Koolstofnanobuisjes en ontstaan van mesotheliomen

De studie van het Japanse onderzoeksteam met koolstofnanobuisjes (Carbon Nano Tubes; CNT) en asbest valt ruwweg in twee delen uiteen:

- *in vitro* blootstelling van celcultures gericht op cytotoxiciteit (celschade) en opname van CNTs in cellen
- *in vivo* deel met focus op het tumorigene/carcinogene effect van CNTs na injectie in de buikholte van ratten van hoge tot zeer hoge doses (4-40 mg/kg).

Het nogal selectieve gebruik van controles en CNTs in de experimenten maakt het moeilijk om harde conclusies te trekken. Zo zijn er bijvoorbeeld twee dunne (50 nanometer) en twee dikke (150 nm) CNT monsters onderzocht waarvan de vezels recht waren en één CNT die zich als een kluwen gedraagt. Slechts één van de dikke CNT werd naast de niet-rechte 'kluwen-variant' gebruikt in de *in vivo* mesothelioomstudie. Daarnaast ontbrak de schadelijke vorm van asbest die had moeten dienen als positieve controle in de dierstudie. De aangegeven verschillen, d.w.z. een hoge versus een lage tumorigene potentie, tussen de dunne en dikke CNT zijn niet zo groot als de auteurs suggereren.

In vitro

Alle CNTs veroorzaken in mesotheelcellen een vergelijkbare celtoxiciteit als verschillende asbestvezels waarbij de dunne vorm van een vezel meer cytotoxisch is dan de dikkere. Voor de andere epitheelcellen worden de resultaten niet gepresenteerd. Voor macrofagen, het belangrijkste celtype bij opruiming van vezels en deeltjes, zijn geen verschillen in toxiciteit waargenomen. Dit onderbouwt echter niet de stelling dat niet de lengte, maar de diameter een bepalende factor is voor de toxiciteit. Hoe de vezels in suspensie zijn gebracht wordt niet beschreven, dus in welke mate de vezels uitzakken of blijven drijven is niet duidelijk. De auteurs hebben ook met elektronenmicroscropie bekeken wat cellen met de vezels doen. Daarbij lijkt het erop dat dikke asbestvezels (de dunne, veel schadelijker variant is niet gebruikt) worden omgeven door een membraan, terwijl dat bij dunne CNTs niet gebeurt. De conclusie is dat de dunne CNT-vezels de cellen doorboren. Dit klopt, maar is wat zwak onderbouwd. Helaas zijn dunne asbestvezels niet meegenomen als positieve controle. Overigens wordt het beeld dat dunnere vezels toxischer zijn per gram bevestigd in een Europese studie (Fenoglio en collega's, 2012).

In vivo

Kijkend naar de resultaten voor mesothelioomincidentie, zijn er eigenlijk geen grote verschillen tussen de vezelachtige CNT monsters: het 'dunne' CNT veroorzaakt 100% mesothelioom- incidentie en de ´dikke´ bij de hoogste dosering ook. De niet-rechte vezels veroorzaken geen enkele vorm van mesothelioomkanker bij dezelfde dosis. De conclusie zou moeten zijn dat CNT met allen ongeveer dezelfde lengte, maar verschillende dikte, allemaal bij ten minste 90% van de dieren mesotheliomen veroorzaken, terwijl de kluwen-CNT die potentie niet heeft. Die conclusie wordt echter niet getrokken.

Statistisch gezien is er ook een probleem, want er zijn grote verschillen in de groepsgrootte. Dit varieert van 60 dieren voor sommige behandelingen, tot zes voor andere, waarvoor verder geen verklaring wordt gegeven. De meest interessante gegevens zouden moeten komen uit de groep die is blootgesteld aan de lagere concentratie van 1 mg, maar helaas is die lage concentratie niet voor alle CNTs gebruikt. Dit maakt het trekken van een goed onderbouwde conclusie lastig, zo niet onmogelijk. Teleurstellend is het feit dat het onderzoeksteam de schadelijke vorm van asbest niet heeft gebruikt als positieve controle en er geen mogelijkheid is om vergelijkingen te doen op basis van een gelijk aantal vezels. Ook hier geldt dat uit de Europese studie blijkt dat *in vivo* dunne meerwandige koolstofnanobuisjes (9.4 nm) schadelijker zijn dan de dikkere (70 nm) op basis van massa als dosismaat. In de Japanse studie is geen vergelijking op basis van aantallen vezels of oppervlakte gemaakt. De gerapporteerde gegevens hierin suggereren dat vooral de diameter en niet de lengte van de CNTs de belangrijkste parameter bij de risicobeoordeling is.

Conclusie: Tot nu toe is de algemene aanname dat de vezellengte bepalend is voor mesothelioomvorming en de diameter bepalend is voor het gedrag in lucht en de kans dat

vezels in de longen terecht komen. De Japanse onderzoekers claimen echter dat de diameter juist bepalend is voor de vorming van mesothelioomkanker. Het RIVM stelt dat de Japanse studie interessante resultaten naar voren brengt. De belangrijkste conclusie van de onderzoekers, namelijk dat de diameter en niet de lengte bepalend is voor het carcinogene effect van CNT, volgt echter niet uit de gepresenteerde resultaten. Feit is wel dat er, in combinatie met de Europese studie, evidentie is dat niet alleen de lengte, maar ook de diameter een rol speelt bij de toxiciteit.
Het *in vitro* onderzoek naar de opname van CNT door de mesotheelcellen kan bijdragen aan de theorievorming over de tumorigene activiteit van bepaalde typen CNT.