar, robuust en koppelbaar (interoperabel) zijn. Het gaat daarbij niet alleen om de cellen, maar ook om de chips. Dat betekent dat een hart-op-een-chipsysteem van het ene bedrijf naadloos aan moet kunnen sluiten op het lever-op-een-chipmodel van een andere producent en dat ze moeten passen in de aanwezige laboratoriumapparatuur. Dit zou het leven voor onderzoekers een stuk makkelijker maken en studies naar bijvoorbeeld de toxische werking van medicijnen of hun metabolieten op het hart kunnen versnellen.

Echter, de werkelijkheid is anders: iedereen ontwikkelt zijn eigen systeem en daarbij behorende apparatuur. Standaardisatie vraagt om een brede Europese actie, die reeds in gang is gezet door de European Organ-on-Chip Society, EUROoCS (zie Het internationaal perspectief). Zoals gebleken is in de wereld van de elektronische industrie (*Electronic Components and Systems, ECS*) gaat standaardisatie gepaard met een versnelling van de innovatie. Open technologieplatformen voorzien van standaardtechnologie zijn daar al gemeengoed en vormen de basis voor toepassingen op maat door de (eind)gebruiker (zie Standaardisatie en open technologieplatformen).

Productie en opschaling

Hoeveel chips en cellen moeten worden geproduceerd hangt af van het type model en de mate waarin het wordt gebruikt. Voor sommige toepassingen, zoals het screenen van honderden geneesmiddelen in de farmaceutische industrie, zijn systemen met veel chips nodig die parallel geschakeld kunnen worden. Voor onderzoek naar ziektemechanismen op de universiteit kan een afzonderlijke chip volstaan.

Om uiteindelijk voldoende en betaalbare hoeveelheden te produceren, wordt bij voorkeur vanaf het begin van de ontwikkeling rekening gehouden met de vormgeving, de dimensie en de structurele materialen van de chip. Daarnaast is bij opschaling van de modellen kwaliteitscontrole van zowel de technologische als de biologische componenten van belang. Dat vraagt om heldere richtlijnen teneinde die robuustheid te garanderen. Net zoals in de micro-elektronica industrie, zal hoog-volumeproductie waarschijnlijk gepaard gaan met een afname van de productiekosten en variabiliteit en leiden tot hoge reproduceerbaarheid van de chips. Aan de andere kant vraagt massaproductie van chips hoge investeringen, die niet vanzelfsprekend zijn zolang de systemen niet gekwalificeerd zijn. Vandaar dat kwalificatie, standaardisatie, productie en opschaling hand in hand gaan.

Kwalificatie, standaardisatie en productie en opschaling zijn de grootste uitdagingen

Kwalificatie, overal hetzelfde resultaat

IR. BEREND VAN MEER, DR. JANNY VAN DEN EIJNDEN-VAN RAAIJ EN PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY

Als organen-op-chips zo veelbelovend zijn, waarom worden ze dan nog niet in elk farmaceutisch laboratorium gebruikt? Waarom worden er niet continu medicijnen op getest? Er is echter een groot verschil tussen ontwikkeling en gebruik van dit soort modellen in onderzoeksgroepen en toepassing daarvan in de farmaceutische industrie. Voor de industrie moeten de modellen robuust en gekwalificeerd zijn, en moet heel duidelijk zijn wat het model wel en niet kan. In een onderzoeksgroep daarentegen staat nieuwe ontwikkeling voorop en krijgen zaken als reproduceerbaarheid en optimalisatie van protocollen relatief minder aandacht.

In het ideale geval zouden de regelgevende instanties, die beoordelen of de juiste proeven zijn gedaan om een medicijn toe te laten op de markt, goedkeuring moeten geven voor het gebruik van de modellen. Daarvoor hebben ze wel de juiste informatie nodig om hun goedkeuring op te baseren. Maar waar moet die informatie vandaan komen? De farmaceutische bedrijven investeren meestal niet in een model dat misschien niet goedgekeurd wordt, zij investeren in medicijnontwikkeling. Bovendien willen ze niet dat een studie met een alternatief model iets onverwachts oplevert dat moeilijk te interpreteren is en dat de voortgang van de medicijnontwikkeling kan verstoren. De onderzoeksgroepen daarentegen investeren niet in de toepassing van modellen, zij ontwikkelen nieuwe modellen. Bovendien hebben beide partijen een heel duidelijk eigen belang en is hun informatie over het model wellicht gekleurd. Om uit die impasse te komen, zijn er onafhankelijke testcentra nodig die bestaande en nieuwe modellen kwalificeren en valideren.

Een 'fit-for-purpose' orgaan-op-een-chipmodel is een model, dat geschikt is voor een specifiek doel. Dat wil zeggen, dat het niet voor alle soort testen bruikbaar is, maar uitsluitend voor een specifieke toepassing. Een orgaan-op-chipmodel wordt dan ook gekwalificeerd voor die specifieke toepassing.

Testcentra oprichten

Kwalificeren van nieuw ontwikkelde testen vindt continu plaats. Het gaat meestal als volgt: er wordt door één centraal laboratorium een nieuw testmodel geselecteerd, dat wordt onderworpen aan een aantal standaardtesten (kan er met het model gewerkt worden?) en vervolgens aan een aantal model-specifieke testen (bootst het model na wat het moet nabootsen?). Vervolgens worden dezelfde testen gedaan in verschillende laboratoria om de reproduceerbaarheid in kaart te brengen en te controleren of overal hetzelfde resultaat gevonden wordt. Als dit laatste het geval is en de reproduceerbaarheid hoog, kan die informatie worden gedeeld met de regelgevende instanties, die de testmodellen kunnen goedkeuren, en met de farmaceutische industrie, die kan selecteren welk testmodel geschikt is voor welk medicijn.

Voor alternatieve testmodellen voor dierproeven bestaan in Europa al van dit soort testcentra (EURL ECVAM). Het gaat hier om minder complexe modellen zoals simpele cellijnen die gericht zijn op het testen in grote volumes. De manier waarop deze modellen getest worden, is een mooi voorbeeld voor de kwalificatie van organen-op-chips. Vanuit het Nederlandse Orgaan-op-Chip Consortium hDMT wordt er reeds gewerkt aan het realiseren van testcentra die zich specifiek richten op organen-op-chips. Hiermee is een van de belangrijke stappen gezet, zoals beschreven in de routekaart, om de orgaanmodellen naar de praktijk te brengen en zo medicijnen betrouwbaarder te testen en proefdieren (deels) te vervangen.

Standaardtesten en model-specifieke testen

Hoewel de organisatie en aanpak van de testcentra duidelijk is, blijft de hamvraag: welke testen

Er zijn onafhankelijke testcentra nodig die de modellen gaan kwalificeren en valideren.

moeten er uitgevoerd worden om te bewijzen dat wat er in het orgaanmodel gebeurt ook nabootst wat er in een menselijk lichaam plaatsvindt?
De standaardtesten en model-specifieke testen hebben verschillende doelen: de standaardtesten moeten basiseisen van het model in kaart brengen zoals de geschiktheid van het materiaal om cellen op te laten groeien, gebruiksgemak en de levensduur van de celkweek. De model-specifieke testen moeten duidelijk maken voor welke toepassing het model geschikt is (fit for purpose), of het model kan voorspellen wat er met een medicijn in het menselijk lichaam gebeurt, en ook welke voorwaarden en beperkingen er aan het model zitten. Deze laatste testen zijn daardoor erg complex, want hoe is zoiets te bepalen? Lang niet alle processen die zich in het lichaam afspelen zijn bekend. Laat staan dat de interactie tussen verschillende cellen, weefsels of organen volledig begrepen wordt.

Referentiemedicijnen

De organen-op-chips zijn te complex om ze te kwalificeren op basis van de huidige kennis van het menselijk lichaam. Maar het kan ook andersom. De orgaanmodellen zijn wel te kwalificeren met medicijnen waarvan de werking in patiënten bekend is. Zo is er voor modellen die de samentrekking van hartspierweefsel nabootsen een lijst met medicijnen opgesteld die het hart op een verschillende manier beïnvloeden. Ze grijpen bijvoorbeeld allemaal net op een andere bouwsteen van het hartspierweefsel aan: het medicijn nifedipine blokkeert bepaalde calciumkanalen van hartcellen en het middel omecamtiv mecarbil blokkeert eiwitten die er voor zorgen dat de hartspier samentrekt, terwijl beide medicijnen de contractiekracht verlagen. Als vervolgens één van die medicijnen geen reactie laat zien in het hartmodel, kan het zijn dat het hartmodel die bouwsteen mist of dat die bouwsteen nog niet goed functioneert.

Een set met verschillende type medicijnen, waarvan precies bekend is wat het effect is in het menselijk lichaam, worden ‘referentiemedicijnen’ genoemd. Omdat verschillende organen-op-chips verschillende onderdelen van het menselijk lichaam nabootsen, wordt er op dit moment referentiemedicijnen voor verschillende organen en modellen opgesteld. Daarmee kunnen modellen getest worden voor hun specifieke toepassing en kunnen regelgevende instanties op basis van de resultaten goedkeuring geven voor gebruik van het testmodel. Het lijkt misschien paradoxaal, maar zo kan er met medicijnen getest worden of orgaan-op-een-chipmodellen geschikt zijn voor het testen van medicijnen.

Standaardisatie en open technologieplatformen

DR. MART GRAEF

Om organen-op-chiptechnologie in de praktijk succesvol toe te kunnen passen, moet de werkwijze van de biomedische wereld gecombineerd worden met die van de micro-elektronica. In de geneeskunde en in de farmaceutische industrie is het gebruikelijk om apparatuur en medicijnen te ontwikkelen voor specifieke behandelingen, waardoor standaardisatie een minder grote rol speelt. Dit leidt echter tot relatief hoge ontwikkelingskosten, een lange ontwikkeltijd en uiteindelijk dure gezondheidszorg.

Miniaturisatie

In de micro-elektronica staat standaardisatie daarentegen aan de basis van het succes. Al meer dan vijftig jaar is standaardisatie de drijvende kracht achter de elektronische industrie, waarbij het aantal componenten op een enkele chip is gegroeid van 10 in 1960 tot het ontzagwekkende aantal van 1 terabit (10^{12}) vandaag de dag. Deze ontwikkeling werd mogelijk gemaakt door de 'Wet van Moore': de functionaliteit van geïntegreerde schakelingen (integrated circuits, IC's) neemt in de loop van de tijd exponentieel toe terwijl de fabricagekosten afnemen. Ofwel: integratie van functies leidt tot lagere kosten per functie.

Open technologieplatformen

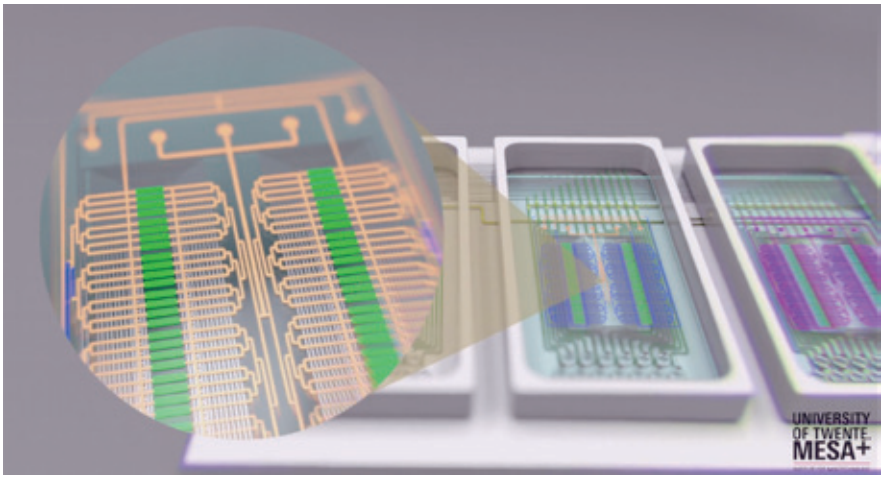
De toegenomen complexiteit in de micro-elektronica is niet alleen een technologische en wetenschappelijke uitdaging, maar vormt tevens de kern van haar innovatieve kracht. Dit vereist verregaande standaardisatie. De enige mogelijkheid om die complexiteit te beheersen, is het opdelen van de technologie in gestandaardiseerde procesmodules. Die modules kunnen weer als bouwstenen worden samengevoegd tot verschillende systemen voor uiteenlopende toepassingen. Een complete set van gestandaardiseerde procesmodules vormt samen een 'open technologieplatform' waarmee verschillende ontwikkelaars aan de slag kunnen om toepassingen op maat te ontwikkelen.

Door deze open technologieplatformen heeft de micro-elektronica zich de afgelopen decennia op fenomenale wijze kunnen ontwikkelen. Zou het mogelijk zijn om deze manier van werken, gebaseerd op standaardisatie en multidisciplinaire samenwerking over de hele waardeketen, toe te passen in de biomedische wereld? Dat idee zou men kunnen betitelen als *'Moore for Medical'*. Een doel op zichzelf is dat niet, maar door het beschikbaar maken van elektronische componenten en systemen via open technologieplatformen in het biomedische domein zouden de enorme uitdagingen in de gezondheidszorg, zowel wat betreft innovatie als de noodzaak van kostenbeheersing, effectief kunnen worden aangepakt.

Technologieplatformen voor organen-op-chips

Het gebruik van gestandaardiseerde bouwstenen voor organen-op-chips zou de toepassingsmogelijkheden ervan enorm vergroten. Dat is ook

De Universiteit Twente heeft een Translational Organ-on-Chip Platform (TOP) ontwikkeld waarop verschillende chipsystemen passen.



noodzakelijk, want ieder mens, ieder orgaan en elke onderzoeksvraag is anders, en de uiteindelijke modellen moeten *fit-for-purpose* zijn. Dat is alleen haalbaar als de ontwikkeling van deze modellen zowel flexibel als betaalbaar is. Elke chip moet beschikken over een combinatie van celvriendelijke vloeistofkanalen, sensoren om meetgegevens of beelden te verzamelen en te verwerken, en ook actuatoren, micro-elektromechanische systemen (MEMS) waarmee een micro-orgaan kan worden gestimuleerd of geprikkeld. Om al deze verschillende componenten te kunnen integreren en aan te sturen, en daarnaast te voldoen aan de wensen van verschillende gebruikers, is een technologieplatform voor organen-op-chips essentieel.

Diverse technologieplatformen voor organen-op-chips zijn inmiddels beschikbaar. Zo is er bijvoorbeeld het door de Universiteit Twente ontwikkelde *Translational Organ-on-Chip Platform*, dat een open gestandaardiseerde interface en aansturing biedt voor microfluïdische chips van verschillende makers. Een ander voorbeeld is een platform gebaseerd op een microfluïdisch kanaal ingebed in een vrijstaand PDMS-membraan, dat is ontwikkeld aan de TU Delft.

De ontwikkeling van technologieplatformen voor organen-op-chips is een enorme opgave. Het is alleen mogelijk door effectief gebruik te maken van de kennis van vele academische en industriële deskundigen en andere belanghebbenden die deel uitmaken van het zogeheten orgaan-op-chipecosysteem. Het belang van interdisciplinaire samenwerking, zowel op nationaal als internationaal niveau, is evident. Een nieuw Europees initiatief in dit verband is het 'Lighthouse Health.E'-programma, dat is opgezet om de toepassing van elektronische componenten en systemen in het medische domein te bevorderen. Enkele samenwerkingsprojecten binnen dit programma richten zich specifiek op organen-op-chips en de ontwikkeling van technologieplatformen.

Voor ontwikkeling van technologieplatformen is het belang van internationale samenwerking evident

Opschalen, van model naar fabriek

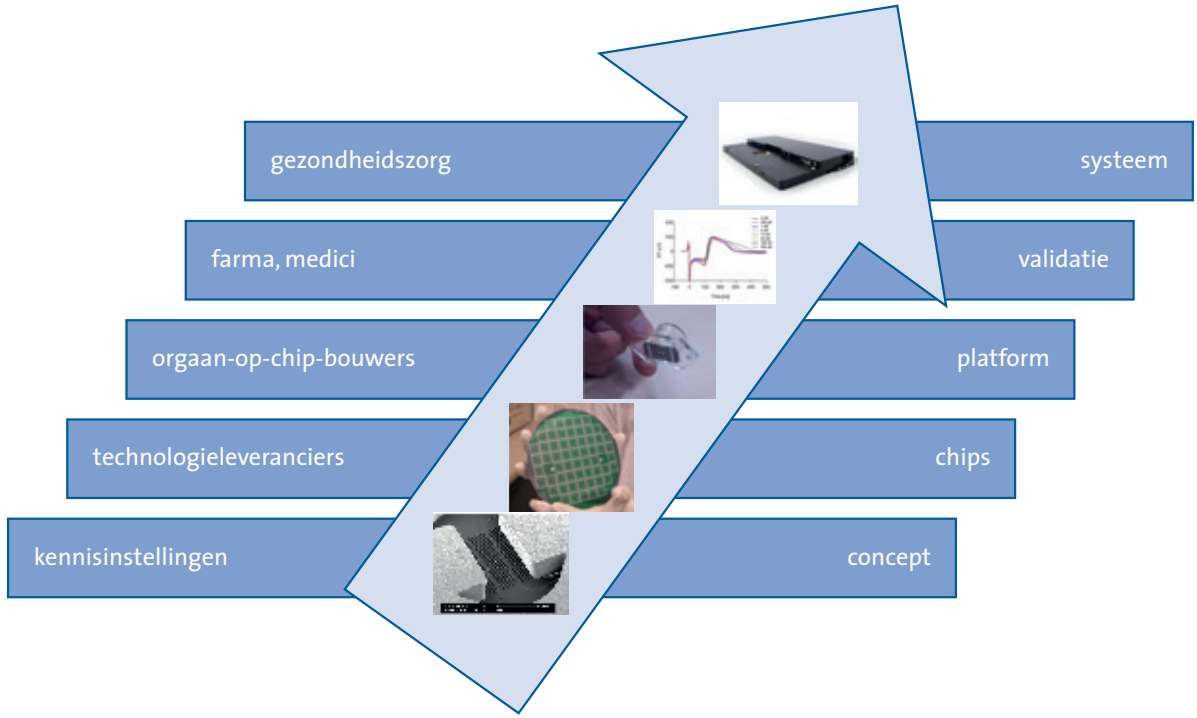
DR. MART GRAEF

Het succes van organen-op-chips zal uiteindelijk worden afgemeten aan de mate waarin ze kunnen worden ingezet voor het genereren van ziektemodellen, de ontwikkeling van nieuwe (gepersonaliseerde) medicijnen en het vaststellen van de effectiviteit van geneesmiddelen. Dat zal alleen mogelijk zijn als organen-op-chips op grote schaal kunnen worden gemaakt en toegepast, waarbij de verkregen resultaten reproduceerbaar en onderling vergelijkbaar zijn. Dat vereist niet alleen een grote mate van standaardisatie, maar ook een fabrieksmatige productie van de benodigde technologieplatformen en de bijbehorende instrumentatie en meetapparatuur.

De waardeketen

Het probleem om op basis van wetenschappelijke onderzoeksresultaten nieuwe producten te ontwikkelen en op de markt te brengen, staat bekend als het overbruggen van de 'valley of death', de imaginaire kloof tussen de universiteit en de eindgebruiker. Maar al te vaak blijkt dat in de academische fase onvoldoende aandacht wordt besteed aan aspecten als reproduceerbaarheid, maakbaarheid en kostprijs, waardoor een briljant idee alsnog kan sneuvelen tijdens de productontwikkeling. Dit kan worden voorkomen door al vanaf het begin van het innovatietraject alle partijen die deel uitmaken van de waardeketen bij het project te betrekken.

De waardeketen van het orgaan-op-een-chipecosysteem bestaat uit kennisinstellingen die zich richten op de ontwikkeling van miniorganen en platforms, technologieleveranciers die zorgen voor de fabricage van deze platformen, eindgebruikers in de hoedanigheid van onder andere



De waardeketen voor orgaan-op-een-chiptechnologie. Kennisinstellingen bedenken en ontwerpen een eerste concept voor een orgaan-op-een-chip. De componenten die hiervoor nodig zijn, zoals de microchip, elektroden, micropompen, sensoren en cellen, worden gemaakt en geleverd door verschillende technologieleveranciers. Deze componenten worden samengebracht, bijvoorbeeld in een plaat die de fysiologische micro-omgeving van het miniorgaan nabootst (een smart well plate). Dit orgaan-op-een-chipplatform kan na kwalificatie en validatie worden gebruikt voor het ontwikkelen en maken van specifieke orgaan- en ziektemodellen. Het eindresultaat is een gestandaardiseerd systeem voor de ontwikkeling van gepersonaliseerde medicijnen en andere toepassingen in de gezondheidszorg.

(academische) ziekenhuizen en de farmaceutische industrie, en ten slotte organisaties van belanghebbenden zoals patiëntenorganisaties, zorgverzekeringen, regelgevers en overheden. De inzichten en wensen van al deze partijen zijn essentieel voor de ontwikkeling van optimale technologieplatformen waarmee de kloof tussen het universitaire onderzoek en de eindgebruikers kan worden overbrugd.

Eindgebruik bepalend

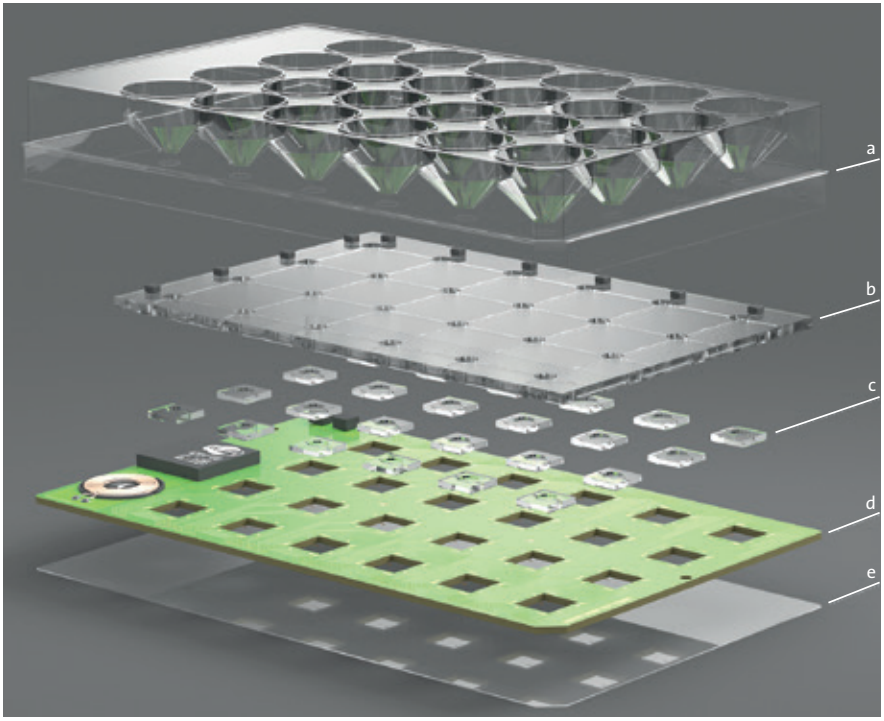
Omdat de platformen voor orgaan-op-chiptechnologieën toegesneden moeten zijn op verschillende gebruiksmogelijkheden, is het noodzakelijk de gehele waardeketen te betrekken bij de ontwikkeling. Voor studies naar ziektemechanismen zou kunnen worden volstaan met een enkelvoudige chip, maar voor onderzoek naar effectiviteit en toxiciteit van medicijnen is er behoefte aan grootschalige parallelle analysemogelijkheden, waardoor veel orgaan-op-een-chipmodellen naast elkaar kunnen worden gebruikt. Hiervoor zijn zogeheten *smart multiwell plates* nodig, zoals die bijvoorbeeld in het kader van het Europese project *Moore4Medical*, worden gebouwd.

Deze platformen hebben een standaardafmeting en kunnen flexibel en op maat toegepast worden voor bijvoorbeeld het onderzoek naar de functie van de orgaanweefsels in een alvleesklier-op-een-chip, hart-op-een-chip of huid-op-een-chip. Hiervoor zijn aparte meetsystemen nodig, ieder met eigen micropompen, toevoerkanaaltjes en sensoren. Daarin kunnen de platforms voorzien. Als het gehele platform gevuld is met alleen hart-op-een-chip systemen naast elkaar, kan via geïntegreerde sensoren van heel veel medicijnen tegelijkertijd gemeten worden welk medicijn de werking van het hart remt (toxiciteit) en welk medicijn niet. Een directe betrokkenheid van de eindgebruikers zal voor al deze gevallen reeds tijdens de ontwerpfase van het platform onontbeerlijk zijn.

Een businessmodel

Orgaan-op-chiptechnologieën zullen pas commercieel verkrijgbaar zijn voor de farmaceutische industrie of academische ziekenhuizen wanneer bedrijven het voldoende interessant vinden om daarin te investeren. De huidige technologieleveranciers – de bouwers van de orgaan-op-een-chipmodellen – zijn veelal startups en spin-offs van universiteiten en andere kennisinstellingen. Voorbeelden daarvan zijn Mimetas en Micronit (UTwente), BI/OND (TUDelft) en Emulate (Wyss Institute, Verenigde Staten) voor de chips, en Ncardia voor de cellen.

Gezien vanuit een biomedisch en technologisch perspectief gaan de ontwikkelingen de laatste jaren bijzonder snel: van enkelvoudige celculturen in petrischalen naar mini-organen die parallel in *smart well plates* met 12, 96, 384 of 1056 minibakjes kunnen worden onderzocht. Toch is dit pas het begin van de ontwikkeling. Het concept van gestandaardiseerde technologieplatformen, dat het fundament vormt van het businessmodel van de micro-elektronica, is ook toepasbaar in het nieuwe domein van de orgaan-op-chiptechnologie.



De *smart-multiwell*-plaat zoals die in het Europese project Moore4Medical ontwikkeld wordt. a) 6x4 hermetisch afgesloten kweekbakjes (wells), b) plaat met microfluïdische kanaaltjes en micropompjes, c) chip modules waar cellen in kunnen groeien, d) printed circuit board met wifi, en e) transparante bodemplaat.

Hierdoor kunnen niet alleen in het onderzoekslaboratorium ontwikkelde organen-op-chips opgeschaald worden naar industriële toepassingen, maar zullen ook gevestigde biomedische bedrijven en startups aangetrokken worden. Deze zullen op hun beurt bijdragen aan het beschikbaar komen van organen-op-chips voor de gezondheidszorg.

Het internationaal perspectief

DR. JANNY VAN DEN EIJNDEN-VAN RAAIJ
EN DR. MIEKE SCHUTTE

Samenwerking is het sleutelwoord om een technologie als organen-op-chips daadwerkelijk in de praktijk te brengen. Er zijn veel partijen betrokken die elkaar aanvullen en versterken in de ontwikkeling, productie en marketing van dergelijke modellen. Wetenschappers bedenken methoden om cellen tot miniorganen te laten uitgroeien en ontwerpen de behuizing (de chips) voor die organen. Bedrijven brengen hun kennis en expertise in over productie, opschaling en markt. Regelgevende instanties stellen richtlijnen op om de orgaan-op-chipmodellen op een veilige en verantwoorde manier toe te passen. En uiteindelijke zullen de modellen gebruikt worden in de gezondheidszorg, maar ook voor het testen van voeding, chemicaliën en cosmetica.

Nationale samenwerking organiseren

Door kennis en ideeën met elkaar te delen, wordt meer bereikt dan alleen. In Nederland hebben we die samenwerking goed voor elkaar met het instituut hDMT als drijvende kracht achter de ontwikkeling van miniorganen-op-een-chip. hDMT, dat staat voor *Institute for human organ and disease model technologies*, is een non-profit samenwerkingsverband dat in 2015 is opgericht door en voor wetenschappers. Binnen hDMT werken publieke kennisinstellingen en private organisaties, zoals bedrijven en fondsen, samen. De meer dan duizend aangesloten wetenschappers hebben elk hun eigen specialiteit en daarmee een toegevoegde waarde voor het samenwerkingsverband en de ontwikkeling van de technologie. Nationale en internationale bedrijven brengen hun expertise in over het productieproces, de opschaling van de producten en de marktvraag. Wanneer er patenteerbare resultaten uit de gezamenlijke projecten voortkomen maken de betrokken partners zelf afspraken over het intellectuele eigendom en de aan te vragen patenten.

Wetenschappers uit heel Nederland treffen elkaar regelmatig binnen de themagroepen van hDMT. Hier worden nieuwe onderzoeksresultaten en ideeën besproken. Er zijn inmiddels zeven themagroepen, elk gericht op een specifiek orgaan of ziekte. Zo wordt er gewerkt aan bloedvaten, darm en lever, hart, hersenen, oog, skeletspieren en kanker en combinaties daarvan. Dit heeft bijvoorbeeld geleid tot een nationaal tienjarig onderzoeksprogramma: NOCI (Nederlands Orgaan-op-Chip Initiatief) gefinancierd door het NWO-programma Zwaartekracht, waarin orgaan-op-een-chipmodellen voor hart, hersenen en darmen worden ontwikkeld en hun onderlinge interacties worden bestudeerd. Er wordt bijvoorbeeld onderzocht wat er in de hersenen gebeurt als het microbioom (alle micro-organismen in de darmen) ernstig wordt verstoord. Aan dit programma nemen zeven hDMT-onderzoeksgroepen deel met veel (jonge) enthousiaste wetenschappers.

Over landsgrenzen heen

Voor de ontwikkeling van innovatieve orgaan-op-een-chipmodellen is het niet alleen belangrijk om over de grenzen van vakgebieden heen samen te werken, maar ook over landsgrenzen. Met het Nederlandse hDMT als voorbeeld zijn er inmiddels diverse nationale orgaan-op-chipnetwerken gevormd in Europa, zoals in het Verenigd Koninkrijk, de Scandinavische landen en Zwitserland.

In het kader van het mede door hDMT gecoördineerde Europese project ORCHID (zie Routekaart voor Europa) werd in 2018 de European Organ-on-Chip Society (EUROoCS) opgericht. Onderzoeksgroepen en organisaties uit meer dan 20 Europese landen zijn al verenigd in het EUROoCS-netwerk. Bovendien kan elke wetenschapper wereldwijd lid

Een deel van de Nederlandse wetenschappers die betrokken zijn bij het Organ-on-Chip consortium hDMT tijdens de jaarlijkse consortiummeeting (februari 2020).

worden van EUROoCS. Het doel van de vereniging is om de ontwikkeling van orgaan-op-chiptechnologie te bevorderen door de uitwisseling van kennis en vaardigheden op dit gebied te stimuleren, onder andere via de jaarlijkse conferentie. Deze conferentie, die ieder jaar in een ander land wordt georganiseerd, brengt wetenschappers in contact met elkaar en met bedrijven – van startups tot grote farmaceutische bedrijven. Dit versterkt bestaande relaties en initieert nieuwe samenwerkingen, waardoor de internationale gemeenschap blijft groeien.

In Europees verband is ook een Internationaal Trainings Netwerk voor organen-op-chips opgezet. Binnen dit netwerk wordt een nieuwe generatie wetenschappers opgeleid en getraind om innovatieve orgaan-op-een-chipmodellen te ontwikkelen en werken deze onderzoekers samen in internationale uitwisselingsprogramma's.

Daarnaast lobbyt EUROoCS bij overheden en fondsen voor nieuwe financieringsmogelijkheden voor onderzoek naar organen-op-chips, en om de potentie van deze technologie internationale bekendheid te geven. Realistische communicatie over de mogelijkheden en beperkingen van de technologie maakt ook burgers en de samenleving bekend met organen-op-chips.

Onder de paraplu van EUROoCS werken al deze initiatieven stap voor stap naar een Europees Center of Excellence op het gebied van organen-op-chips. Zo wordt een sterke basis gelegd voor de wereldwijde ontwikkeling en toepassing van deze veelbelovende modellen.

Zijn er juridische belemmeringen om

DR. SONJA BEKEN

Voordat een geneesmiddel op de mens getest kan worden, vereist de regelgeving dat relevante gegevens over de veiligheid en werkzaamheid van het middel verzameld zijn volgens vastgestelde richtsnoeren. Die vragen vaak om het gebruik van proefdieren.

3V-benaderingen

Uit ethische overwegingen met betrekking tot dierenwelzijn moet het gebruik van dieren zoveel mogelijk worden beperkt. De Europese Richtlijn voor de bescherming van proefdieren (Richtlijn 2010/63/EU) bepaalt dat het principe van de 3V's (vervanging, vermindering en verfijning) de keuze van de te gebruiken testmethoden stuurt. Deze 3V's worden ook consequent toegepast bij het schrijven of herzien van richtsnoeren (aanbevelingen), zowel op Europees als wereldwijd niveau. Zo werden de afgelopen jaren al verschillende 3V-benaderingen in richtsnoeren opgenomen. In tegenstelling tot richtlijnen zijn richtsnoeren niet juridisch bindend en worden ook wel aangeduid met de term 'soft law'. Zowel regelgevende instanties als aanvragers/houders van een handelsvergunning zoals een farmaceutisch bedrijf, kunnen, indien wetenschappelijk onderbouwd, afwijken van een richtsnoer.

Het Europees Geneesmiddelenbureau (EMA) richtte in 2010 een specifieke werkgroep op: de 'Joint 3Rs (*Replacement, Reduction and Refinement*) Working Group'. Deze werkgroep heeft als opdracht om de implementatie van de 3V's in regelgeving voor geneesmiddelen te bevorderen en om samenwerking met andere Europese groepen te versterken. Sindsdien zijn alle relevante richtsnoeren grondig herzien en deed de werkgroep aanbevelingen voor verdere optimalisatie. Dit overzicht is gepubliceerd op de website van EMA en kan door onderzoekers als leidraad worden gebruikt voor de ontwikkeling van nieuwe testmethoden binnen kritieke regelgevingsgebieden.

Momenteel zijn er nog geen specifieke richtsnoeren die het gebruik van organen-op-chips aanbevelen voor het aantonen van de veiligheid of werkzaamheid van geneesmiddelen. Het onderzoek naar deze modellen is nog in volle opmars en wordt door regelgevende instanties op de voet gevolgd. Begin oktober 2017 werd een workshop door EMA met alle betrokken partijen georganiseerd. Het doel was om zicht te krijgen op de stand van zaken van deze technologie in Europa en om een actieplan voor te stellen hoe orgaan-op-een-chipmodellen deel kunnen uitmaken van geneesmiddelenontwikkeling.

Kwalificatiestudies

Voor de acceptatie van elke methode die binnen het kader van het 3V-principe valt, dus ook organen-op-chips, zijn er kwalificatiestudies nodig. Deze studies bepalen of een methode kan worden opgenomen in een richtsnoer of bruikbaar is voor het nemen van beslissingen over veiligheid van geneesmiddelen. Deze kwalificatiestudies hebben dus als doel om de bruikbaarheid en de betrouwbaarheid van een testmethode binnen een vooraf bepaalde context aan te tonen. Met andere woorden, het moet duidelijk zijn in welke mate een orgaan-op-een-chipmodel voor een vooraf

de modellen te gebruiken?

Sinds kort staat het hoofdkantoor van het Europees Geneesmiddelenagentschap (EMA) aan de oostzijde van de Amsterdamse Zuidas. EMA verliet Londen door de uittreding van het Verenigd Koninkrijk uit de Europese Unie.

bepaalde reeks van referentiestoffen een eindpunt kan meten en de verwachte resultaten oplevert. Dit eindpunt is relevant voor een bepaald doel, binnen de geldende eisen voor werkzaamheid en veiligheid van geneesmiddelen (*context-of-use*). Zo is het belangrijk om zeer vroeg in de ontwikkeling van een geneesmiddel te kunnen opsporen of deze stof hartritmestoornissen kan veroorzaken (=doel). Dit zou mogelijk kunnen zijn door het effect van dat geneesmiddel op de elektrische geleiding in hartspiercellen-op-een-chip te meten (=eindpunt). Om echter met zekerheid te kunnen stellen dat deze meting correct is, moet het model getest worden met stoffen waarvan men weet dat deze hartritmestoornissen veroorzaken (=referentiestoffen).

De kwalificatie van nieuwe methoden bepaalt of regelgevende instanties, zoals EMA, de resultaten verkregen met deze nieuwe methoden zullen accepteren of niet. Kwalificatiestudies, uitgevoerd door bijvoorbeeld de eindgebruiker, de modelontwikkelaar, of consortia, al dan niet in samenwerking met regelgevende instanties, moeten bepaalde procedures volgen die duidelijk beschreven staan in richtsnoeren van EMA.

Internationale dialoog

Het type kwalificatiestudie en de te onderzoeken parameters en referentiestoffen zijn afhankelijk van de betrokken methode of technologie en van de context-of-use. Voor organen-op-chips is er behoefte aan specifieke aanbevelingen. Hiervoor is overleg tussen ontwikkelaars, eindgebruikers en regelgevende instanties in een vroeg stadium essentieel. Een dialoog met regelgevende instanties, zoals EMA, zorgt ervoor dat deze ervaring opbouwen met de toepassing van deze nieuwe technologie.

De ontwikkeling van organen-op-chips speelt zich wereldwijd af en de meeste richtsnoeren over het testen van geneesmiddelen hebben een internationaal karakter. Internationale samenwerking is dus nodig. Overleg tussen EMA en de Amerikaanse evenknie, de Food and Drug Administration (FDA), is al opgestart. De ervaring die de FDA momenteel opbouwt, door samen te werken met commerciële ontwikkelaars van organen-op-chips,

voor de evaluatie van deze technologie, wordt vanuit Europa van nabij gevolgd.

De weg naar acceptatie

Organen-op-chips zijn een veelbelovende technologie met potentieel voor onderzoek naar zowel de veiligheid, biologische beschikbaarheid als de werkzaamheid van geneesmiddelen. Er is wel nog veel onzekerheid over het gebruik van orgaan-op-een-chipmodellen binnen het regelgevend kader voor geneesmiddelen. Dit is onder andere te wijten aan een gebrek aan ervaring en onafhankelijke kwalificatiestudies. Meer technische aspecten zoals de brede diversiteit aan chips per orgaansysteem, de waaier aan celtypen van menselijke oorsprong en onzekerheid over de integratie van verschillende orgaansystemen, dragen hiertoe bij.

De toepassing van orgaan-op-een-chipmodellen door de farmaceutische industrie, kan leiden tot een meer accurate selectie van mogelijke geneesmiddelen. Stoffen met een gunstig veiligheidsprofiel en een optimale werkzaamheid zouden in een vroege fase van ontwikkeling van een geneesmiddel kunnen worden geïdentificeerd aan de hand van testen met organen-op-chips. De hierbij gegenereerde resultaten kunnen de kwalificatie van deze methodes mede onderbouwen en de uiteindelijke acceptatie ervan door de regelgevende instanties vergemakkelijken.

Richtsnoeren zijn niet-bindende besluiten die de grote lijnen op een bepaald beleidsterrein in de Europese Unie uitzetten. Richtsnoeren zijn zelf weliswaar niet bindend, maar zijn vaak het kader waarin vervolgens wel bindende besluiten worden genomen. De EU voorziet in richtsnoeren op de terreinen van het gemeenschappelijk buitenlands en veiligheidsbeleid, het werkgelegenheidsbeleid, macro-economisch beleid, en meer praktisch, trans-Europese netwerken.

Epiloog: jouw lichaam-op-een-chip

PROF. DR. CHRISTINE MUMMERY EN PROF. DR. IR. ALBERT VAN DEN BERG

HOE MOOI zou het zijn, als een patiënt over tientallen jaren met hartklachten bij de dokter komt, deze dan eerst wat huidcellen afneemt om hiPSC's te laten maken voor een minihart-op-een-chip, waarmee de arts kan testen welke medicijnen specifiek voor zijn of haar patient geschikt zijn. Of dat wanneer iemand kanker heeft, de arts het tumorweefsel-op-een-chip laat kweken en test welke chemotherapie gegarandeerd aanslaat. Dat laatste begint nu eigenlijk al met tumororganoïden.

Stap voor stap

Het is mogelijk, maar dan moeten er nog hele grote stappen gemaakt worden in de efficiëntie en snelheid waarmee dit gebeurt. De chips moeten nog kleiner worden om kosten te besparen en bij voorkeur wordt alles door robots gedaan. Niet alleen is dat nauwkeuriger maar een robot kan dag-en-nacht doorwerken, en aan duizenden chips tegelijk. Alleen dan is er kans dat echte gepersonaliseerde organen-op-chips beschikbaar komen voor de reguliere geneeskunde. Maar zover is het nog lang niet. De kennis van de immunologie en het microbioom is nog niet zodanig ontwikkeld dat er mee 'gespeeld' kan worden in de organen-op-chips. Het afweersysteem en microbioom is voor iedereen anders dus het is moeilijk te voorspellen hoe dat de uitkomst van medicijntesten kan beïnvloeden, ook al zijn de cellen in de chip van de patiënt in kwestie.

Voorlopig zet men steeds een stapje verder, van een enkele cel tot meerdere celtypen-op-een-chip, van een enkel orgaan tot een aantal organen-op-chips aan elkaar gekoppeld. Komt het daarmee ooit tot een heel lichaam-op-een-chip? En nog afgezien van de vele uitdagingen, zowel technisch als in tijd en kosten, is het wel zinvol?

Verbindende factor

Een van de technische uitdagingen is hoe de verschillende organen-op-chips met elkaar verbonden moeten worden. De verschillende microfluïdische kanalen van de ene chip op de andere aansluiten is niet zo simpel. Elk cel- en orgaantype heeft zijn eigen type 'leefvloeistof' nodig: met verschillende voedingsstoffen, verschillende zuurgraden en verschillende energiebronnen, zoals glucose, andere suikers of vetzuren.

In het lichaam zijn onze organen verbonden door bloedvaten: in totaal 60.000 kilometer. Maar niet ieder bloedvat is hetzelfde. Sommige bloedvaten transporteren zuurstofrijk bloed (arteriën), andere zuurstofarm (venen). Soms zijn ze heel dun met langzaam lopend bloed (capillaire bloedvaten), soms zijn ze heel breed en hebben een dikke wand (bijvoorbeeld de aorta) waarvan de binnenste laag bestaat uit endotheelcellen en de buitenste laag uit heel veel laagjes gladde spiercellen voor de stevigheid. Als de verbindingen tussen verschillende organen-op-chips op bloedvaten zouden lijken, dan zou het mogelijk zijn om dezelfde vloeistof voor alle organen te gebruiken.

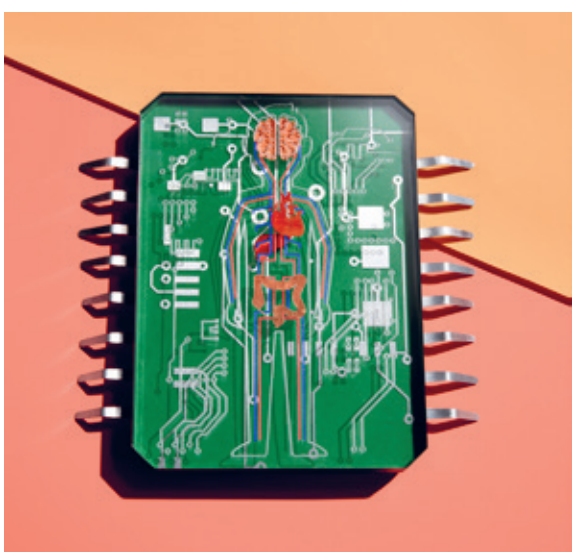
Lichaam-op-een-chip

Door de organen-op-chips met elkaar te verbinden via de vloeistofkanaaltjes kunnen processen

in het menselijk lichaam worden nagebootst. Zo wordt het niet alleen mogelijk om de reactie van medicijnen op het hart, of lever, of long te testen maar ook of de organen elkaar beïnvloeden. Bijvoorbeeld of een effect van een hartmedicijn anders is, wanneer de lever aan het hart is gekoppeld, omdat de lever het hartmedicijn omzet naar een andere vorm die niet, minder goed of zelfs averechts werkt.

Hier wordt al door enkele laboratoria in de wereld aan gewerkt. Zo verbond het team van Don Ingber, de Amerikaanse pionier op gebied van organen-op-een-chip, acht verschillende orgaanmodellen – darm, lever, nier, hart, long, huid, de bloed-hersenbarrière en hersenen – drie weken lang met een 'bloedsomloop' om de interactie te kunnen monitoren. Ook werd de invloed van nicotine op de menselijke organen in een multi-orgaan-op-chipmodel nagebouwd.

De uitdaging is nu om een standaardplatform, een soort printplaat waarop verschillende componenten zijn vast te 'klikken', te ontwikkelen om alle gewenste mini-organen en vaatstelsels aan elkaar te koppelen, en ook het afweersysteem en het microbioom hier in mee te nemen. Het is niet de vraag of dit lukt, maar wanneer dit realiteit is.



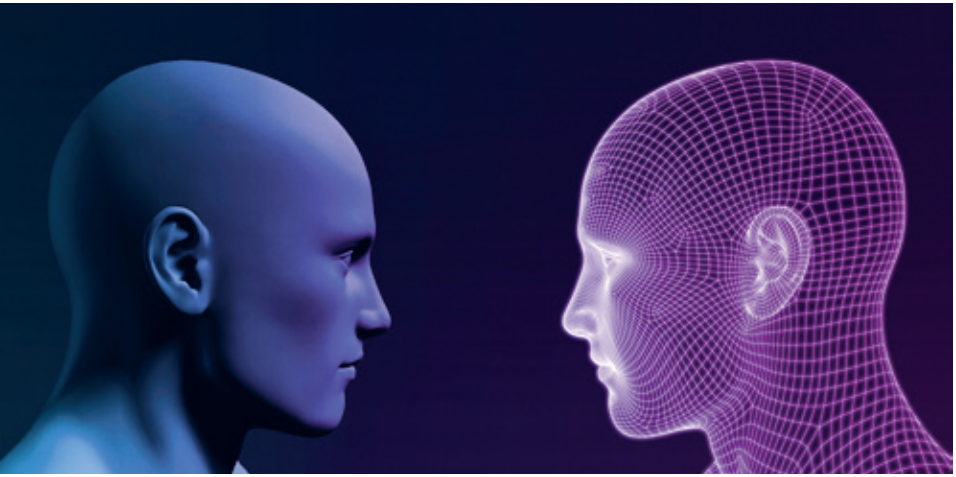
Op een dag schrijft een dokter medicijnen voor gebaseerd op hoe jouw lichaam-op-een-chip hierop reageert.

Covid-19: rol voor orgaan-op-een-chipmodellen?

Eind 2019 begon het langzaam duidelijk te worden dat een heel besmettelijk en bijzonder virus veel mensen ziek maakte in China. Een ziekte die mogelijk begon op een markt waar verschillende exotische dieren in de voedselketen kwamen. Voor het einde van het eerste kwartaal 2020 was de wereld helemaal in de grip van deze 'griep'pandemie die zijn gelijke niet kent in onze tijden. Covid-19 heet de ziekte.

Niet iedereen wordt ziek door het virus en sommigen hebben slechts lichte verschijnselen, maar een deel van de mensen wordt ernstig ziek. Naast koorts lijkt het virus eerst de longen van een patiënt aan te tasten en moet een besmet persoon vaak heel veel hoesten. Het is inmiddels duidelijk dat ook veel andere organen worden aangetast: bloedvaten zijn 'lek' geworden, longen vullen zich met vocht en bloedklontjes ontstaan in sommige patiënten door het hele lichaam. De darmen kunnen ook worden aangetast en patiënten hebben dan buikpijn en diarree. De lever laat ook ziekteverschijnselen zien en het virus vermeerdert zich razendsnel in al die organen.

Het is dan ontzettend moeilijk om te weten hoe de patiënten behandeld moeten worden. Artsen geven bekende middelen zoals chloroquine tegen malaria, maar dat kan bijwerkingen hebben op het hart, zo erg dat er zelfs plotselinge hartstilstand kan optreden. En mogelijk werkt het niet eens tegen het virus. Moeten artsen het eigen afweersysteem van de patiënt activeren of juist remmen om een zogenaamde 'cytokinestorm' te voorkomen, een verschijnsel dat lijkt op de gevolgen van bloedvergiftiging (sepsis) en waaraan veel mensen nog steeds overlijden. De nier is ook vaak aangetast: sommige patiënten moeten permanent aan de nierdialyse na herstel van de virusinfectie.



Zijn Digital Twins straks de redding van de uit de hand lopende kosten voor de gezondheidszorg?

Wat kunnen orgaan-op-een-chipmodellen bieden? Eerder in dit cahier was al te lezen dat er voor de long, hart, lever, darm en bloedvaten, orgaan-op-een-chipmodellen in ontwikkeling zijn. Allemaal organen die zijn aangetast in Covid-19-patiënten. Deze modellen in combinatie met organoïden van verschillende organen, of met lichaamscellen afkomstig van hiPSC's, of adulte stamcellen zouden heel goed een grote bijdrage kunnen leveren aan het begrijpen en behandelen van deze nieuwe ziekte. Niet alleen kunnen de modellen inzicht geven in hoe het virus in het lichaam werkt maar ook wat de effecten en bijeffecten van nieuwe of bestaande medicijnen zijn.

Digital Twin

Een ander toekomstbeeld is dat iedere patiënt of zelfs burger straks een 'Avatar' heeft, een soort virtuele digitale tweeling (Digital Twin) waar niet alleen alle medische gegevens in zitten maar ook gegevens over iemands conditie, leefwijze en sociaal gedrag. Natuurlijk moet hiervoor de privacy absoluut gewaarborgd zijn, maar zo'n Avatar zou de perfecte (huis)arts na kunnen bootsen: alle ooit genomen röntgenfoto's, medicaties, gevolgen van ongevalletjes en oorzaken van ziekenhuisopnamen zitten in de Avatar, wellicht ook hoeveel en welke voedingsmiddelen ingenomen zijn, alsmede sportactiviteiten en gegevens van allerlei zelfmeetapparaten (fitbits).

In deze ontwikkeling kunnen gegevens van organen-op-chips een heel belangrijke aanvulling zijn: hoe organen reageren op bepaalde externe factoren en op medicatie kan worden verwerkt in de Digital Twin. Met kunstmatige intelligentie kan een patiënt dan een op maat advies krijgen over zijn of haar optimale therapie, en misschien nog beter, ook preventieve voedings- en gedragsadviezen krijgen om ziekten te voorkomen. Onderzoek heeft laten zien dat 80% van de gezondheidskosten preventief te voorkomen is, terwijl slechts 3% van alle gezondheidskosten wordt besteed aan preventie.

Kortom, zo'n Digital Twin zou, mits gevoed met de juiste informatie zoals uit orgaan-op-een-chipmodellen, een enorme efficiëntieslag in de gezondheidszorg kunnen betekenen. Wanneer het privacy aspect goed geregeld en gegarandeerd is, dan zijn Digital Twins met organen-op-chips misschien wel de redding van de momenteel uit de pan rijzende kosten van het gezondheidssysteem!

Meer informatie

Onderzoek aan organen-op-chips:

- Het Nederlands onderzoeksconsortium: the Institute for human Organ and Disease Model Technologies: www.hdmt.technology
- Netherlands Organ-on-Chip Initiative, NOCI: noci-organ-on-chip.nl
- Organ-on-Chip Center Twente: www.utwente.nl/en/mesaplus/research/centres-of-expertise/oocct/
- Europese trainingsnetwerk voor Organs-on-Chips: www.eurooc.eu
- Europese vereniging voor Organ-on-Chip: www.euroocs.eu
- Engels Organ-on-a-chip Technologies Network: www.organonachip.org.uk
- Organ-on-Chip in Development (ORCHID): www.H2020-orchid.eu

Video's

- Het Klokhuis, Seizoen 30 Aflevering Mini-organen: www.npostart.nl/het-klokhuis/10-12-2019/VPWON_1260561
- Translational Organ-on-Chip Platform: www.youtube.com/watch?v=mbqdRp0lSJw&feature=emb_logo
- Your heart on a chip? TEDx Universiteit Van Amsterdam: www.youtube.com/watch?v=YRdGDpEYqbA
- Een lichaam-op-een-Chip: www.youtube.com/watch?time_continue=22&v=nkkBu8GrExk&feature=emb_logo
- Bioprinting, how to 3D print human tissue: www.youtube.com/watch?v=uHbn7wLN_3k
- ICLON Gastles Proefdiervrije Innovatie & Proefdieren: www.universiteitleiden.nl/gastlessen/cursussen/digitale-gastlessen/proefdiervrij
- Smart well plate for organ-on-chips: https://www.youtube.com/watch?time_continue=2&v=H5950GbMdyM&feature=emb_logo
- Animatie over long-op-een-chip, darm-op-een-chip: https://www.youtube.com/watch?v=0jf6Tor9WtA&feature=emb_logo
- Astma-onderzoek zonder proefdieren: www.youtube.com/watch?time_continue=9&v=WOyTKxtwd8Q&feature=emb_title

Enkele onderzoekspublicaties

- De impact van organ-op-een-chiptechnologie op kosten gezondheidzorg beschreven in de box bij hoofdstuk 2, https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.06.003
- De routekaart voor Europa beschreven in hoofdstuk 5, Building blocks for a European Organ-on-Chip roadmap, https://doi.org/10.14573/altex.1905221

Proefdieren en alternatieven

- KNAW rapport Inventarisatie: het belang van dierproeven en mogelijkheden tot vermindering daarvan in fundamenteel-neurowetenschappelijk onderzoek, 27 juni 2019: www.knaw.nl/nl/adviezen/gepubliceerde-adviezen/inventarisatie-belang-proefdieren-neurowetenschappen
- TPI Universiteit Utrecht ondersteunt transitie proefdiervrije innovaties: www.uu.nl/en/research/life-sciences/communities/tpi-utrecht
- Informatie over Nederlandse dierproeven is te

vinden in 'Zo doende': https://bit.ly/39bgHl7.
- Informatie over het wereldwijde gebruik van proefdieren:
  Facts and figures https://bit.ly/30nz1np
  Lushprize: https://bit.ly/2ZDFWcU.
- Informatie over dierproeven in Europa: https://bit.ly/30lQKM0.
- EURL ECVAM EU Reference Laboratory for alternatives to animal testing: https://ec.europa.eu/jrc/en/eurl/ecvam

Wet- en regelgeving
- Ethical use of animals in medicine testing: https://bit.ly/3he4v69.
- Review and update of EMA guidelines to implement best practice with regard to 3Rs (replacement, reduction and refinement) in regulatory testing of medicinal products – report on actions taken: https://bit.ly/3fHhGfj.
- Reflection paper providing an overview of the current regulatory testing requirement for medicinal products for human use and opportunities for implementation of the 3Rs: https://bit.ly/3fJhnAN.
- First EMA workshop on non-animal approaches in support of medicinal product development: challenges and opportunities for use of microphysiological systems: https://bit.ly/30rrUtQ (pdf)
- Richtlijn 2010/63/EU van het Europees Parlement en de Raad van 22 september 2010 betreffende de bescherming van dieren die voor wetenschappelijke doeleinden worden gebruikt. Voor overzicht zie https://bit.ly/3fIZ26P (pdf).

Auteurs

Dr. Sonja Beken is coördinator van de niet-klinische beoordelaars bij het Federaal Agentschap voor Geneesmiddelen en Gezondheidsproducten (FAGG, België) en lid van de Safety Working Party van het Europese Geneesmiddelenbureau EMA.

Prof.dr.ir. Albert van den Berg is hoogleraar Sensorsystemen voor biomedische en milieutoepassingen aan de Universiteit Twente en (mede) directeur van het MESA + instituut voor nanotechnologie.

Prof. dr. Carlijn Bouten is hoogleraar Celmatrixinteracties bij de afdeling Regeneratieve Technologie en Materialen van de faculteit Biomedische technologie van de Technische Universiteit Eindhoven.

Dr. ir. Hans Bouwmeester is universitair hoofddocent Toxicologie en geavanceerde *in-vitro*modellen bij Wageningen Universiteit.

Dr. Janny van den Eijnden – van Raaij is managing director van hDMT.

Prof. dr. Erik Danen is hoogleraar Cancer Drug Target Discovery bij het Leiden Academic Centre for Drug Research van de Universiteit Leiden.

Milica Dostanic, MSc is promovenda bij de afdeling Micro-elektronica van de Technische Universiteit Delft.

Nora Franzen, MSc is promovendus bij het Nederlands Kanker Instituut-Antoni van Leeuwenhoek Ziekenhuis in Amsterdam.

Dr. Dik van Gent is universitair hoofddocent Genetica bij de afdeling Moleculaire genetica in het Erasmus MC in Rotterdam.

Prof. dr. Sue Gibbs is hoogleraar huidregeneratie bij de afdeling Moleculaire Celbiologie van het Amsterdam UMC en het Academisch Centrum Tandheelkunde Amsterdam.

Dr. ir. Astrid van de Graaf is eindredacteur bij De Ingenieur en stichting Biowetenschappen en Maatschappij en freelance wetenschapsjournalist.

Dr. Mart Graef is strategisch programmamanager bij de faculteit Elektrotechniek, Wiskunde en Informatica van de Technische Universiteit Delft.

Dr. Jessica de Greef is universitair docent bij de afdeling Humane Genetica van het Leids Universitair Medisch Centrum.

Dr. Roeland Hanemaaijer is senior onderzoeker bij TNO Metabolic Health Research te Leiden.

Prof. dr. Anneke den Hollander is hoogleraar Moleculaire Oogheelkunde aan het Radboud Universitair Medisch Centrum in Nijmegen.

Dr. Dorothee Horstkőtter is universitair docente Neuro-ethiek en praktische filosofie bij de Onderzoekschool Mental Health and Neuroscience, afdeling metamedica aan de Universiteit van Maastricht.

Prof. dr. Maarten IJzerman is hoofd van het Centre for Cancer Health Services Research van de University of Melbourne in Australië en verbonden als deeltijd hoogleraar Health Services Research aan de Universiteit van Twente.

Prof. dr. Marcel Karperien is hoogleraar Developmental BioEngineering aan de Universiteit van Twente.

Dr. Cyrille Krul is Lector Innovative Testing in Life Sciences & Chemistry en directeur kenniscentrum bij Hogeschool Utrecht.

Dr. Anne Kienhuis is projectcoördinator alternatieven voor dierproeven en toxicoloog bij het RIVM.

Prof. dr. Steven Kushner is hoogleraar Neurobiologische psychiatrie bij de afdeling psychiatrie aan het Erasmus MC Universitair Medisch Centrum in Rotterdam.

Dr. Regina Luttge is universitair hoofddocent Microsystemen en hoofd Neuro-Nanotechnologie bij de faculteit Werktuigbouwkunde aan de Technische Universiteit Eindhoven.

Dr. Anika Nagelkerke is universitair docent in de basiseenheid Farmaceutische Analyse bij het Groningen Research Institute of Pharmacy van de Rijksuniversiteit Groningen.

Prof. dr. ir. Jos Malda is hoogleraar Biofabrication in Translational Regenerative Medicine bij de afdeling Orthopedie van het UMC Utrecht en bij het departement Klinische wetenschappen van de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht.

Prof. dr. John Martens is hoogleraar Translationele genomica van kanker bij de afdeling Interne oncologie van het Erasmus MC in Rotterdam.

Dr. Massimo Mastrangeli is universitair docent bij de afdeling Microelektronica van de Technische Universiteit Delft.

Ir. Berend van Meer is onderzoeker bij de afdeling Anatomie en embryologie van het Leids Universitair Medisch Centrum, zakelijk leider van het Organ-on-Chip Center Twente en verantwoordelijk voor valorisatie van organ-on-chiponderzoek aan het MESA+ Instituut van de Universiteit Twente.

Prof. dr. Jos van der Meer is emeritus hoogleraar en voormalig hoofd van de afdeling interne geneeskunde van het Radboud Universitair Medisch Centrum Nijmegen in Nijmegen.

Dr. Andries van der Meer is universitair hoofddocent bij de afdeling Toegepaste Stamceltechnologie van de Universiteit Twente.

Prof. dr. Christine Mummery is hoogleraar Ontwikkelingsbiologie bij de afdeling Anatomie en embryologie van het Leids Universitair Medisch Centrum en voorzitter van hDMT en EUROoCS.

Dr. Valeria Orlova is universitair docent bij de afdeling Anatomie en embryologie van het Leids Universitair Medisch Centrum.

Dr. Dasja Pajkrt is kinderarts infectioloog-immunoloog bij het Amsterdam UMC, locatie AMC.

Prof. dr. Robert Passier is hoogleraar Toegepaste stamceltechnologie aan de Universiteit Twente en het Leids Universitair Medisch Centrum.

Dr. Pim Pijnappel is universitair hoofddocent bij de afdeling Kindergeneeskunde en hoofd van de onderzoeksgroep Moleculaire stamcelbiologie van het Erasmus MC in Rotterdam.

Dr. Barry Rockx is universitair docent Exotische virussen bij de afdeling Viroscience van het Erasmus MC.

Prof. dr. Daniela Salvatori is hoogleraar Vergelijkende anatomie en fysiologie bij de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht.

Prof. dr. ir. Loes Segerink is adjunct professor biomedische microsystemen bij de afdeling Biomedische en milieusensorsystemen (BIOS) aan de Universiteit Twente.

Dr. Mieke Schutte is managing director van hDMT.

Prof. dr. Guus Smit is hoogleraar moleculaire en cellulaire neurobiologie en hoofd van de afdeling Neurowetenschappen aan de Vrije Universiteit te Amsterdam.

Dr. ir. Anthal Smits is universitair docent bij de sectie ImmunoRegeneration van de afdeling Regeneratieve Technologie en Materialen van de faculteit Biomedische Technologie van de Technische Universiteit Eindhoven.

Dr. Evita van de Steeg is senior onderzoeker Humane Celbiologie en Microbiologie bij TNO te Zeist.

Dr. Geurt Stokman is projectleider en onderzoeker bij TNO Metabolic Health Research te Leiden.

Prof. dr. ir. Jaap den Toonder is hoogleraar Microsystemen bij de faculteit Werktuigbouwkunde van de Technische Universiteit Eindhoven.

Prof. dr. Roman Truckenmüller is hoogleraar Micro Tissue Engineering aan de faculteit Health, Medicine and Life Sciences van de Universiteit Maastricht.

Prof. dr. Jolanda van der Velden is hoofd van de afdeling Fysiologie en directeur van het Cardiovasculair Instituut van het Amsterdam UMC.

Prof. dr. Bob van de Water is hoogleraar Geneesmiddelveiligheid bij het Leiden Academic Centre for Drug Research van de Universiteit Leiden.

Debby Weijers, MSc, is directeur van Stichting Proefdiervrij.

Laura Windt, MSc is promovenda bij de afdeling Anatomie en embryologie van het Leids Universitair Medisch Centrum.

Dr. Sebo Withoff is universitair hoofddocent Personalized Systems Biology of Complex Diseases bij de afdeling Genetica van het Universitair Medisch Centrum Groningen, Rijksuniversiteit Groningen.

Dr. Katja Wolthers is arts-viroloog bij de afdeling Medische Microbiologie van het Amsterdam UMC, locatie AMC.

Illustratieverantwoording

Cover: Dreamstime, 123RF

Elisabetta Citterio: p. 3 l
Loes Segerink: p. 3 r
iStockphoto: p. 5, 8, 16, 26, 60, 65, 74, 75, 83
Wyss Institute at Harvard University: p. 6
Jos van den Broek, Leiden: p. 10, 12, 25 b, 29, 33
Shutterstock: p. 13, 59, 91
Bob Daemmrich / Alamy Stock Photo / Imageselect: p. 15
123RF / Sittrop Grafisch Realisatie Bureau, Rotterdam: p. 17
Depositphotos: p. 19, 82
Device: Hossein Amirabadi and Jaap den Toonder (TU/e) / Photo: Bart van Overbeeke: p. 20
2019 Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) (CC BY 3.0 NL) / Sittrop Grafisch Realisatie Bureau, Rotterdam: p. 22
Paul ter Braak / Marinke van der Helm; BIOS Lab on a Chip group, UTwente: 25 o
Darwin Microfluidics / www.darwin-microfluidics.com: p. 30
Tue / foto: Bart van Overbeeke: p. 32, 58
Jos Malda / UMC Utrecht: p. 34
Adapted with permission from Danen et al, Science Signaling Vol 7 Issue 312 ra15, 2014.: p. 36
123RF: p. 39, 95
Mark van der Kroeg, Femke de Vrij (laboratory of Steven A. Kushner, Erasmus MC, Rotterdam, The Netherlands): p. 40
Laura Windt / LUMC en Milica Dostanic / TU Delft: p. 44
Amy Cochrane / LUMC: p. 45
ErasmusMC: p. 46
Aisen De sa Vivas, Universiteit Twente: p. 47
José Manuel Rivera Arbelaez en Marcelo Catarino Ribeiro, afdeling AST, Universiteit Twente: p. 48
Marcelo Catarino Ribeiro afdeling AST, Universiteit Twente / River BioMedics: p. 49
Pablo Herrero-Hernandez / Erasmus MC: p. 50 l
Alessandro Iuliano / Erasmus MC: p. 50 r
Foto's en Infographic: Renée Moerkens en Joram Mooiweer / RUG, The Intestine-Chip presented here is based on the design of Emulate Inc, Boston, MA, USA.: p. 52
Sebo Withoff / RUG: p. 53
SNP model by David Eccles (Gringer) (CC BY 4.0): p. 54
TNO: p. 55, 56 l, r
Rahman Sabahi Kaviani, www.fet-proactive-connect.com: p. 57
Chemelot InSciTe: p. 63 b
bloedvat scaffold en hartklep scaffold: Faculteit Biomedische Technologie, Technische Universiteit Eindhoven: p. 63 lo, ro
Iris Sijboom in opdracht van Proefdiervrij: p. 66
Daniela Salvatori, Universiteit Utrecht: p. 69
Sue Gibbs / Amsterdam UMC: p. 70
Berend van Meer / LUMC: p. 72
Hogeschool Utrecht, foto Ivar Pel: p. 73
Science Photo Library / Alamy Stock Photo / Imageselect: p. 77
Getty Images: p. 78
naar: Building blocks for a European Organ-on-Chip roadmap, https://doi.org/10.14573/altex.1905221 / Sittrop Grafisch Realisatie Bureau, Rotterdam: p. 80
MESA+ Instituut, Universiteit Twente: p. 84
Moore4Medical, foto's TUDelft (o, mo, m), LUMC (mb), Multi Channel Systems (b): p. 86
TUe: p. 87
Maartje Kuperus: p. 89
Adam Voorhes / Gallery Stock: p. 94

Met dank aan

Netherlands Organ on Chip Initiative

DMT/5 HUMAN ORGAN AND DISEASE MODEL TECHNOLOGIES 2015 2020

EUROOCS EUROPEAN ORGAN-ON-CHIP SOCIETY

En de financiële steun van NNGC.

Dit cahier is mede tot stand gekomen door:

ZonMw

NWO

In dit nummer:

- Waarom werken veel geneesmiddelen niet?
- Wat is een orgaan-op-een-chip?
- Wat kun je er mee onderzoeken?
- Voor welke organen is er al een chipmodel in ontwikkeling?
- Waarom worden ze nog niet gebruikt?
- Kunnen organen-op-chips proefdieren vervangen?

Redactie:
Janny van den Eijnden-van Raaij
Astrid van de Graaf
Berend van Meer
Christine Mummery

Met een voorwoord van Christine Mummery en Albert van den Berg

Voor veel ziekten zijn geen geneesmiddelen beschikbaar. En de geneesmiddelen die er zijn, werken maar voor een deel van de patiënten goed, voor het andere deel resteren de bijwerkingen. Dat is deels te wijten aan een gebrek aan kennis over het ontstaan van allerlei ziekten en deels omdat de huidige onderzoeksmodellen, zoals celkweken en dierproeven, niet altijd goede voorspellers zijn voor de effecten en werking in de mens.

Orgaan-op-chiptechnologie met menselijke cellen is een veelbelovende technologie die deze problemen zou kunnen oplossen. De modellen bevatten levende menselijke cellen van specifieke organen die de functie, dynamiek en opbouw van menselijke organen nabootsen in ziekte en gezondheid. De organen-op-chips kunnen het ontwikkelingsproces van nieuwe medicijnen niet alleen verbeteren, maar ook versnellen en de kosten omlaag brengen. Daarnaast draagt deze technologie bij aan het verminderen van het gebruik van proefdieren.

In dit cahier vertellen celbiologen, genetici, artsen, microbiologen, biotechnologen, analytici, ethici, materiaalkundigen, neurologen, managers en technologen voor welke uitdagingen ze staan om die modellen te ontwikkelen en wat er nodig is om deze toe te passen in de praktijk.

BEKIJK DIT THEMA OP ONZE WEBSITE

bio wetenschap+ maatschappij

9 789073 196995