

RIVM rapport 605910 004

**Tissue Engineered Medical Products (TEMPs):  
Historische ontwikkelingen en  
toekomstverwachtingen**

C. Wassenaar, R.E. Geertsma

oktober 2000

Dit onderzoek werd verricht in opdracht en ten laste van de Directie RIVM, in het kader van project S/605910/AB , Brede oriëntatie medische hulpmiddelen, Toekomstverkenningen van medische hulpmiddelen en medische technologieën.

## **Abstract**

In addition to medical devices, pharmaceutical products and human tissues / organs for transplantation a relatively new group of products for medical applications can be defined. These products, referred to as Tissue Engineered Medical Products (TEMPs), are constructed by the incorporation of human or animal tissues or cells into or on a carrier (matrix) material. The ultimate aim is to replace affected tissues (or organs) in cases where the limited repair mechanisms offered by the human organism are not effective. By means of a literature study and a limited number of interviews carried out as part of the Public Health Status and Forecast 2002 by the National Institute of Public Health and the Environment in the Netherlands, the technical developments that have become possible in the past 10 years are reviewed here. Expected future developments are also discussed. Apart from generic techniques that can be applied to create TEMPs, the possibilities for specific applications / tissues are also described. At the moment only a few products are on the market. Possible effects of these TEMPs on the state of health of individuals and on health care are described as far as possible, given the limited experience with TEMPs application. A number of obstacles (ethical aspects, public health risks) related to the development of this kind of new product are identified. The large accumulation of research in the laboratory phase can be expected to result in a considerable number of products for testing in clinical studies within the next few years. This scenario foresees increasing TEMP availability to patients within the next ten years.

## Voorwoord

Eén van de thema's van de Volksgezondheid Toekomst Verkenning (VTV) 2002, is "Medische Hulpmiddelen" (van Oers, 1999). De VTV wil bijdragen aan het leveren van informatie ten behoeve van de beleidsontwikkeling van het Ministerie van VWS. De algemene doelstelling is als volgt: het bijeenbrengen, analyseren en integreren van kennis en gegevens, die van belang zijn voor de beleidsvorming op het gebied van volksgezondheid en zorg. In dit kader wordt een aantal studies verricht. Dit rapport beschrijft de medisch-technologische ontwikkelingen op het gebied van Tissue Engineered Medical Products (TEMPs), en de mogelijke effecten hiervan op de gezondheid en de gezondheidszorg.

De auteurs willen de volgende personen hartelijk danken voor hun hulp bij het tot stand komen van dit rapport middels interviews:

- Prof. Dr. C.A. van Blitterswijk, Isotis b.v., Bilthoven.
- Prof. Dr. J. Feijen, Biomedisch Technologisch Instituut, Polymeerchemie en Biomaterialen, Universiteit Twente, Enschede.
- Prof. Dr. V. van Hinsbergh, TNO Preventie en Gezondheid, Gaubius Laboratorium Vaat- en Bindweefsel onderzoek, Leiden.

en middels commentaar op het conceptrapport:

- Dr. R. Bloem, Leids Universitair Medisch centrum, afdeling Orthopedie, Leiden.
- Drs. E. J. Jansen, ministerie van VWS
- Dr. M. van der Velde, ministerie van VWS.
- Drs. G.W.M. Peters-Volleberg, projectleider RIVM.
- E. Schutte, Isotis b.v., Bilthoven.
- Dr. A. van Sliedregt, ministerie van VWS.

# Inhoud

## Samenvatting 5

### 1. Inleiding 7

### 2. Medisch-technologische ontwikkelingen gedurende de afgelopen 10 jaar 10

2.1. Algemeen 10

2.2. Celisolatie en kweektechnieken 10

2.3. Matrix-eigenschappen 11

2.4. Cel-signaalmoleculen 13

2.5. Invloed van omgevingsfactoren 14

2.6. Encapsulated cell technology 14

2.7. Weefseltypen 15

### 3. Toekomstverwachtingen 20

3.1. Medisch-technologische mogelijkheden 20

3.2. Drempels 22

3.3. Wet- en regelgeving 23

### 4. Gevolgen voor de gezondheidstoestand 25

### 5. Gevolgen voor de zorg 27

### 6. Conclusies 29

## Literatuur 30

## Verzendlijst 32

## Samenvatting

Dit rapport naar de stand van zaken en toekomstige medisch-technologische ontwikkelingen vormt een onderdeel van de Volksgezondheids Toekomst Verkenning 2002 van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu.

Naast medische hulpmiddelen, geneesmiddelen en humane weefsels / organen voor transplantatie is een nieuwe groep medische producten te onderscheiden die zich karakteriseren door de incorporatie van humane of dierlijke weefsels in of op een dragermateriaal. Deze producten worden ook wel Tissue Engineered Medical Products (TEMPs) genoemd. Het ultieme doel is om beschadigde weefsels of organen te vervangen met volledig herstel van de verstoorde functie in plaats van de natuurlijk aanwezige mogelijkheden tot reparatie, waarbij veelal restafwijkingen aanwezig blijven. Een beperkt aantal producten is reeds verkrijgbaar, zoals tissue engineered huid en kraakbeen. Een aantal andere producten worden momenteel in klinische studies geëvalueerd.

De noodzakelijke basale kennis met betrekking tot technieken om de deling en groei van cellen te beheersen neemt toe. Zo is men in staat om diverse celtypen langdurig buiten het lichaam in kweek te houden en te vermeerderen. Ook de kennis van de processen die cellen laten differentiëren naar hun specialistische functies neemt toe. De resultaten van kweken van embryonale stamcellen spelen hierbij in de toekomst naar verwachting een belangrijke rol, aangezien in theorie deze cellen de bron zijn van al onze lichaamscellen. Dit onderzoek richt zich behalve op embryo's (begeleid door ethische discussies) op de in het volwassen lichaam aanwezige voorlopercellen van bijvoorbeeld bloed-, bot-, kraakbeen- en spiercellen. Daarnaast wordt veel onderzoek verricht naar de optimale drager- of matrixmaterialen voor de diverse toepassingen. Concrete resultaten zijn geboekt bij zowel natuurlijke materialen zoals collageen, maar ook bijvoorbeeld bij synthetisch vervaardigde degradeerbare polymeren van natuurlijk voorkomende  $\alpha$ -hydroxyzuren. Deze degradeerbaarheid kan van belang zijn voor weefsels die in staat zijn om zich aan veranderende omstandigheden aan te passen (zoals bot). Verder spelen cel-signaalmoleculen een belangrijke rol bij de sturing van de activiteiten van diverse cellen, die samen weefsels en organen vormen. Zo zijn er groeifactoren geïsoleerd voor diverse cellen en processen, waaronder het ingroeien van nieuwe bloedvaten. Dit laatste proces is van belang voor het "aanslaan" van een TEMP in het ontvangerweefsel, aangezien alle levende cellen zuurstof en voedingsstoffen behoeven. Verder kunnen fysische factoren, zoals druk, rek of stroming van vloeistoffen langs cellen hun functie en oriëntatie in weefsels beïnvloeden. Matrixmaterialen kunnen niet alleen "gemixt" zijn met de cellen maar kunnen ook de cellen omhullen en daardoor afschermen voor immunologische reacties van de ontvanger. De omvang van de producten kan variëren van microscopische bolletjes ("microspheres") gevuld met cellen (b.v. pancreascellen) tot producten die zeer veel cellen bevatten tussen platen matrixmateriaal en zo omvangrijk zijn dat implantatie niet meer mogelijk is (b.v. levercellen). Het bloed van de patiënt wordt in dit laatste geval door een dergelijk apparaat geleid, waardoor uitwisseling van stoffen mogelijk is.

Van vrijwel alle weefsels is gepoogd tissue engineered vervangers te creëren, met wisselend succes. Het meest succesvol zijn momenteel tissue engineered huid en -kraakbeen. De ontwikkeling van toekomstige producten is niet alleen afhankelijk van de genoemde

technische mogelijkheden. Maatschappelijke discussies ten aanzien van ethische aspecten rond het gebruik van embryonale stamcellen en dierlijke cellen zullen invloed hebben op de mogelijkheden om onderzoek te verrichten en producten te ontwikkelen. Verder zijn niet alle risico's op het gebied van de kwaliteit (veiligheid) van TEMP's goed bekend. Het gebruik van dierlijke cellen in TEMP's creëert bijvoorbeeld nieuwe risico's, waarover de discussie met betrekking tot aanvaardbaarheid nog in volle gang is. Momenteel ontbreekt het aan nationale (en Europese) regelgeving om deze risico's te beperken tot een niveau dat vergelijkbaar is met dat van bijvoorbeeld geneesmiddelen of bloed. Het succes van TEMP's op de lange termijn zal mede afhankelijk zijn van de mogelijkheden om (via wet- en regelgeving) de veiligheid en werkzaamheid in de praktijk te borgen. Geconcludeerd wordt dat de potentiële mogelijkheden van TEMP's om de gezondheidstoestand te verbeteren in theorie groot zijn, maar zich in de praktijk nog zullen moeten bewijzen. De effecten die TEMP's kunnen hebben op de gezondheidszorg zijn moeilijk in algemene termen te vatten en vooral afhankelijk van de specifieke aandoening. Orgaanvervangers kunnen niet alleen wachtlijsten reduceren, maar ook nieuwe creëren.

# 1. Inleiding

Naast de productcategorieën medische hulpmiddelen, (biotechnologische) geneesmiddelen en organen / weefsels ten behoeve van transplantatie is er in het laatste decennium een separate groep producten voor toepassing in de gezondheidszorg te onderscheiden. Bij deze separate groep, aangeduid als “tissue engineered medical products” (TEMPs), worden aspecten uit alle bovengenoemde categorieën gecombineerd om zodoende een product te creëren dat optimaal geschikt is om een lichaamsdeel dat niet goed (meer) functioneert te kunnen vervangen. Het vakgebied dat zich richt op het herstellen en / of vervangen van niet goed (meer) functionerende lichaamsdelen wordt wel aangeduid als “vervangingsgeneeskunde”. TEMPs kenmerken zich door de combinatie van menselijke of dierlijke cellen met cel-signaalmoleculen (zoals groeifactoren) en synthetische of natuurlijke dragermaterialen, die - door een aantal technieken, samengevat onder de term “Tissue Engineering” - geschikt is gemaakt om de structuur en / of functie van het te vervangen lichaamsdeel natuurgetrouw na te bootsen (zie figuur 1.1). Cellen en weefsels kunnen hierbij in meerdere of mindere mate bewerkt worden. Tissue engineering wordt gedefinieerd als: “de toepassing van principes en werkwijzen vanuit de technische en biowetenschappen bij het onderzoek naar fundamentele relaties tussen structuur en functie bij normale en zieke zoogdierweefsels en de ontwikkeling van biologische substituten ten behoeve van het herstellen, onderhouden of verbeteren van de weefselfunctie” (vertaald uit Skalak, 1988). Een belangrijk aspect binnen het concept tissue engineering is de observatie dat tijdens zeer omschreven (embryonale) levensfasen cellen in staat zijn om zich op gecontroleerde wijze te vermeerderen en zeer specifieke functies te ontwikkelen. Kennis over dit zeer complexe proces zou aldus kunnen bijdragen om binnen of buiten het (volwassen) lichaam de omstandigheden te scheppen om (volwassen) cellen weer aan te zetten tot vorming van weefsels (of zelfs organen).

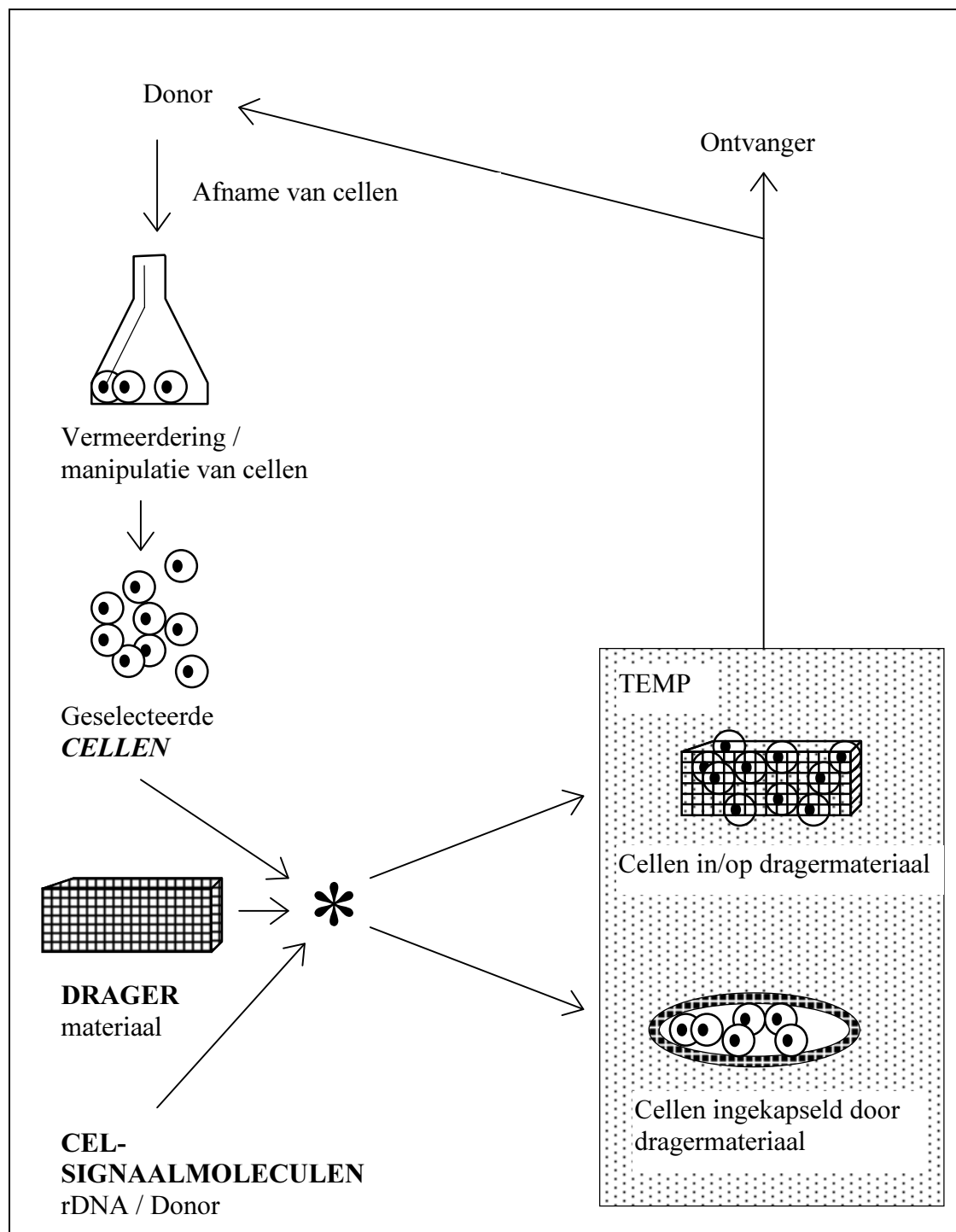
Het belang van de discipline vervangingsgeneeskunde wordt steeds groter naarmate de mens ouder wordt, en er dus steeds vaker sprake zal zijn van functieverstoring van lichaamsdelen. Daarnaast kunnen TEMPs (in theorie) een veel beter resultaat leveren dan orthodoxe medische hulpmiddelen zoals gewrichtsimplantaten, synthetische weefselvervangers en dialyseapparatuur. Verder kunnen ze wellicht een oplossing vormen voor de beschikbaarheidsproblemen die gekoppeld zijn aan donororganen en donorweefsels. Concrete voorbeelden van TEMPs die momenteel in de kliniek al worden toegepast zijn in het laboratorium gekweekte levende huid en kraakbeen. Dit rapport beperkt zich tot in-vitro tissue engineering. Het concept van tissue engineering laat het daarnaast ook toe om de reeds in het lichaam aanwezige cellen (in-vivo) te manipuleren. Cel-signaalmoleculen spelen hierbij een belangrijke rol.

Een belangrijk onderscheid in de groep van TEMPs kan gemaakt worden door naar de oorsprong van de gebruikte cellen te kijken. Zowel *autologe* (donor en ontvanger zijn hetzelfde individu), als *allogene* (donor is een ander individu, maar wel van dezelfde diersoort) en *xenogene* (donor is een ander individu, en tevens van een andere diersoort) cellen kunnen worden toegepast. Elk van deze combinaties van donor en ontvanger levert zijn specifieke problemen op. Producten voor cel- en genterapie zouden gezien bovenstaande definitie eveneens beschouwd kunnen worden als TEMPs, maar worden in dit overzicht

uitgesloten. Dit overzicht behandelt producten die cellen en dragermaterialen bevatten, eventueel aangevuld met cel-signaalmoleculen.

Middels literatuurstudie en interviews met een aantal experts wordt in dit rapport een overzicht geschetst van de stand van zaken in december 1999 met betrekking tot de medisch-technische ontwikkelingen op het gebied van TEMPs. In hoofdstuk 2 worden de ontwikkelingen in het laatste decennium beschreven. Hoofdstuk 3 bevat verwachtingen voor de toekomst. In hoofdstuk 4 worden de gevolgen voor de gezondheidstoestand geschetst en hoofdstuk 5 beschrijft de consequenties voor de zorg. In hoofdstuk 6 tenslotte staan de conclusies.





*Figuur 1.1: Schematische weergave van het principe van TEMPs*

*Een schematisch overzicht van een deel van de processen die een rol spelen bij de samenstelling van een TEMP. De donor van de cellen kan dezelfde persoon zijn als de ontvanger. Bij de voorbehandeling van de cellen kunnen allerlei bewerkingen toegepast worden, zoals selectie, stimulatie tot groei/differentiatie. Ook tijdens het samenvoegen van de componenten bij \* kunnen deze bewerkingen nog een belangrijke rol spelen. De cel-signaalmoleculen kunnen afkomstig zijn van mens of dier, of ze kunnen via recombinant-processen worden verkregen.*

## 2. Medisch-technologische ontwikkelingen gedurende de afgelopen 10 jaar

### 2.1. Algemeen

De afgelopen tien jaar is er veel vooruitgang geboekt op het terrein van de tissue engineering. In deze paragraaf zullen achtereenvolgens de ontwikkelingen worden besproken op het gebied van celisolatie en kweektechnieken, matrix-eigenschappen en cel-signaalmoleculen. Vervolgens wordt aandacht besteed aan een bijzondere vorm van tissue engineering, de zogenaamde “encapsulated cell technology”. In hoofdstuk 2.7 zal daarna een overzicht van de ontwikkelingen per weefseltype worden gegeven.

### 2.2. Celisolatie en kweektechnieken

De beheersing van de kwaliteit van de cellen begint bij de bron ervan, waarbij selectie van de gewenste en geschikte cellen één van de aspecten van deze beheersing vormt. Het doel van TEMPs is regeneratie van het aangedane weefsel of orgaan. Herstel van de functie vereist gedifferentieerde, “volwassen” cellen. Tijdens de menselijke ontwikkeling van embryo tot volwassene verdwijnt bij de meeste celsoorten het vermogen om te delen en ontstaat differentiatie in de diverse gespecialiseerde functies. Het kweken (laten delen) van volwassen cellen vereist daarom zeer specifieke kweekomstandigheden en is niet altijd succesvol. Naast volwassen donoren kunnen ook embryo's een bron van cellen vormen. Tijdens de vroege ontwikkelingsfase bevat het embryo onder andere *embryonale stamcellen* (ES-cellen). Men is in staat om deze stamcellen te isoleren uit embryo's die in het kader van In-Vitro Fertilisatie (IVF) procedures om diverse redenen niet meer gebruikt worden. De nog ongedifferentieerde ES-cellen bezitten het vermogen om zich continu te delen en zijn de voorlopers van alle lichaamscellen. Deze eigenschap maakt ze in theorie zeer geschikt als bron van cellen voor TEMPs. Tijdens de normale ontwikkeling zullen deze cellen zich in het embryo differentiëren tot de diverse gespecialiseerde cellen, elk met een eigen functie in het lichaam. Het is mogelijk gebleken om ES-cellen in een laboratoriumomgeving langdurig in kweek te houden, waarbij zij zich onder bepaalde omstandigheden (in een ongecontroleerd patroon) differentiëren tot bijvoorbeeld bot of kraakbeen (Gearhart, 1998; Thomson et al., 1998). Hoewel van sturing van deze differentiatie op dit moment nog geen sprake is, vormen deze resultaten een kleine, maar belangrijke stap voorwaarts naar beheersing van een vrijwel onuitputtelijke bron van cellen, die niet alleen kunnen worden ingezet voor TEMPs, maar ook voor bijvoorbeeld screening van toxiciteit van geneesmiddelen.

Ook een aantal volwassen weefsels bevatten stamcellen. Zo kunnen mesenchymale stamcellen (voorlopers van bot, bindweefsel, spier) uit humaan beenmerg geïsoleerd en in kweek gehouden worden (Haynesworth et al., 1998). Hematopoëtische stamcellen (voorlopercellen van bloedcellen) worden momenteel beperkt toegepast (autoloog) bij hooggedoseerde chemotherapie bij solide tumoren (Rodenhuis & de Vries, 1999). Wanneer cellen verkregen zijn uit bestaand gedifferentieerd donorweefsel is controle over het proces

om de cellen tot delen aan te zetten van belang. Aangezien cellen tijdens deling specifieke eigenschappen kunnen verliezen (de-differentiatie) zal in de volgende proces-stap differentiatie tot het gewenste celtype opgewekt en onderhouden moeten worden. Deze processen vereisen elk cel-specifieke combinaties van de kweekomgeving (medium, additieven en een kweekondergrond). Vermeldenswaard in verband hiermee is dat er bij de vervaardiging van TEMPs veelvuldig gebruik wordt gemaakt van (allogene) neonatale cellen, d.w.z. cellen van pasgeborenen. De reden hiervoor is dat deze cellen in vergelijking met cellen van volwassenen van nature een hoge snelheid van groei en ontwikkeling hebben, een eigenschap die waardevol is bij productie en toepassing (regeneratie) van TEMPs. Momenteel is het mogelijk om een groot aantal humane en dierlijke gedifferentieerde cellen (huid, bot, kraakbeen, bloedvaten, lever, hartspier) in kweek tot deling te brengen (Minuth et al., 1998).

### **2.3. Matrix-eigenschappen**

In het lichaam zijn cellen (in meer of mindere mate) omringd door een extracellulaire matrix (ECM) of tussencelstof, die noodzakelijk is voor het optimaal functioneren van cellen. Deze driedimensionale ECM is ook voor een TEMP een belangrijke onderdeel, zonder welke de ontwikkeling van een volledig nieuw weefsel of orgaan niet mogelijk is (Jen et al., 1996; Kim & Mooney, 1998). Om een succesvolle TEMP te maken is de ontwikkeling van een goede ECM onmisbaar. Je zou kunnen zeggen dat de cellen door de aanwezigheid van een goede ECM “geloven” dat ze in hun natuurlijke omgeving zijn. De ECM heeft drie primaire functies. Ten eerste vergemakkelijkt zij de toediening van de gewenste celtypen op de juiste plaats in het lichaam. Ten tweede definieert zij de driedimensionale ruimte (en houdt die in stand), die nodig is voor de vorming van het nieuwe weefsel met de juiste structuur. Ten derde heeft zij een belangrijke rol als opslagplaats van specifieke cel-signaalmoleculen zoals groeifactoren (zie hoofdstuk 2.4). Door de gecontroleerde afgifte van deze moleculen uit de ECM naar de cellen stuurt zij de ontwikkeling van het nieuwe weefsel met de bedoelde functie. In een natuurlijke situatie vindt er voortdurend interactie plaats tussen de cellen en de ECM. Cel-herkenningssignalen die door de matrix worden afgegeven, worden door specifieke oppervlakte-receptoren op de cellen opgevangen. Op hun beurt kunnen de cellen ook signalen afgeven aan de matrix. Verschillende belangrijke celfuncties staan voortdurend in verband met, en zijn afhankelijk van de samenstelling en de organisatie van de ECM.

Bij het ontwerp en de productie van ECM's moet dus aan de volgende eisen worden voldaan (Jen et al., 1996):

- bevorderlijk voor de levensvatbaarheid en het functioneren van cellen;
- goede permeabiliteit ten behoeve van het transport van zuurstof, voedingsstoffen en afvalstoffen;
- chemische stabiliteit, dan wel de gewenste degradatiesnelheid, al naar gelang de beoogde toepassing van de TEMP; goede (=gewenste) mechanische eigenschappen;
- veilig ten aanzien van besmetting met bacteriën / schimmels / gisten / virussen / transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agentia;

- structuur-eigenschappen die vaat- en zenuwingroei bevorderen (met name porositeit en poriegrootte).

De materialen waar ECM's van worden gemaakt zijn onder te verdelen in natuurlijke en synthetische (Kim & Mooney, 1998). In theorie kunnen natuurlijke weefselstructuren waaruit de cellen verdreven zijn ook fungeren als basis voor een TEMP. Met varkenshartkleppen is hier reeds met succes onderzoek naar verricht (Bader et al., 1997). Bij andere weefsels, zoals gedemineraliseerd donorbot zijn dit soort toepassingen nog niet gerapporteerd. Natuurlijke bouwstenen van de ECM zoals collageen hebben duidelijke voordelen. Ten eerste hebben zij de beste mogelijkheid voor specifieke cel-matrix interacties (meer dan 90% van de ECM in botten en pezen, en meer dan 50% van de ECM in huid bestaat bijvoorbeeld uit collageen) (Friess, 1998). Ten tweede zijn de degradatieproducten van deze materialen bekende stoffen voor het menselijk lichaam. Er is echter ook een aantal nadelen aan het gebruik van natuurlijke grondstoffen. Ze zijn niet in grote hoeveelheden beschikbaar en bovendien onderhevig aan soms aanzienlijke variaties in kwaliteit tussen verschillende geproduceerde partijen. Verder hebben ze potentieel een hoger risico op microbiële besmetting. Daarnaast dient het risico op virale en TSE besmetting genoemd te worden. Synthetische materialen, daarentegen, kunnen in grote hoeveelheden op consistente wijze worden vervaardigd en hebben, mits onder Good Manufacturing Practices (GMP) condities geproduceerd, slechts een zeer klein risico op besmetting door micro-organismen. Een van de grote nadelen van deze materialen is het gebrek aan cel-herkenningsignalen. Ook bij synthetische materialen wordt vaak gestreefd naar de toepassing van degradeerbare materialen, die langzamerhand vervangen worden door een lokaal door het lichaam zelf geproduceerde ECM. Voorbeelden van materialen die hiertoe veel worden toegepast zijn polyesters van  $\alpha$ -hydroxyzuren, die ook in de natuur voorkomen, zoals bijvoorbeeld polyglycolzuur (PGA), poly-L-melkzuur (PLLA) of co-polymeren hiervan. Een overzicht met meer voorbeelden van de verschillende natuurlijke en synthetische materialen die worden toegepast wordt gegeven in Tabel 2.1.

Tabel 2.1: Voorbeelden van in TEMPs toegepaste ECM-materialen.

Natuurlijke materialen	Synthetische materialen
Collageen (types I-XIII)	Polyglycolzuur (PGA)
Hyaluronzuur (& derivaten)	Poly-L-melkzuur (PLLA)
Alginaat	Poly(melk-co-glycol)zuur (PLGA)
Alginaat-polylysine	Polyethyleenoxide (PEO)
Agarose	PLA-PEO
Fibrine-gel	PEO-PBT (PBT=polybutyleentereftalaat)
Proteoglycanen	Polypyrrol-heparine
Chitosan	Polyvinylalcohol (PVA)
Alginaat-polylysine-polyethyleenglycol	Calciumfosfaat
	Hydroxy-apatiet
	Poly-2-hydroxyethylmethacrylaat
	Poly-N-vinylpyrrolidon-methylmethacrylaat-celluloseacetaatbutyraat
	Poly-2-hydroxyethylmethacrylaat-co-methylmethacrylaat (HEMA-MMA)

Opvallend is het aantal soorten en de diversiteit van de toegepaste materialen. Hiervoor kunnen een aantal redenen genoemd worden. Ten eerste zijn de gewenste eigenschappen van een materiaal afhankelijk van de beoogde toepassing: voor verschillende types weefsel / organen zijn derhalve verschillende eigenschappen wenselijk. Verder is het zo dat onderzoeksgroepen vaak hun eigen voorkeuren hebben voor bepaalde materialen, bijvoorbeeld vanwege aanwezige ervaring met het materiaal of vanwege economische belangen.

## 2.4. Cel-signaalmoleculen

Naast een goede ECM en geschikte cellen is er nog een derde component van belang voor het goed functioneren van TEMPs, namelijk de aanwezigheid van bepaalde cel-signaalmoleculen, die door diverse soorten cellen worden geproduceerd. (Reddi, 1994; Reddi, 1998). Een veelheid van deze cel-signaalmoleculen is in het lichaam van groot belang bij de sturing van het proces van de-differentiatie en re-differentiatie van cellen, en ook bij de aanzet tot groei van het weefsel met de gewenste functionele eigenschappen. Het meest bekend zijn Bone Morphogenetic Proteins (BMP's), waarvan er inmiddels meer dan 15 zijn geïsoleerd, Growth Differentiation Factors (GDF's) en Tissue Growth Factors (TGF's) (Pollok & Vacanti, 1996; Baldwin & Salzman, 1998). Er zijn aanwijzingen dat BMP's niet alleen invloed hebben op bot, maar ook op een serie andere organen / weefsels zoals huid, hart, nier, oog (Reddi, 1998). In toenemende mate ontstaat inzicht in de specifieke functies van, en interacties tussen deze groeifactoren, waardoor ze ingezet kunnen worden bij zowel de productie van TEMPs als bij de ondersteuning van het regeneratieproces na implantatie van een TEMP.

In het scala van cel-signaalmoleculen nemen de factoren die de bloedvatvorming (angiogenese) reguleren een aparte plaats in. Cellen zijn namelijk afhankelijk van voldoende aanvoer van zuurstof en voedingsstoffen en van de afvoer van afvalstoffen. Dit transport wordt gewaarborgd door de bloedvaten, waarbij de laatste micrometers tot de cel worden overbrugd door diffusie. Zeker de metabool actieve cellen kunnen slechts overleven in de nabijheid van een bloedvat. Dit maakt dat na implantatie van een TEMP in de patiënt het succes van haar werking afhangt van de snelheid van vaatingroei door de ontvanger. Stimulatie van deze angiogenese met behulp van cellen die deze cel-signaalmoleculen aanmaken, of door directe toediening van de juiste cel-signaalmoleculen is aldus zeer belangrijk. Controle over dit proces is cruciaal aangezien nu juist ongewenste angiogenese ten grondslag ligt aan bijvoorbeeld diabetische netvliesbloedingen. Ook de stimulerende effecten van angiogenesefactoren op latent aanwezige tumoren is genoemd als een onbekend risico.

Het systemisch of lokaal toedienen van cel-signaalmoleculen is ook een techniek om cellen te stimuleren tot deling om beschadigde weefsels te vervangen. Een aandachtsveld waarbij deze techniek veel aandacht krijgt is de behandeling van ernstige doorbloedingsstoornissen en slecht genezende wonden bij onder andere diabetespatiënten (Isner et al., 1998).

## 2.5. Invloed van omgevingsfactoren

Naast de invloed die wordt uitgeoefend door de bovengenoemde cel-signaalmoleculen is het gebleken dat cellen sterk reageren op andere factoren in hun omgeving, zoals de gebruikte voedingsbodem, de morfologie van het oppervlak waarop ze groeien, de materiaaleigenschappen van de matrix waarin ze groeien en de mechanische krachten die op hen uitgeoefend worden (bijvoorbeeld in de vorm van rek, druk of stroom van vloeistoffen). Zo kunnen huidcellen gestimuleerd worden tot verhoorning door ze aan één zijde bloot te stellen aan een luchtstroom en worden in een buisvorm gekweekte cellen (als vervanging van bloedvaten) sterker wanneer ze onder pulserende druk groeien (Niklason et al., 1999). Ook botweefsel is zeer gevoelig voor veranderingen van het mechanische belastingspatroon van het bot. Dit laatste aspect oefent zijn invloed uit volgens de “Wet van Wolff”: Botdichtheid en –architectuur zijn via een adaptief mechanisme gerelateerd aan de fysiologische belasting. Indien bijvoorbeeld een prothese een deel van de belasting op het omringende bot opheft, zal er verlies van kwaliteit en kwantiteit van het bot optreden (Huiskes, 1998). Een voorbeeld van de invloed van oppervlaktomorfologie is het effect van microgroeven op de oriëntatie en migratie van bindweefselcellen op een materiaaloppervlak (Walboomers et al., 1998).

## 2.6. Encapsulated cell technology

Een vorm van tissue engineering die apart genoemd moet worden is de “encapsulated cell technology”, letterlijk “ingekapselde cel-technologie”. Hierbij worden levende cellen (van allogene of xenogene oorsprong) omgeven door een selectief permeabele membraan (Lanza et al., 1996; Monaco & Maki, 1996; Lanza, 1997). Deze membraan laat vrij transport toe van bijvoorbeeld voedingsstoffen, afvalstoffen en zuurstof ten behoeve van de TEMP, en stoffen zoals insuline ten behoeve van de patiënt. Vanwege dit werkingsprincipe worden deze producten ook wel diffusiekamers genoemd. De inkapseling verhindert dat de (lichaamsvreemde) cellen in aanraking komen met onder andere de cellen van het immuunsysteem. Dit laatste aspect is van groot belang omdat de onderdrukking van het immuunsysteem, zoals dat bij transplantaties gebeurt, door deze inkapseling niet noodzakelijk is.

Diffusiekamers zijn er in diverse vormen en maten. Een zeer kleine hoeveelheid cellen kan worden ingebracht in bolletjes met een diameter van 1-100  $\mu\text{m}$ , “micro-spheres” of zelfs 1-100 nm, “nano-spheres”. Deze zijn vervolgens per injectie aan een patiënt toe te dienen. Een andere vorm van inkapseling is door cellen in een buisje te brengen en de uiteinden af te sluiten. Deze vorm kan bijvoorbeeld 3 x 30 mm meten en is met een beperkte chirurgische ingreep bij de patiënt te implanteren. Tenslotte bestaat de mogelijkheid om grote hoeveelheden cellen te zaaien tussen membranen, die worden ingebouwd in een apparaat dat ofwel buiten het lichaam van de patiënt blijft (extra-corporaal) of wordt geïmplanteerd. Dit apparaat wordt aangesloten op de bloedstroom van de patiënt, waarna de cellen omspoeld worden door bloed of serum. Deze TEMPs worden ook wel “perfusion devices” genoemd.

De cellen zijn zo in staat om stoffen aan het bloed / serum van de patiënt af te geven en / of eraan te onttrekken.

Elke inkapselingvorm heeft zijn voor- en nadelen. Bij de “micro-spheres” zijn de TEMP's niet meer te verwijderen uit het lichaam. Bij de grotere diffusiekamers is dit wel het geval. De meeste controle over de duur van de behandeling bestaat bij de externe perfusie-TEMP's, maar deze externe toepassing belemmert de bewegingsvrijheid van de patiënt zeer.

De bekendste toepassing is de inkapseling van eilandjes van Langerhans voor de experimentele behandeling van diabetes (zie ook paragraaf 2.7 en (Peters-Volleberg et al., 2000)), maar het principe heeft potentieel zeer brede toepassingsmogelijkheden. Te denken valt bijvoorbeeld aan behandeling van leverfalen, chronische pijn, hemofilie, dwerggroei, Parkinson en Alzheimer (Lanza et al., 1996; Monaco & Maki, 1996; Lanza, 1997).

## 2.7. Weefseltypen

Het huidige aanbod van tissue engineered producten beperkt zich tot huid- en kraakbeenvervangers. Een beperkt aantal producten wordt in klinische studies geëvalueerd, terwijl erg veel ontwikkelingen zijn gerapporteerd in de laboratorium- en proefdierfase. Het blijkt dat vrijwel alle humane weefsels onderwerp zijn van onderzoek op het gebied van tissue engineering (Patrick et al., 1998). In de volgende paragrafen worden deze ontwikkelingen toegelicht, waarbij niet gepoogd wordt compleetheid na te streven.

### **Zenuwweefsel**

Aandoeningen van het zenuwweefsel worden in het algemeen onderverdeeld in aandoeningen van het centrale, dan wel het perifere zenuwstelsel. Het centrale zenuwstelsel betreft al het zenuwweefsel in de schedel en het ruggenmerg. Het perifere zenuwstelsel betreft al het overige zenuwweefsel.

#### *Centraal zenuwstelsel*

Onderzoek heeft zich vooral gericht op het toedienen van stoffen in bepaalde gebieden in de hersenen. Inkapseling van de cellen die deze stoffen produceren biedt hier mogelijkheden die met intraveneuze toediening niet te realiseren zijn. Daarbij zijn bepaalde TEMP's na het inbrengen weer te verwijderen. In dierstudies is de toepassing van ingekapselde cellen bestudeerd bij de ziekte van Alzheimer, de ziekte van Parkinson, Amyotrofische Lateraalsclerose (ALS) en chronische pijnklachten (Gentile et al., 1998). Ingekapselde xenogene cellen zijn met succes geïmplantéerd bij de mens bij de behandeling van ALS en chronische pijnklachten (Gentile et al., 1998). Klinische studies van enige omvang zijn ons niet bekend. Verder wordt onderzoek verricht naar de mogelijkheden om beschadigingen in het centraal zenuwstelsel - bijvoorbeeld bij een dwarslaesie van het ruggenmerg - met TEMP's te herstellen (personal communication dr. Feijen).

#### *Perifeer zenuwstelsel*

Regeneratie van zenuwen is gewenst bij letsels bijvoorbeeld als gevolg van ongevallen of van chirurgie wegens tumoren. In-vitro studies en dierstudies hebben veel kennis opgeleverd over de kritische parameters voor regeneratie. Zo zijn momenteel zenuwdefecten van ca. 5 mm te overbruggen in het diermodel met hulp van geleiders bestaande uit resorbeerbare polymeren,

groeifactoren en / of Schwann-cellen (steuncellen rond perifere zenuwen) (Furnisch & Schmidt, 1998). Deze geleiders verhinderen ingroei van bindweefselcellen en geleiden de herstellende zenuw in de juiste richting.

### **Hoornvlies (cornea)**

Ernstig beschadigde hoornvliesen kunnen vervangen worden door een donorhoornvlies. Een TEMP zou hier een alternatief kunnen zijn. In het laboratorium zijn hoornvliesen gereconstrueerd uit humane hoornvliescellen (Germain et al., 1999) en in dierstudies zijn hoornvlies-epitheelcellen gekweekt op een polyvinyl alcohol drager (Kobayashi, 1991).

### **Huid**

Huidsubstituten hebben zich ontwikkeld van een artificiële extracellulaire matrix, via matrixmaterialen met een enkele soort huidcellen tot matrixmaterialen met een gelaagde opbouw van twee soorten cellen met groeifactoren. Momenteel zijn er ongeveer 5 firma's met tissue engineered huidproducten op de markt. Deze zijn bedoeld om toegepast te worden bij brandwonden en (diabetische) huidzweren (Eaglstein & Falanga, 1997; Eaglstein & Falanga, 1998). De producten bestaan bijvoorbeeld uit niet-vitaal gemaakte humane neonatale bindweefselcellen op een nylon gaas (inclusief de hierdoor geproduceerde collageenstructuren, groeifactoren en matrixeiwitten) dat wordt afgedekt door een siliconenmembraan. Een ander product bestaat uit neonatale humane huidcellen op neonatale bindweefselcellen op een rundercollageen drager (inclusief de hierdoor geproduceerde collageenstructuren, groeifactoren en matrixeiwitten) of vitale autologe huidcellen op een petrazolum gaas.

### **Lever**

De huidige strategie voor een kunstlever die het meest succesvol lijkt is de extracorporale bio-artificiële lever. Het principe omvat levercellen (humane gemodificeerde levercarcinoomcellen of varkenscellen) die zijn gezaaid op een dragermateriaal, veelal een tubulair systeem, dat door serum of bloed van de patiënt omspoeld wordt. Daarbij blijven de cellen van de bio-artificiële lever gescheiden van de patiënt. Door de juiste materiaalkeuze is voldoende uitwisseling van de juiste moleculen mogelijk. Dit systeem blijft buiten het lichaam doordat er vrij veel cellen noodzakelijk zijn en de werkingsduur gelimiteerd is. In dierstudies zijn een aantal systemen uitgetest (Dixit & Gitnick, 1996). Er zijn nog geen bio-artificiële levers op de markt. Wel zijn enkele toepassingen zover ontwikkeld dat men klinische studies aandurfde. Bij een beperkt aantal patiënten zijn bio-artificiële levers ingezet die varkenscellen (Watanabe et al., 1997) of humane gemodificeerde levercarcinoomcellen (Sussman et al., 1994; Ellis et al., 1996) bevatten. Deze producten waren voor bepaalde tijd op de bloedsomloop van de patiënt aangesloten. De resultaten tonen dat zo'n bio-artificiële lever de tijd kan overbruggen tot transplantatie, waarbij de neurologische conditie mogelijk verbetert, maar of dit ook leidt tot een significante verlenging van de overleving moet nog aangetoond worden. Potentiële problemen bestaan onder andere uit de sensibilisatie van het immuunsysteem van de patiënt voor oplosbare varkensantigenen na langdurig of herhaalde behandeling en het infectierisico bij het gebruik van varkenscellen (Friend & Hu, 1998). Bij de TEMPs met gemodificeerde menselijke levercarcinoomcellen bestaat de zorg dat deze



cellen in staat zijn om tumoren te induceren. In Nederland heeft het AMC de wens haar bio-artificiële lever in te zetten bij een fase-I klinische studie (Chamuleau, 1998).

### **Alveesklier (pancreas)**

Er zijn studies uitgevoerd bij enkele patiënten die menselijke allogene micro-ingekapselde Langerhanscellen in de buikholte of onderhuids geïmplanteerd kregen. Andere technieken die onderzocht worden zijn de grotere niet-resorbeerbare diffusiekamers en injecteerbare, resorbeerbare microspheres. Problemen liggen momenteel in de handhaving van langdurig adequate functie, biocompatibiliteit, lekkage van membranen, de implantatie van voldoende cellen en (on-)mogelijkheden om de grotere diffusiekamers te verwijderen. Verder is kennis omtrent het mechanisme en de duur van het uitsluiten van immunoreacties noodzakelijk (Monaco & Maki, 1996; Lanza et al., 1996). Er zijn nog geen klinische preparaten. TEMPs die de pancreasfunctie over kunnen nemen kunnen worden ingezet ter behandeling van diabetes mellitus. Een meer gedetailleerde beschrijving van de nieuwe ontwikkelingen rond diabetes is te vinden in een ander rapport uit deze serie (Peters-Volleberg et al., 2000).

### **Weefsels van het urinewegsysteem**

Met moderne celkweektechnieken is het mogelijk in-vitro vermeerdering te realiseren van diverse cellen die afkomstig zijn van het urinewegsysteem, zoals urineleiders en urineblaas. Afhankelijk van de geometrie van het dragermateriaal, tubulair of plaatvormig, zijn urineleiders en urineblazen te reconstrueren in dierexperimenten (Atala, 1999). Tot nu toe is men in staat de anatomie te kopiëren. De functionele eigenschappen zullen nader bestudeerd moeten worden.

De constructie van een complete nier is zeer complex door de diversiteit van functies die in dit orgaan zijn te vinden. Naast filtratie van bloed maakt de nier bijvoorbeeld hormonen en speelt zij een belangrijke rol bij de vorming van nieuwe bloedcellen. Uit dierexperimenteel werk blijkt dat cellen die eerst zijn geïsoleerd uit de nier en vervolgens samen met een tubulair dragermateriaal zijn geïmplanteerd, zich weer rangschikken in niertubuli, die vergelijkbaar zijn met de natuurlijke anatomie (Marler et al., 1998).

### **Weefsels van het maag-darm stelsel**

De werkzaamheid van buisvormige polymeren als vervanging van de slokdarm is bij honden onderzocht (Langer & Vacanti, 1993). Delen tot 10 cm konden worden vervangen door dragermaterialen, die vervolgens een basis vormden voor succesvolle ingroei van eigen slokdarmcellen (Ikada, 1998).

Ook vervanging van segmenten van de darm door TEMPs is bestudeerd. In ratten zijn hoopvolle resultaten geboekt na implantatie van dragermaterialen in combinatie met foetale darmcellen (Langer & Vacanti, 1993; Marler et al., 1998).

### **Kraakbeen**

Producten die worden ingezet ter vervanging van beschadigd kraakbeen (in de knie) bestaan uit autologe kraakbeencellen, die na uitname in vitro zijn gestimuleerd tot deling en vervolgens worden teruggeplaatst. Er zijn momenteel enkele bedrijven die kraakbeen-TEMPs in de handel brengen. Tweede generatie producten zijn in ontwikkeling, waarbij behalve de cellen ook een dragermateriaal en cel-signaalmoleculen worden gebruikt.

In dierstudies blijken mesenchymale stamcellen die afkomstig zijn uit beenmerg na implantatie zich te kunnen differentiëren in bot-, kraakbeen- of peesweefsel, afhankelijk van de mechanische invloeden en cel-signaalmoleculen afkomstig van omringende cellen (Caplan et al., 1998). Het blijkt daarnaast in dierstudies mogelijk om kraakbeencellen in diverse vormen te laten groeien door ze samen met een voorgevormde drager te implanteren (Marler et al., 1998). Vormen zoals een oorschelp of neustussenschot zijn op deze wijze te realiseren.

### **Bot**

De kennis die wordt benut ten behoeve van kraakbeenproducten sluit nauw aan bij die voor bot. De mogelijkheden van botproducten zijn zeer veelbelovend. Het proces van resorptie en regeneratie is botweefsel niet vreemd. Producten die bestaan uit een biodegradeerbare matrix met autologe cellen en cel-signaalmoleculen zijn in ontwikkeling en kunnen naar verwachting in de komende jaren in klinische onderzoeken worden geëvalueerd (personal communication, van Blitterswijk). Toepassingen liggen in het opvullen van botdefecten die zijn ontstaan na ongevallen of tumorchirurgie. Een recente publicatie toonde de mogelijkheden om drie typen cellen (kraakbeen, bot en pees) te kweken op een dragermateriaal dat was gevormd naar een menselijk vingerkootje. Na subcutane implantatie in een muis toonde het product histologische kenmerken identiek aan een menselijk vingerkootje, inclusief de kleine gewrichtjes (Isogai et al., 1999).

### **Tanden**

Er zijn reeds pogingen ondernomen om in het laboratorium bestanddelen van tanden (dental pulp) te maken via tissue engineering (Bohl et al., 1998). Ook zijn de effecten van groeifactoren bestudeerd op de regeneratie van tand- en kaakweefsels (Giannobile, 1996).

### **Vetweefsel**

Tissue Engineered vet kan worden gebruikt bij plastisch-reconstructieve chirurgie bij bijvoorbeeld aangeboren afwijkingen. In het laboratorium kunnen voorlopercellen van vetcellen worden gekweekt, die na implantatie in muizen zich ontwikkelen tot normaal imponerend vetweefsel (Patrick et al., 1998).

### **Weefsels van het hart**

Onderzoek heeft zich hier vooral gericht op de mogelijkheden voor herstel van de hartspier na een infarct en de vervaardiging van hartkleppen. In dieren met een hartinfarct is het herstel van de pompfunctie van het beschadigde hart bestudeerd nadat gekweekte spiercellen ter plekke van het infarct waren ingebracht. Deze cellen waren afkomstig van een kuitspier en zijn na in-vitro vermeerdering en selectie in het hart gebracht via een chirurgische procedure of catheterisatie van de kransvaten (Atkins et al., 1999). De resultaten zijn veelbelovend.

Met andere kweektechnieken zijn 3-dimensionale reconstructies van hartspier te maken (Luyn et al., 1999), inclusief de normale electrofysiologische eigenschappen (Carrier et al., 1999). Naast toepassingen zoals onderzoek naar de elektrische impulsvorming en -geleiding in het hart, is deze kennis waardevol voor het optimaliseren van kweekomstandigheden voor hartspiercellen.

Het blijkt mogelijk om varkenshartkleppen van de cellen te ontdoen zonder de structuur ernstig aan te tasten, waarna ze succesvol bekleed kunnen worden met menselijke

endothelcellen (Bader et al., 1997). In andere studies, in schapen, zijn kleppen bestudeerd die waren opgebouwd uit een resorbeerbaar dragermateriaal met twee soorten cellen, namelijk endotheel- en bindweefselcellen (Mayer et al., 1997). Kleppen met autologe cellen functioneerden beter dan die met allogene cellen. Het dragermateriaal dat in deze studie is gebruikt bleek echter te stijf om een goed sluitende 3-slippige klep (zoals twee van de natuurlijk aanwezige kleppen zijn opgebouwd) te construeren.

### **Bloedvaten**

In tegenstelling tot grote-diameter bloedvatprothesen, die gedurende meer dan 10 jaar na implantatie uitstekend blijven functioneren, treden er bij kleine-diameter bloedvatprothesen (gemaakt van Dacron of Teflon) al snel verstoppingproblemen op (Bos et al., 1998). Door het toepassen van tissue engineeringtechnieken komen er nieuwe mogelijkheden beschikbaar om dit soort producten te maken. Tot voor kort waren er drie benaderingen om nieuwe typen bloedvatprothesen te maken: 1) ontwikkeling van nieuwe materialen met een inert oppervlak, 2) modificatie van het oppervlak van bestaande materialen door bijvoorbeeld een fysisch-chemische behandeling of toevoeging van biologisch actieve stoffen en 3) incorporatie van autologe endotheelcellen in de prothese. Sinds kort is het mogelijk om rondom een buisvormig dragermateriaal eerst een laag spiercellen aan te brengen (de “media”), en daarna een laag bindweefselcellen (de “adventitia”); na rijping van dit construct wordt het dragermateriaal verwijderd en worden op het binnenvlak endotheelcellen gezaaid (Nerem et al., 1998; Niklason et al., 1999). Aldus ontstaat een kopie van een bloedvat. Van een aantal producten is vervolgens de korte termijn functie in dieren bestudeerd met wisselende successen (Nerem et al., 1998; Niklason et al., 1999).

## 3. Toekomstverwachtingen

### 3.1. Medisch-technologische mogelijkheden

#### Basistechnieken

Zoals eerder besproken is, wordt er veel onderzoek verricht naar de mogelijkheden om menselijke weefsels te (re)genereren. Vrijwel elk weefsel of orgaan is momenteel onderwerp van studie. In zijn algemeenheid lijkt echter op korte termijn een golf van nieuwe producten voorsnog niet te verwachten. Hoewel succesvolle dierproeven theorieën en principes bevestigen, zal de werkzaamheid en vooral duurzaamheid van vele producten in klinische omstandigheden bij de mens nog aangetoond moeten worden. Wel is het op de langere termijn te verwachten dat gezien de potentie van de tissue engineering technieken diverse en interessante toepassingen mogelijk worden doordat steeds meer kennis beschikbaar zal komen. Ontwikkelingen in de basale technieken (celisolatie, dragermaterialen) zullen ten gunste kunnen komen van onderzoek dat is gericht op meer celspecifieke applicaties. Het is te verwachten dat er generaties van nieuwe producten zullen ontstaan. Een eerste generatie producten bestaat bijvoorbeeld uit een dragermateriaal met één soort cellen. Vervolgens zullen producten met meerdere soorten cellen op / in een dragermateriaal verschijnen. De functie van de cellen in een TEMP zal uiteindelijk ook gemodificeerd kunnen worden door cel- of genterapie. Cel- en genterapie zijn reeds specialistische en zelfstandige kennisgebieden die sterk in ontwikkeling zijn en ook gezien kunnen worden als onderdeel van tissue engineering. In theorie zijn met de combinatie van dragermaterialen, cel-signaal moleculen en gemanipuleerde cellen (teneinde bepaalde moleculen te synthetiseren) krachtige producten te genereren.

Het is te verwachten dat de technieken om cellen te selecteren, differentiëren, kweken en manipuleren verder zullen verfijnen, waarmee uiteindelijk productie op grote(re) schaal mogelijk wordt. Ontwikkelingen op het gebied van isolatie van embryonale stamcellen uit embryo's staan in de kinderschoenen. Concrete toepassingen die uitgaan van dit complexe onderwerp zijn aldus op korte termijn niet te verwachten. Waar het ontbreken van donorembryo's hier verdere technische ontwikkelingen kan afremmen, biedt klonen theoretisch een uitweg. Met behulp van "nuclear transfer" technieken kan de kern van een potentiële ontvanger in een donoreicel geplaatst worden. Het resulterende embryo levert vervolgens de embryonale stamcellen waaruit het gewenste weefsel wordt gekweekt (Solter & Gearhart, 1999). De op deze wijze vergaarde cellen en weefsels vormen in theorie de bouwstenen van elke gewenste TEMP, met een genetische opmaak die identiek is aan die van de potentiële ontvanger. Afstotingsverschijnselen treden aldus niet op. Voorsnog behoren deze scenario's tot de verre toekomst.

Op het gebied van de dragermaterialen is het te verwachten dat kennis omtrent de fabricage van materialen met diverse combinaties van eigenschappen zoals resorbeerbaarheid, elasticiteit en porositeit vergroot zal worden. Deze eigenschappen lijken vooral van belang te worden bij de inkapselingstechniek, waarbij de TEMP-cellen geïsoleerd blijven van het immuunsysteem van de ontvanger. Voor wat betreft de cel-signaal moleculen wordt veel verwacht van de factoren die de angiogenese beïnvloeden.

## Concrete producten

Het schetsen van een toekomstbeeld waarin specifieke producten daadwerkelijk beschikbaar komen voor patiënten is niet eenvoudig gezien de omvang van het aandachtsgebied, de complexiteit van de producten en de onduidelijkheid ten aanzien van de klinische werkzaamheid en veiligheid. Concrete voorspellingen zijn echter in 1997 geformuleerd door het Science and Technology Agency van Japan (Mitamura, 1999) (zie tekstblok 3.1). Een andere toekomstverkenning staat beschreven in *The Atlas of the Future* (Trouw, 2000). Deze atlas voorspelt het gebruik van gekloond tandglazuur, zenuwen en bloedcellen in 2010, rond 2030 zijn vele lichaamsfuncties met kunstmaterialen te vervangen, waardoor rond 2050 ook zenuwbanen, ogen en delen van de hersenen vervangen kunnen worden. Deze voorspellingen

### *Tekstblok 3.1 Chronologische tabel van toekomstige technologie (Mitamura, 1999)*

2012	Klinisch gebruik van cochleaire implantaten voor geleidings en sensorineurale gehoorstoornissen.
2013	Ontwikkeling van volledig implanteerbare artificiële harten en nieren.
2014	Ontwikkeling van biohybride endocriene organen (combinaties van levende cellen en artificiële polymeren).
2015	Klinisch gebruik van tissue-engineered organen (pancreas, nier, lever).
2016	Ontwikkeling van extracorporale lever-support systemen voor langdurig gebruik.
2017	Algemeen gebruik van orgaan-preservatie technieken. Ontwikkeling van extracorporale kweek-technieken voor kleine zoogdierfoetussen met artificiële placenta.
2018	Klinisch gebruik van totaal implanteerbare artificiële nier.
2019	Ontwikkeling van retina-implantaten en artificiële spier.
2023	Ontwikkeling van tissue engineering technieken ten behoeve van regeneratie van organen vanuit gedifferentieerde cellen.

worden door anderen als erg optimistisch ingeschat, zij voorzien de mogelijkheid om hele organen te kweken pas over ca. 400 jaar (Trouw, 2000).

Als indicatie van toekomstige ontwikkelingen kan ook de aard en omvang van recente onderzoeksinspanningen fungeren. Een literatuuronderzoek in Medline over de jaren 1983-1995 en in Science Citation Index over de jaren 1986-1995 geeft aan dat over huid het meest gepubliceerd is (Marx et al., 1998). Andere frequent beschreven onderwerpen van onderzoek waren beenmerg, bloedvaten, pancreas, lever en kraakbeen. Door R&D medewerkers en wetenschappers van een aantal Duitse ondernemingen en onderzoeksinstituten werden lever, huid, kraakbeen, bot, beenmerg en pancreasweefsel genoemd als zijnde kansrijk voor verdere productontwikkeling (Marx et al., 1998).

Een andere indicator van toekomstige ontwikkelingen zijn de klinische studies die gevoerd worden in het kader van FDA goedkeuringsprocedures. Aannemende dat de geëvalueerde producten daadwerkelijk goedgekeurd worden, is het te verwachten dat deze producten ook op de Europese markt zullen verschijnen. Het gaat om een bioartificiële lever, “micro-encapsulated“ pancreascellen, ingekapselde cellen voor pijnbestrijding, varkensneuronen ten behoeve van de ziekte van Parkinson, weefselexpanders voor urine-incontinentie (Lysagt et al., 1998) en artificiële huid (Eaglstein & Falanga, 1998). Verder wordt verwacht dat op een termijn van 5-10 jaar tissue engineered producten ter beschikking komen die defecten van 5-6 cm in perifere zenuwen (bijvoorbeeld in een arm of been)

kunnen overbruggen (personal communication, Feijen). Ten aanzien van tissue engineered huid, bot en kraakbeen wordt verwacht dat in Nederland ontwikkelde producten binnen 5 jaar op de markt zullen verschijnen (personal communication, Van Blitterswijk).

## 3.2. Drempels

### Ethische aspecten

Cellen die gebruikt worden voor TEMPs kunnen afkomstig zijn van zowel mens als dier. Ethische aspecten vereisen hierbij speciale aandacht. In hoeverre de huidige ethische discussies ten aanzien van de problematiek van de xenotransplantatie in breed maatschappelijk verband worden voortgezet en invloed uitoefenen op verdere ontwikkelingen is momenteel niet goed te voorzien. Eenzelfde groeiende maatschappelijke betrokkenheid is te verwachten bij de ontwikkelingen op het gebied van de isolatie van embryonale stamcellen. Met name rond het patenteren van deze cellen, die afkomstig zijn uit donorembryo's (verkregen bij IVF-procedures) is veel discussie. Ook de geschetste mogelijkheden van "nuclear transfer" technieken of klonen zijn maatschappelijk omstrepen. De beschikbaarheidsproblemen die spelen voor donorembryo's en donoreicellen zijn hieraan sterk gerelateerd.

### Risico's

De belangrijkste risico's die op dit moment voorzien kunnen worden bij de toepassing van TEMPs zijn overdracht van ziekte, gebrek aan biocompatibiliteit en snelle achteruitgang van de gewenste functie of zelfs ontwikkeling van een ongewenste functie<sup>1</sup>. Doordat TEMPs levende cellen en weefsels bevatten bestaat er een risico op de aanwezigheid van ziekteverwekkers. De huidige sterilisatiemethodes kunnen echter niet worden toegepast omdat deze een zeer nadelige invloed zouden hebben op de vitaliteit van de cellen en daarmee op de effectiviteit van het product. Biocompatibiliteit is gerelateerd aan de dynamische interactie tussen de TEMP en de ontvanger: TEMP-cellen en weefsels reageren op hun omgeving en het immuunsysteem van de ontvanger reageert op het implantaat. Deze aspecten zijn van grote invloed op de effectiviteit en duurzaamheid van het product, die weer afhankelijk zijn van de kwaliteit van het eindproduct. Er is een hoge mate van beheersing van celkweek- en productietechnieken vereist om TEMPs te produceren met een consistente en hoge kwaliteit. Een bijkomend risico wordt nog gevormd door de onbekendheid van gebruikers met de klinische toepassing van deze nieuwe producten, de indicaties, contra-indicaties en complicaties.

Gezien de diversiteit van de toegepaste weefsels, matrix-materialen en cel-signaalmoleculen zullen aan verschillende TEMPs verschillende combinaties van risico's verbonden zijn. Autologe cellen leveren bijvoorbeeld het minste risico voor ongewenste effecten zoals overdracht van ziekte of afstoting, maar beschikbaarheid op het juiste moment kan een probleem vormen gezien de productietijd van TEMPs. Allogene of xenogene cellen leveren de meeste risico's op. Op dit moment wordt klinisch onderzoek met xenogene cellen

---

<sup>1</sup> Eind 2000 zal een separaat RIVM-rapport verschijnen over het risicomanagement van TEMPs.

en dus klinische evaluatie van TEMP's met dierlijke cellen (bijvoorbeeld de bioartificiële lever van het AMC) niet toegestaan vanwege de mogelijke risico's. Gezien de schaarste in een aantal therapieën (orgaantransplantatie) zal de druk blijven bestaan om te zoeken naar alternatieve strategieën (bijvoorbeeld xenotransplantatie) waarbij telkens de bekende en onbekende risico's tegen de verwachte voordelen zullen moeten worden afgewogen. Wat de mogelijkheden zijn voor onderzoekers om technieken en risico's ten aanzien van xenogene bronnen van cellen te bestuderen zal deels afhankelijk zijn van nationale wetgeving en de publieke opinie. Zo worden de risico's als gevolg van het stimuleren van de rijping van eicellen ten behoeve van een IVF procedure geaccepteerd, maar lijken deze vooralsnog niet acceptabel voor donatie ten behoeve voor onderzoek.

### **3.3. Wet- en regelgeving**

Risicomangement van een nieuwe productgroep vereist kennis van de risico's waarmee adequate beheersmaatregelen kunnen worden opgesteld. Een wet die eisen stelt aan fabrikanten en producten, zoals momenteel voor geneesmiddelen geldt, is een voorbeeld van zo'n beheersmaatregel. Daarnaast zullen nieuwe ervaringen met producten idealiter leiden tot continue verbetering van deze maatregelen. Waar voor geneesmiddelen en medische hulpmiddelen de wet- en regelgeving op Europees niveau ingevuld is, moet dit voor lichaamsmaterialen en afgeleide producten zoals TEMP's nog gerealiseerd worden. In deze toekomstverwachting wordt gesproken over producten. Echter, voor bijvoorbeeld TEMP's die autologe cellen bevatten is het te verdedigen dat er sprake is van een geleverde dienst, namelijk het bewerken van de cellen. Het is aldus de vraag in hoeverre en op welke wijze deze benaderingen (product versus dienst) doorgevoerd kunnen en zullen worden in de wet- en regelgeving die van toepassing wordt op TEMP's.

In afwachting van Europese regelgeving ontwikkelen een beperkt aantal landen nationale wetgeving. In afwezigheid van eenduidige internationale eisen ligt de invulling van de veiligheid- en werkzaamheidsaspecten van deze productgroep primair in handen van de producenten. Aldus bestaat de behoefte bij de betrokken partijen (met name producenten, overheid) om in gezamenlijk overleg definities, procedures en waarborgen ten aanzien van deze kwaliteitsaspecten vast te leggen (Hellman et al., 1994; Omstead et al., 1998; EUCOMED, 1999). Sinds twee jaar wordt ook in de VS gewerkt aan de ontwikkeling van productstandaarden in een nauw overleg tussen overheid en bedrijfsleven. Dit gebeurt onder de auspiciën van de American Society of Testing and Materials (ASTM). Ook Europese vertegenwoordigers van bedrijven en overheden zijn steeds meer betrokken bij de ontwikkeling van deze ASTM-standaarden. De roep om in navolging van de VS ook in Europa regelgeving en standaarden te ontwikkelen wordt steeds luider, gezien het concrete en te voorziene aanbod van producten van zowel Europese als Amerikaanse onderzoekers en bedrijven. Bij het bepalen van de strategie voor risico-management van TEMP's zal ongetwijfeld gebruik worden gemaakt van de kennis en ervaring die is opgedaan voor andere productgroepen, waarbij vergelijkbare risico's en kwaliteitsaspecten aan de orde zijn. Het betreft hier geneesmiddelen, en dan met name biotechnologische producten, bloed en bloedproducten, medische hulpmiddelen, donororganen en -weefsels, en in-vitro diagnostica.

In hoeverre TEMP's ongewenste effecten zullen vertonen die de gezondheidstoestand verslechteren zal voor een belangrijk deel afhangen van het systeem waarin de toelating van TEMP's tot de markt is geregeld. Middels preklinisch onderzoek (in-vitro en dieronderzoek) zouden patiënten beschermd kunnen worden tegen slecht functionerende en onveilige producten. Toch zal hiermee nooit een 100% veiligheidsgarantie gegeven kunnen worden. Mede door de complexiteit van de mogelijke interacties tussen de cellen van de TEMP en de cellen van de ontvanger zal een deel van de bijwerkingen vooraf niet goed te voorspellen zijn. Een complicerende factor is verder het spanningsveld tussen enerzijds de wens om nieuwe therapeutische mogelijkheden van voorheen niet / slecht behandelbare aandoeningen snel beschikbaar te maken en anderzijds de noodzaak om tijdrovend preklinisch veiligheids- en werkzaamheids-onderzoek zorgvuldig af te ronden.



## 4. Gevolgen voor de gezondheidstoestand

Gezien de diversiteit van producten die onder de noemer tissue engineering te vangen zijn is een complete beschrijving van de effecten van alle producten op de gezondheidstoestand nauwelijks mogelijk. Tissue engineering is gebaseerd op de waarneming uit de embryologie dat de juiste cellen, in de juiste omgeving, met de juiste signalen, alle weefsels en organen kunnen vormen die nodig zijn voor een compleet mens. Op dit moment lijkt men nog slechts een zeer klein deel van de kennis ontrafeld te hebben om controle uit te kunnen oefenen over deze zeer complexe processen. Wanneer deze kennis en kunde in de toekomst in voldoende mate ontwikkeld is, zullen geïmplanteerde cellen beschadigd weefsel kunnen vervangen met restloos herstel van de verstoorde functie. Dit scenario kan enorme gevolgen hebben voor de gezondheidstoestand en de gezondheidszorg in de vorm van een toename van de kwaliteit van leven, sneller herstel, minder langetermijncomplicaties en minder restafwijkingen.

Met een aantal voorbeelden kunnen de vermeende effecten op de gezondheidstoestand worden geïllustreerd. Bij de behandeling van brandwonden kunnen tissue engineered huidproducten belangrijke winst leveren. Wanneer het tissue engineered huidproduct, eventueel inclusief zweet- en talgklieren en haar, een kopie is of vormt van natuurlijke huid, is het te verwachten dat er minder functiebeperking (door littekenvorming) resteert en dat het cosmetisch resultaat (en deelname aan het sociale verkeer) beter zal zijn. Tissue engineered bot-producten zouden sneller en met minder complicaties botdefecten (tumor-chirurgie) en fracturen kunnen helen.

TEMPs kunnen bij uitstek ingezet worden bij aandoeningen die door ongevallen of chirurgisch ingrijpen zijn ontstaan (brandwonden, verwijdering van tumoren). Het gaat hierbij vooral om regeneratie van “defecten”. In het geval van systemische aandoeningen kunnen TEMPs verschillende aangrijpingspunten hebben. Ze kunnen zowel gericht zijn op primaire genezing als op bestrijding van secundaire effecten. Zo kan men zich bijvoorbeeld richten op behandeling van de primaire verschijnselen en langetermijncomplicaties van diabetes door het implanteren van een TEMP (met pancreascellen) die de falende pancreas vervangt. Anderzijds zijn bijvoorbeeld tissue engineered bloedvaten gericht op behandeling van vaatvernauwing als gevolg van arteriosclerose. Dit principiële verschil in aangrijpingspunt (definitieve oplossing van een ziektebeeld versus “slechts” symptoombestrijding) hoeft in de praktijk niet direct vertaald te worden in een verschil in grootte van het effect op de gezondheidstoestand. Dit effect zal sterk afhangen van de duurzaamheid van de TEMPs (bijvoorbeeld beperkte levensduur van geïmplanteerde pancreascellen). Ook wanneer symptoombestrijding middels een TEMP (bijvoorbeeld bij afsluitingen van bloedvaten in het been) succesvoller is dan de bestaande implantaten kan enorme winst in gezondheid (meer mobiliteit, minder pijn, minder secundaire infecties) te behalen zijn. Een aantal TEMPs zijn in te zetten om de tijd tot een transplantatie te overbruggen, bijvoorbeeld bij falen van de leverfunctie. In hoeverre deze TEMPs de overleving van patiënten na transplantatie kunnen verbeteren valt nog vast te stellen.

Naast de verwachte winst in gezondheid kunnen de risico's die samengaan met TEMPs ook de gezondheid nadelig beïnvloeden. TEMPs vormen een nieuwe klasse producten, die derhalve ook een eigen set aan risico's met zich meebrengen. Op dit moment is de kennis over de gebruikte technieken nog sterk groeiende en erg gefragmenteerd. Dit

maakt dat ook het beeld van de geassocieerde risico's en eventuele nadelige beïnvloeding van de gezondheid nog onduidelijk en incompleet is. Mede daarom is er voor deze producten nog vrijwel geen regelgeving om de risico's te beheersen.

## 5. Gevolgen voor de zorg

Het eventuele succes van een product in de markt en haar effect op de zorg is sterk afhankelijk van de specifieke kenmerken en prestaties die zijn gebleken bij klinische evaluaties. Zo zullen, indien de resultaten duurzaam blijken, ook secundair effecten te verwachten zijn door vermindering van re-interventies (bijvoorbeeld heupkop-implantaten) en langetermijncomplicaties (bijvoorbeeld van diabetes bij pancreas-implantaten). Bij duurzame TEMP's is het te verwachten dat zij in een eerder stadium van een aandoening gebruikt kunnen worden. Door vroeg herstel van een lokaal kraakbeendefect is misschien uitgebreide gewrichtsschade en dus implantatie van een kunstheup te voorkomen. Het implanteren van kunstgewrichten wordt momenteel zo lang mogelijk uitgesteld gezien de revisieoperatie(s) die in veel gevallen noodzakelijk zijn. Succesvolle orthopedische TEMP's zouden aldus wachtlijsten kunnen verkorten. Anderzijds kunnen ze andere wachtlijsten creëren door het aantrekken van een nieuwe patiëntenpopulatie.

Daarnaast zijn de effecten op de zorg ook afhankelijk van de reeds aanwezige alternatieve therapieën (competitie). Op basis van dit criterium zijn er drie productgroepen te beschrijven:

- Als eerste is een groep producten te onderscheiden die een alternatief biedt voor een bestaande, vrij verkrijgbare therapie. De effecten van deze producten op de zorg hoeven niet groot te zijn en zijn vooral afhankelijk van de prestaties ten opzichte van de bestaande alternatieven. Een voorbeeld zijn de tissue engineered huidproducten die moeten concurreren met auto- en allotransplantatie. De precieze omvang van het huidige gebruik van deze producten is niet bekend, maar het product met de vitale autologe huidcellen wordt gebruikt voor ca. 75 patiënten per jaar, waarbij wereldwijd momenteel ca. 600 patiënten zijn behandeld (vooral VS, Frankrijk, Duitsland).
- Een tweede groep wordt gevormd door producten die toegevoegd kunnen worden aan bestaande, maar schaarse therapieën. Voor deze producten (bijvoorbeeld tissue engineered organen) geldt dat het aantal patiënten dat behandeld kan worden ook afhankelijk gaat worden van de beschikbaarheid van TEMP's. Voor de vitale aandoeningen zullen de ondersteunende producten, zoals een bioartificiële lever, patiënten de tijd laten overbruggen tot er een donorlever beschikbaar komt. Mogelijk is door behandeling met bijvoorbeeld een bioartificiële lever een verbetering in de klinische toestand te realiseren waardoor het succes van een opvolgende levertransplantatie vergroot wordt. Idealiter biedt een bioartificiële lever tijdwinst waardoor de aanwezige unieke capaciteit tot herstel van de eigen lever meer kans krijgt.
- Tenslotte is een derde groep te vormen uit producten die geheel nieuwe mogelijkheden bieden voor aandoeningen waar voorheen geen of geen adequate therapie beschikbaar voor was. Deze zal het grootste effect op de zorg kunnen sorteren. Bijvoorbeeld hartspiercellen die na een hartinfarct rondom of in het beschadigde gebied gebracht worden waardoor er in plaats van niet-functioneel littekenweefsel nieuw spierweefsel ontstaat. Dit zou een aantal secundaire problemen van het hartinfarct zoals pompfunctiestoornissen (zich vertalend in bijvoorbeeld verminderde inspanningstolerantie) kunnen verminderen. Een ander voorbeeld is in de hersenen geïmplanteerde (eventueel ingekapselde) cellen die cel-signaal moleculen afscheiden ter

behandeling van neurologische aandoeningen zoals de ziekte van Parkinson. Deze TEMP's zullen vooral invloed hebben op de noodzakelijke verpleegkundige zorg.

Afgezien van bijvoorbeeld huidproducten zijn de meeste TEMP's slechts toe te passen met chirurgische technieken (implantaten). Zij zullen dus voornamelijk in ziekenhuizen worden toegepast. Hoewel een aantal producten als hightech te classificeren zijn (bijvoorbeeld bioartificiële lever) en naar verwachting ingezet worden in centra met een transplantatievergunning, kunnen andere producten (huid, kraakbeen, bot) heel goed ook in perifere klinieken worden toegepast.

Door onderzoekers wordt geschat dat er in de VS jaarlijks US\$ 400 miljard wordt besteed aan geneeskundige zorg (8 miljoen chirurgische ingrepen en 40-90 miljoen ziekenhuisdagen) voor patiënten die lijden aan orgaanfalen (Langer & Vacanti, 1993). Een aantal mensen voorziet dat TEMP's een substantiële reductie in kosten kunnen realiseren. Het is te voorzien dat TEMP's net als andere hightech toepassingen zoals harttransplantatie niet goedkoop zijn, maar de kosteneffectiviteit kan gunstig uitvallen (bijvoorbeeld niertransplantatie versus dialyse). Eén en ander is pas goed in beeld te brengen wanneer er (meer) concrete producten op de markt verschijnen. De omvang van de kosten die voortvloeien uit het gebruik van bovenstaande producten is, behoudens enkele voorbeelden, niet volledig bekend. Zo kost een procedure met autologe kraakbeencellen bijvoorbeeld US\$11.500,-. In de VS zijn hiermee ruim 2000 patiënten behandeld van 1995 tot december 1999. Het product bestaande uit neonatale bindweefsel- en huidcellen kost per ca. 38 cm<sup>2</sup> US\$ 1000,-.

## 6. Conclusies

- In theorie is tissue engineering een veelbelovend concept voor de behandeling van ziekten. Het beïnvloeden van regeneratie door vervanging van cellen en stimulatie van de juiste processen van celregulatie zou een volledig herstel van de verstoorde functie op kunnen leveren.
- Vrijwel alle menselijke weefsels en organen zijn onderwerp van onderzoek in het laboratorium. Voor klinische toepassingen is op dit moment een beperkt aantal producten beschikbaar (huid, kraakbeen).
- Het proces van in-vitro manipulaties aan cellen vereist gedetailleerde kennis van de processen die spelen bij de regulatie van het functioneren en differentiëren van cellen. Deze kennis groeit gestaag. Dit geldt ook voor de rol die de matrix, immuno-isolerende membranen en signaalmoleculen spelen bij tissue engineering.
- Tissue engineering is ook te zien als een oplossingsrichting voor medische problemen, waarbij de “technology push” en de vraag uit de kliniek naar betere therapieën belangrijke krachten zijn die ontwikkelingen gaande zullen houden.
- Waar inmiddels met stamcellen en gedifferentieerde cellen van donoren of patiënten ervaring in tissue engineering is opgebouwd, is het de vraag in hoeverre de theoretisch veelbelovende embryonale stamcellen daadwerkelijk kunnen worden gebruikt voor tissue engineering. Dit zal onder andere afhangen van komende wet- en regelgeving en voldoende beheersing van het proces van differentiatie.
- In hoeverre TEMPs kunnen en mogen worden geëvalueerd in mensen en uiteindelijk ter beschikking komen voor geneeskundige behandelingen zal ook afhangen van komende regelgeving. Er bestaan zorgen over de kwaliteit en veiligheid van TEMPs, maar in Europa ontbreekt samenhangende regelgeving om de risico's te beheersen. Een beperkt aantal lidstaten heeft zelf regelgeving geformuleerd. Dit gebrek aan structuur of eisen lijkt de productontwikkeling nog niet te hinderen. Door diverse partijen zijn er initiatieven ondernomen om standaarden te ontwikkelen.
- De effecten op de gezondheidstoestand zijn op dit moment in algemene zin slechts te schatten op basis van het theoretische concept: vervanging van disfunctionerende cellen waarna nog slechts minimale afwijkingen resteren. De beschikbare TEMPs zijn nog te kort op de markt om een duidelijk effect te kunnen waarnemen. Afgezien van de producten die een overbrugging vormen voor meer definitieve therapie zullen de langetermijn resultaten in belangrijke mate het succes van TEMPs bepalen.
- De gevolgen voor de zorg zijn afhankelijk van de te behandelen aandoening en zijn op dit moment nog moeilijk in te schatten. De gevolgen zullen het grootst zijn voor die aandoeningen waar geen effectieve alternatieve behandeling voor bestaat. Verder bestaat er de mogelijkheid dat voor bepaalde ingrepen het moment van medisch ingrijpen zal verschuiven, hetgeen ook aanzienlijke gevolgen voor de zorg kan hebben.

## Literatuur

- Atala A. Future perspectives in reconstructive surgery using tissue engineering. *Reconstructive Urology* 1999;26:157-164.
- Atkins BZ, Heuman MT, Meuchel JM, Cottman MJ, Hutcheson KA, Taylor DA. Myogenic cell transplantation improves in vivo regional performance in infarcted rabbit myocardium. *J Heart Lung Transplant*. 1999;18:1173-1180.
- Bader A, Schilling T, Teebken OE, Brandes G, Herden T, Steinhoff G, Haverich A. Tissue engineering of heart valves--human endothelial cell seeding of detergent acellularized porcine valves. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;14:279-284.
- Baldwin SP, Saltzman WM. Materials for protein delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1998;33:71-86.
- Bohl KS, Shon J, Rutherford B, Mooney DJ. Role of synthetic extracellular matrix in development of engineered dental pulp. *J Biomater Sci Polym Ed* 1998;9:749-764.
- Bos GW, Poot AA, Beugeling T, Aken WG van, Feijen J. Small-diameter vascular graft prostheses: current status. *Arch Physiol Biochem* 1998;106:100-115.
- Caplan A, Fink D, Bruder S, et al. The regeneration of skeletal tissues with mesenchymal stem cells. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds.). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 471-480.
- Carrier RL, Papadaki M, Rupnick M et al. Cardiac tissue engineering: cell seeding, cultivation parameters, and tissue construct characterization. *Biotechnol Bioeng* 1999;64:580-589.
- Chamuleau RA. Lever en kunstlever. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998;142:1300-1305.
- Dixit V, Gitnick G. Artificial liver support: state of the art. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1996;220:101-114.
- Eaglstain WH, Falanga V. Tissue engineering and the development of Apligraf, a human skin equivalent. *Clin Ther* 1997;19:894-905.
- Eaglstain WH, Falanga V. Tissue engineering for skin: an update. *J Am Acad Dermatol* 1998;39:1007-1010.
- Ellis AJ, Hughes RD, Wendon JA et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996;24:1446-1451.
- EUCOMED Human Tissues Task Group. Industry Position on Human Tissue Product Regulation. 1999-10-20.
- Friend J, Hu W-S. Engineering a bioartificial liver support. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 678-695.
- Friess W. Collagen - biomaterial for drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 1998; 45: 113-136.
- Furnish E, Schmidt C. Tissue Engineering of the peripheral nervous system. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 514-535.
- Gearhart J. New potential for human embryonic stem cells (comment). *Science* 1998;282:1061-1062.
- Gentile F, Emerich D. Site-specific treatment of central nervous system disorders using encapsulated cells. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 536-557.
- Germain L, Auger FA, Grandbois E, Guignard R, Giasson M, Boisjoly H, Guerin SL. Reconstructed human cornea produced in vitro by tissue engineering. *Pathobiology* 1999;67:140-147.
- Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996;19(1 Suppl):23S-37S.
- Haynesworth SE, Reuben D, Caplan AI. Cell-based tissue engineering therapies: the influence of whole body physiology. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1998;33:3-14.
- Hellman KB, Picciolo GL, Fox CF. Prospects for application of biotechnology-derived biomaterials. *J Cell Biochem* 1994;56:210-24.
- Huiskes R. Oorzaken van falen van heup- en knieartroplastieken. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998; 142: 2035-2040.
- Ikada Y. Tissue engineering esophagus. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 598-609.
- Isner JM, Baumgartner I, Rauh G, et al. Treatment of thromboangiitis obliterans (Buerger's disease) by intramuscular gene transfer of vascular endothelial growth factor: preliminary clinical results. *J Vasc Surg* 1998;28:964-973.
- Isogai N, Landis W, Kim TH, Gerstenfeld LC, Upton J, Vacanti JP. Formation of phalanges and small joints by tissue-engineering. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81:306-316.
- Jen AC, Wake MC, Mikos AG. Review: hydrogels for cell immobilization. *Biotechnol. Bioengin.* 1996; 50: 357-364.
- Kim B-S, Mooney DJ. Development of biocompatible synthetic extracellular matrices for tissue engineering. *TIBTECH* 1998; 16: 224-230.
- Kobayashi H, Ikada Y, Moritera T, Ogura Y, Honda Y. Tissue reactions induced by modified poly(vinyl alcohol) hydrogels in rabbit cornea. *J Biomed Mater Res.* 1992;26:1583-98.

- Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993;260:920-926.
- Lanza RP, Chick WL. Transplantation of encapsulated cells and tissues. *Surgery* 1997;121:1-9.
- Lanza RP, Hayes JL, Chick WL. Encapsulated cell technology. *Nature Biotechnology* 1996;14:1107-1111.
- Lysaght MJ, Nguy NA, Sullivan K. An economic survey of the emerging tissue engineering industry. *Tissue Eng* 1998;4:231-238.
- Luyn MJA van, Plantiga JA, Berling S, Leij LFMH de, Wachem PB van. Cardiac tissue engineering of neonatal rat cardiomyocytes in two and three dimensional cultures. (Abstract) 8e Conferentie van de Nederlandse Vereniging voor biomaterialen. Lunteren, 9-10 nov 1999.
- Marler JJ, Upton J, Langer R, Vacanti JP. Transplantation of cells in matrices for tissue regeneration. *Advanced Drug Delivery Reviews* 1998;33:165-182.
- Marx U, Bushnaq H, Yalcin E. European research and commercialisation activities in the field of tissue engineering and liver support in world wide competition. *Int J Artif Organs* 1998;21:119-126.
- Mayer JE, Jr., Shin'oka T, Shum Tim D. Tissue engineering of cardiovascular structures. *Curr Opin Cardiol* 1997;12:528-532.
- Minuth WW, Sittinger M, Kloth S. Tissue engineering: generation of differentiated artificial tissues for biomedical applications. *Cell Tissue Res* 1998;291:1-11.
- Mitamura Y. New technologies for the 21<sup>st</sup> century. *Medical Device Technology* 1999, dec, 8-13.
- Monaco AP, Maki T. Islet transplantation using immunoexclusion methods. *Transplantation Proceedings* 1996;28:2042-2045.
- Nerem R, Braddon L, Seliktar D. Tissue engineering and the cardiovascular system. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 561-579.
- Niklason LE, Gao J, Abbott WM, Hirschi KK, Houser S, Marini R, Langer R. Functional arteries grown in vitro (see comments). *Science* 1999;284:489-493.
- Oers JAM van. Definitie voor de opzet van de studie Volksgezondheid Toekomst Verkenning 2002. Bilthoven: RIVM rapport 431501 029, 1999.
- Omstead DR, Baird LG, Christenson L et al. Voluntary guidance for the development of tissue-engineered products. *Tissue Eng.* 1998;4:239-266.
- Patrick C, Chauvin P, Robb G. Adipose Tissue Engineering. In: Patrick C, Mikos A, McIntire L (eds). *Frontiers in tissue engineering*. Oxford, U.K.: ElsevierScience Ltd.; 1998; 369-382.
- Peters-Volleberg GWM, Hilbers-Modderman ESM, van den Berg Jeths A. Diabetes hulpmiddelen: Historische ontwikkelingen en toekomstverwachtingen. Bilthoven: RIVM rapport 605910 002, 2000.
- Pollok JM, Vacanti JP. Tissue engineering. *Semin Pediatr Surg* 1996;5:191-196.
- Reddi AH. Symbiosis of biotechnology and biomaterials: applications in tissue engineering of bone and cartilage. *J. Cellular Biochem.* 1994;56:192-195.
- Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Nature Biotechnol* 1998; 16: 247-252.
- Rodenhuis S, Vries EG de. Hooggedoseerde chemotherapie met stamcelondersteuning bij solide tumoren van volwassenen. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999;143:731-738.
- Skalak R, Fox CF (eds) *Tissue Engineering*. Proceedings of a workshop held at Granlibakken, Lake Tahoe, CA, Feb 26-29, 1988. New York, NY, Liss, 1988.
- Solter D, Gearhart J. Putting stem cells to work. *Science* 1999;283:1468-1470.
- Sussman NL, Gislason GT, Conlin CA, Kelly JH. The Hepatix extracorporeal liver assist device: initial clinical experience. *Artif Organs* 1994;18:390-396.
- Thomson JA, Itskovitz Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts (see comments). *Science* 1998;282:1145-1147.
- Trouw. Atlas van de toekomst. 22 jan 2000.
- Walboomers XF, Croe HJ, Ginsel LA, Jansen JA: Growth behaviour of fibroblasts on microgrooved polystyrene. *Biomaterials* 1998;19:1861-1868.
- Watanabe FD, Mullon CJ, Hewitt WR et al. Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial. *Ann Surg* 1997;225:484-491.

## Verzendlijst

- 1 Directeur-Generaal RIVM
- 2 Directeur Volksgezondheid RIVM
- 3 Voorzitter van de Gezondheidsraad
- 4 Directeur-Generaal Volksgezondheid, VWS
- 5 Directeur-Generaal Zorg, VWS
- 6 Directeur Genees- en Hulpmiddelenvoorziening, VWS
- 7 Directeur Curatieve & Somatische Zorg, VWS
- 8 Drs. J.J.M. van Dijk, Gezondheidsbeleid, VWS
- 9 Hoofdinspecteur Farmacie en Medische Technologie, IGZ, VWS
- 10 Mw. dr. A. van Sliedregt, IGZ, VWS
- 11-16 Mr. M.A. van Hall, projectmanager Medische Hulpmiddelen, VWS
- 17 Drs. E.J. Jansen, GMV, VWS
- 18-22 Mw. dr. I. Steneker, GMV, VWS
- 23 Dr. M.J. van der Velde, GMV, VWS
- 24 Prof. Dr. C.A. van Blitterswijk, Isotis b.v., Bilthoven.
- 25 Dr. R. Bloem, Leids Universitair Medisch centrum, afdeling Orthopedie, Leiden.
- 26 Prof. Dr. J. Feijen, Biomedisch Technologisch Instituut, Polymeerchemie en Biomaterialen, Universiteit Twente, Enschede.
- 27 Prof. Dr. V. van Hinsbergh, TNO Preventie en Gezondheid, Gaubius Laboratorium Vaat- en Bindweefsel onderzoek, Leiden.
- 28 Depot Nederlandse Publikaties en Nederlandse Bibliografie, Den Haag
- 29 Dr. ir. G. de Mik, Directeur Sector Risico's Milieu en Gezondheid, RIVM
- 30 Prof. dr. ir. D. Kromhout, Directeur Volksgezondheidsonderzoek, RIVM
- 31 Prof. dr. G. van den Bos, hCZO, RIVM
- 32 Dr. ir. J.F. van Sonderen, hLGM, RIVM
- 33-40 Dr. D. Ruwaard, hVTV, RIVM
- 41 Dr. ir. H.J.G.M. Derks, hLGO, clustercoördinator, RIVM
- 42-45 Hoofd afdeling BTG, LGM, RIVM
- 46 Hoofd afdeling GMB, LGM, RIVM
- 47 Secretariaat LGM, RIVM
- 48 Drs. G.W.M. Peters-Volleberg, LGM, RIVM
- 49 Dr. C. Wassenaar, RIVM
- 50 Ir. R.E. Geertsma, RIVM
- 51 SBD/Voorlichting & Public Relations
- 52 Bureau Rapportenregistratie
- 53 Bibliotheek RIVM
- 54-63 Bureau Rapportenbeheer
- 64-100 Reserve exemplaren