

Vak

2.A.3

Samenvatting

Hoorcolleges Week 12

JoHo Samenvattingen

JoHo biedt een compleet pakket samenvattingen aan. In dé studentenwinkels van Nederland vind je bijvoorbeeld uitgebreide boekuittreksels, stamplijsten, handige schema's, samenvattingen van arresten, collegeaantekeningen en oude tentamens met uitwerkingen. Deze producten zijn aanvullend op je lesstof en studieboeken, besparen je tijd, vergroten je slagingskans en worden niet voor niets door vrijwel iedere student in de grote studentensteden al jaren als onmisbaar ervaren!

Kijk voor het actuele aanbod op JoHo.nl

Bij de samenstelling van de samenvattingen proberen we zoveel mogelijk de kwaliteit te waarborgen. We kunnen echter geen verantwoordelijkheid aanvaarden voor het gebruik ervan. De materialen dienen als hulpmiddel en niet als vervanging van bijvoorbeeld het volgen van onderwijs of het bestuderen van boeken.

Hoe te verkrijgen?

Online via JoHo.nl

Een groot gedeelte van het aanbod is online gratis te gebruiken voor JoHo donateurs

Bestellen via JoHo.nl

Het volledige aanbod is per post te bestellen via JoHo.nl

In het JoHo center Den Haag

Het volledige aanbod is hardcopy verkrijgbaar in het JoHo center van Den Haag.

Werken voor JoHo

JoHo zoekt voortdurend afgestudeerden voor het maken en controleren van de samenvattingen.

JoHo centers

Je vindt de JoHo centers in Amsterdam, Den Haag, Groningen, Leiden, en Utrecht. Voor adressen en openingstijden, kijk op JoHo.nl

The World of JoHo



Waar je alles kunt boeken en zoeken voor je studie, stage, project, baan, cursus en reis in het buitenland

JoHo **helpt** wereldwijd talent te ontwikkelen, kennis over te dragen en samen te werken.

JoHo **werkt** wereldwijd voor studenten, reizigers, vrijwilligers, expats en ondernemers.

JoHo **geeft** wereldwijd kortingen, hulp, advies, bemiddeling en gratis gidsen.

Hoorcolleges

Hoorcollege 1: Het menselijk genoom en genomics

Grootte van het humane genoom:

Kern DNA bevat 3000 Mb. Het is niet zo dat wanneer je meer basen hebt dat je een ingewikkelder organisme bent. Het menselijke genoom heeft 22 autosomen en 2 geslachtschromosomen. Een chromosoom bevat 50-250 miljoen basenparen, waarvan er 21.494 eiwit-coderende genen zijn. Daarnaast zijn er ook RNA only genen, hiervan wordt geen eiwit gemaakt.

Strategie voor het sequencen van het menselijk genoom:

- Knippen van basenparen
- Inplanting stukjes in bacteriën
- Bacteriën in goede volgorde plaatsen
- Kleinere stukjes knoppen zodat het uitgelezen kan worden

Inmiddels kan van een individu het genoom gesequenced worden. Alhoewel het op dit moment nog redelijk duur is.

Het aantal eiwit-coderende genen in het humane genoom is op dit moment ongeveer 22000. Dat is maar 2x zoveel als in het fruitvliegje en maar 4-5x zoveel dan in bakkersgist. Het proteoom (het volledige set eiwitten gecodeerd door het humane genoom) is veel complexer dan dat van invertebrale organismen.

Slechts 1,5% van het humane genoom bestaat uit coderende sequenties. Omdat de meeste genen veel en vaak grote intronen bevatten, wordt ongeveer 1/3 deel van het genoom getranscribeerd.

Ongeveer de helft van het humane genoom bestaat uit hoog repetitief DNA (veel hetzelfde) afkomstig van transposons (stukje DNA dat voor zichzelf begonnen is, kan zichzelf vermenigvuldigen). Deze elementen hebben hun transposon activiteit vrijwel geheel verloren, maar goed ook anders waren ze een gevaar voor het ontwikkelen van kanker. Oorspronkelijk werd het junk DNA genoemd omdat het niet kenbaar is wat het doet. Totaal maken ze ongeveer 50% van het totale genoom uit.

Er is een grootschalige vergelijking tussen de genomen van mens en muis. Alleen zijn de stukjes DNA gehusseld in de chromosomen alleen x-chromosoom is gelijk.

Per 1000 basen is er 1 verschil tussen mensen, dat wil zeggen dat er 3 miljoen verschillende basen zitten tussen mensen.

Hoe gelijk zijn we aan onze naasten verwanten:

1/100 basenparen is verschillend we van de chimpansee.

Het nut van het kennen van het humane genoom:

Identificeren of kloneren van ziektegenen (met name bij het ontstaan van kanker, bijvoorbeeld BRCA2)

Identificeren van nieuwe genen die nauw verwant zijn aan bekende drug targets. Dit biedt de mogelijkheid om nieuwe farmacologische stoffen te ontwikkelen, en oude te verbeteren. Het vinden van mutaties die overgevoeligheid voor medicatie veroorzaken. Hierdoor kan de dosis worden aangepast en het risico van bijwerkingen aanzienlijk worden teruggebracht.

Genomics

Kanker is een ziekte van het DNA.

DNA → mRNA → eiwit

Het fenotype van een cel wordt bepaald door de expressie van genen door die cel. Dit geldt ook voor kankercellen: type kanker, goede of slechte prognose, resistentie tegen chemotherapie.

Om alle eigenschappen van een cel te karakteriseren, zou je de expressie van alle genen moeten bepalen. Met de klassieke benadering, bijvoorbeeld RNA blotting is dit een onmogelijke opgave. Maar nu zijn er cDNA micro arrays. Hierbij wordt uit de te onderzoeken cellen RNA geïsoleerd; het mRNA wordt gelabeld. Uit controle cellen wordt RNA geïsoleerd; dit mRNA wordt fluorescerend gekleurd met een andere kleur. De verschillende gelabelde mRNA worden gemengd, en dit wordt op een micro-array (microscopieglasjes met tot 23000 cDNA genen) gedaan. De cDNA genen kunnen nu gaan hybridiseren met gelabeld RNA. Als die rood zijn en de RNA van een controle cel groen, kan men door de kleur van het afzonderlijke cDNA-gen zien of die in de onderzochte cel meer of minder tot expressie komt (groen duidt op minder en rood duidt op meer expressie in de kankercel; geel duidt aan dat er geen verschillen zijn in expressie van dat gen).

Wat gaan we nu verder doen: Micro-array analyse → bio-informatica (data verwerken en interpreteren) → validering micro-array data (Westerns/Northern blot) → genen en moleculaire processen (functionele analyse van eiwitten, verbeterde diagnose en prognose, verbeterde individuele behandeling).

Toepassingen genomics:

Bij bijvoorbeeld borstkanker betekent dit minder overbehandeling: nu wordt 90% nabehandeld na operatie met chemo of hormonale therapie, terwijl de meeste patiënten helemaal geen metastasen ontwikkelt. Door genexpressieprofielen kan men de kans bepalen op het krijgen van metastasen. Hiervoor wordt een complex van 70 genen gebruikt, die een voorspellende waarde blijkt te geven over het verloop van de ziekte. Deze genen hebben te maken met cel cyclus regulering, invasie en signaal transductie.

Ook bij diffuus grootcellig lymfoom kan op die manier een vrij betrouwbare prognosebepaling gedaan worden, waarbij de patiënten in twee groepen worden verdeeld met een gunstige dan wel ongunstige prognose.

Hoorcollege 2: Proteomics, metabolomics, miRNA's en RNAi screens

Waarom zou je naar eiwitten willen kijken? Datgene wat belangrijk is in de cel is de hoeveelheid actief eiwit. Maar er zijn allerlei regulatie processen tussen mRNA en eiwit en die verschillen, zo kan bijvoorbeeld de activiteit van een eiwit verschillen. Dus als je weet hoeveel mRNA er is zegt dit niet over hoeveel eiwit er is. Dit wil de proteomics oplossen. Proteomics is de bepaling van de hoeveelheid actief eiwit: dit is een betere maat voor de genexpressie dan mRNA. Dit gebeurt door eiwit identificatie, modificatie en interactie.

De hoeveelheid eiwit is een betere maat voor genexpressie dan mRNA.

Kun je een expressieprofiel ook van eiwitten bepalen? Nog niet zo snel en gemakkelijk, maar nieuwe en verbeterde technieken zijn veelbelovend. Bijvoorbeeld eiwit-identificatie, -modificatie en -interactie mapping.

Eiwitten kunnen worden geïdentificeerd met behulp van massa spectrometrie. Eerst is een fractionering van eiwitten nodig. Dit kan bijvoorbeeld met gelelektroforese, immunoprecipitatie of chromatografie.

2D-gelelektroforese sorteert eiwitten niet alleen op grootte, maar ook op pH. Als men meerdere eiwitten moet onderscheiden is dat handiger, maar nog altijd niet heel accuraat. Daarom is er ook eiwit identificatie in massa spectrometrie. Dat bestaat uit een aantal stappen:

- Trypsine (uit darmen, knipt andere eiwitten in stukken, knipt altijd voor Arginine (R) en Lysine (K)) digestie: het opbreken van het eiwit op bepaalde plaatsen.
- Analyse met massa spectrometrie: Nadat de sample wordt beschoten met een laser, gaat het eiwit over in een gas fase en krijgt een positief lading. Hierdoor zal het

richting de negatief geladen plaat vliegen. Waarbij geldt: hoe kleiner het fragment, hoe eerder die aankomt: de tijd die het fragment er over doet is dus evenredig met de grootte.

- Data vergelijking. Aan de hand van database menselijk genoom, waar alle mogelijke eiwitten in zitten, alle mogelijke tryptische fragmenten kunnen worden berekend en de molecuulmassa's van wat berekend is kan worden vergeleken met de massa's die uit de spectrometer kwamen.
= Identificatie van het eiwit.

Massa spectrometrie kan:

- Eiwit indentificeren
- Eiwit kwantificeren
- Bindende eiwitten indentificeren
- Eiwitmodificaties indentificeren (fosforylering, acetylering, methylering et.c)

Voor het bekijken van eiwitinteracties kan men een lysaat van de cellen maken en het eiwit of eiwit DNA complex waarin je geïnteresseerd bent, vervolgens kun je alle eiwitten die interactie hebben op dezelfde manier analyseren.

Door alle interacties in een figuur te zetten, kunnen we meer te weten komen over de complexe regulatiecircuit in cellen. Dit kan dan weer gebruikt worden om genexpressie profielen te begrijpen.

Bij fosforylering van een eiwit kan er telkens gekeken worden of er het gewicht van een fosfaatgroep boven op de massa is gekomen.

Metabolomics is de analyse van metabolieten bijvoorbeeld in het bloed (vaak ook biomarkers genoemd). Misschien dat dit een marker kan zijn voor de aanwezigheid van een tumor.

Stappen:

1. Sample preparatie: eventueel zuiveringsstap
2. Massa spectrometrie
3. Identificatie met behulp van computer
4. Herkennen van patroon
5. Wat is de biomarker? Biomarker is een willekeurig stofje/eiwit/mRNA wat we kunnen gebruiken als identificatie van een patiënt die iets heeft (voorbeeld PSA is prostaatkanker biomarker).

mRNA

mRNA is niet altijd een voorspellende waarde voor de hoeveelheid eiwit. Er is namelijk regulatie van translatie, eiwitstabiliteit en eiwitmodificatie.

Regulatie van translatie gebeurt grotendeels door microRNA (miRNA, 20 nucleotide lagn, kan hibrydiseren met bepaald(e) mRNA). miRNA wordt geproduceerd in het DNA, waarna het wordt geknipt tot pre-miRNA door Drosha. Daarna vindt transport plaats naar het cytoplasma, waarna Dicer het verder knipt tot miRNA. Dan wordt het ingebouwd in het RISC complex, waarna het hybridiseert met een bepaalde sequentie in mRNA (3' UTR). miRNA zorgt voor specificiteit, eiwitcomponenten zorgen voor repressie van translatie of mRNA afbraak.

MicroRNA's zijn zeer belangrijk voor kanker.

MicroRNA microarrays kunnen de expressie van honderden miRNAs tegelijkertijd bepalen. Dit kan net als bij mRNA expressieprofielen geanalyseerd worden. Dit geeft een goede diagnostische en prognostische waarde. Combinatie met mRNA microarrays/sequencing, proteomics en metabolomics geeft zeer veel informatie. Eigenlijk zou je dus alle technieken toe willen passen in de kliniek. Maar alle technieken zijn duur, dus uiteindelijk zal voor een relatief goedkope combinatie gekozen worden, nog niet duidelijk welke dat zal worden

Gebruik van korte RNAs in het onderzoek:

Trigger ds RNA → Dicer protein knipt het in kleine stukjes → siRNA's, RISC eiwit complex kan het inbouwen.

Hoe kunnen we ingrijpen in de groei van kankercellen?

Geen mRNA = geen eiwit. SiRNAs zorgen voor mRNA afbraak. RNA interferentie kan voorkomen dat eiwitten die essentieel zijn voor de groei van kankercellen tot expressie komen. Nadelen van RNAi zijn dat werkingsmechanisme nog maar gedeeltelijk bekend zijn, het kan in principe alleen gebruikt worden om expressie te remmen en we weten nog niet hoe we het siRNA in de gewenste cellen moeten inbrengen.

Voordelen: heel eenvoudig toe te passen op elk willekeurig gen waar je de sequentie van weet. Het is zeer specifiek, door het mRNA op verschillende plekken met siRNAs aan te pakken, zal resistentie niet gemakkelijk ontstaan en het is zeer geschikt voor hoge doorvoer analyses.

Naast het remmen van mRNA om expressie van eiwit te remmen, kan er ook getracht worden om het eiwit direct te remmen. Dit wordt toegepast in het geval van CML (Philadelphia chromosoom) aandoening waarbij er translocatie is opgetreden tussen chromosoom 9/22. Imatinib is een medicatie die direct de fusie-eiwit bcr-abl remt door in de active site te binden. Voordelen: goedkoop, werkt beduidend goed in de beginfase van de behandeling. De nadelen: specificiteit van de dergelijke remmers vaak minimaal, doordat het meestal voor een klasse eiwitten werkt en niet voor 1 bepaald eiwit. Andere nadelen zijn dat er makkelijk resistentie kan ontstaan en ook dat er geen geschikte remmer gevonden kan worden.

Conclusies:

Massa spectrometrie kan eiwitten identificeren en kwantificeren. Eiwitmodificaties kunnen worden geïdentificeerd. Micro-RNAs en siRNAs reguleren genexpressie. Gegeven van genomics, proteomics, metabolomics en micro-RNA expressiepatronen worden gebruikt om inzicht in ziekteprocessen te verkrijgen; hiervoor is bio-informatica voor nodig.

Hoorcollege 3: Bioinformatica

Waarom wil je genetische afwijkingen in AML identificeren?

Alle AML patiënten zijn morfologisch vergelijkbaar: genetisch kunnen er echter drie groepen worden gemaakt: gunstig (inv 16, t(15;17), t(8;21), standaard (onbekend, meeste geen chromosoom afwijkingen maar echt in genen kijken) en ongunstig (monosomie 7).

Identificatie van de genetische afwijking betekent een meer specifieke behandeling, maar ook verbeterde diagnostiek en prognosebepaling. Bioinformatica verwerkt dergelijke informatie.

Genexpressie profiel:

Je kunt RNA uit AML patiënt isoleren en dat kun je labelen en hybridiseren op een chip en omdat daar een fluorochrome op zit kun je spotjes zien. Een licht spotje betekent dat gen aanstaat, zwart betekent uit.

Bioinformatica is het gebruik van computergebaseerde technieken om uit de life sciences afkomstige gegevens te verwerken. Het verwerken betekent hier: verkrijgen, opslaan, toegankelijk maken, bewerken, analyseren en visualiseren.

Waarom bioinformatica?

Een microarray kan meer dan 5 miljoen meetpunten bevatten. Een experiment kan uit honderden microarrays bestaan. Er zijn meer dan 20000 bekende menselijke genen, die totaal uit meer dan 2000000 exonen bestaan. Voor een mens zijn dit onhandelbaar grote hoeveelheden gegevens, maar niet voor een computer.

Een belangrijke ontwikkeling is de correlatie coëfficiënt analyse: hierbij wordt bij een groep patiënten de expressie van genen vergeleken. Op die manier kan men clusters van patiënten vormen, die grotendeels overeen komen. Dit zijn er 16 bij AML. Een expressieprofiel groep (= cluster) zijn bijvoorbeeld alle patiënten die Inv (16) of t(15;17) hebben, op het eerste gezicht had een deel van het cluster deze afwijking niet maar bij verder en beter onderzoek bleken de patiënten in de cluster toch de afwijking hebben. Maar niet voor alle clusters zijn cytogenetische afwijkingen bekend dus men ging beredeneren dat de mensen in dat cluster wel dezelfde afwijking zullen hebben. Er wordt op dit moment altijd gekeken naar in welke cluster een patiënt valt want dit bepaalt mede de prognose en ook de behandeling.

De toegevoegde waarde van genexpressie analyse is het herkennen van patiënten met een verborgen maar bekende translocatie op basis van het expressie profiel en het vinden van nieuwe, voorheen AML subgroepen.

Voorgaande analyse worden unsupervised analyse genoemd: we laten de gegevens het werk doen. Maar je hebt ook supervised analyse, dit is het vergelijken van de patiëntengroepen met andere gegevens, die er over hen bekend zijn. Op die manier hebben ze ook binnen clusters nog onderscheid kunnen maken.

In clusters nieuwe mutaties vinden?

Patiënten in cluster 4 hebben vaak een CEBPA mutatie (belangrijk ontwikkeling neutrofielen), maar er zijn ook patiënten die geen mutatie hebben, dit zijn patiënten die onderling wel precies hetzelfde expressie hebben en dat ze het CEBPA hebben uitgeschakeld. Wat blijkt in deze laatste groep dat de CEBPA gen is gemethyleerd. Dit is de verklaring waarom een patiënt zonder de mutatie maar met methylering toch hetzelfde genexpressie profiel heeft. Patiënten zonder CEBPA mutatie hebben een zeer slechte prognose, waardoor ze in aanmerking komen voor beenmergtransplantatie, terwijl CEBPA mutaties een goede prognose hebben en alleen chemotherapie nodig hebben.

Toegevoegde waarde van gen expressie analyse:

- Herkennen van patiënten met een verborgen maar bekende translocatie op basis van het gen expressie profiel
- Het vinden van nieuwe, voorheen onbekende AML subgroepen
- Herkenning van gen profiel: biologie van ziekte type. Verbeterde therapie?
- Waarde voor verbeterde diagnostiek en prognostiek

Hoorcollege 4: Het concept kankerstamcel

Kanker is niet zozeer probleem van proliferatie maar vooral een multistep genetisch proces (genetisch omdat kanker wordt veroorzaakt door mutaties in meerdere genen).

Huidige kanker theorie (genetisch): tumorcellen zijn heterogeen, maar de meeste cellen kunnen extreem prolifereren en zodoende nieuwe tumoren kunnen vormen.

Kankerstamcel theorie: tumorcellen zijn heterogeen en alleen de kankerstamcellen subset hebben de mogelijkheid om overdreven te prolifereren en zodoende nieuwe tumoren kunnen vormen.

De twee hierboven genoemde theorieën sluiten elkaar niet uit.

Cellen hebben een aantal manieren om te communiceren. Celcommunicatie via signaaltransductie, selectieve cel-celadhesie en celgeheugen. Een stamcel valt te definiëren als een cel die in staat is tot celvernieuwing en tegelijkertijd in staat is uit te differentiëren tot het benodigde weefsel. Een stamcel ondergaat asymmetrische delingen. Er zijn verschillende soorten stamcellen. Sneldelende stamcellen zorgen voor het voortbestaan van het weefsel. Langzaamdelende stamcellen zorgen voor de heropbouw nadat er schade is opgetreden.

Kankerstemcellen (csc) hebben in de tumor een andere functie dan andere cellen. Ondanks dat de theorie achter csc niet is bewezen zijn er wel sterke aanwijzingen voor: er moeten bijvoorbeeld minstens 100.000, maar liever 1.000.000 tumorcellen worden inbracht voordat de tumor in een ander lichaam (immuundeficiënte) gaat groeien. Als men echter stamcellen isoleert, heeft men maar 100 cellen nodig om een tumor te laten groeien: er moet dus een csc aanwezig zijn in de populatie (net als bij normale processen, zoals hematopoïese). In een tumor zijn de stamcel en gedifferentieerde cel echter niet in evenwicht: een stamcel kan symmetrisch delen (self renewal) en asymmetrisch (differentiatie). In dit geval sterven er minder cellen, dan dat er bij komen. De kenmerken van een csc zijn dus: tumorinitierende capaciteit, pluripotentie en zelfvernieuwing.

De mogelijkheid van kankerstemcellen om zich te metastaseren zou kunnen ontstaan door mutaties.

Argumenten tegenstanders stamceltheorie kanker:

- Verandering aantal kankerstemcellen afhankelijk van omgeving
- Kankerstemcellen hoeven niet per se zeldzaam te zijn, vooral in slecht gedefinieerde tumoren
- Hoe cel-autonoom (niet afhankelijk van omgeving) zijn stamcellen

Mutatie kankerstemcel zorgt ervoor dat deling groter is dan apoptose, maar de normale hiërarchische structuur van een stamcel blijft gelijk.

Darmkanker:

Stamcellen in de lower crypta veelvuldige vernieuwing → specialisering → aan de top van de villous apoptose.

In het colon speelt de Wnt/ β catenine signaal transductie een grote rol. Als er geen signaal komt, wordt β catenine door een destructiecomplex met APC afgebroken. Bij een signaal door Wnt wordt dat destructiecomplex met APC niet opgebouwd en bindt β catenine aan target genen.

Van alle mensen met coloncarcinoom heeft 85% een APC mutatie en 5% een β catenine mutatie.

3 criteria kankerstemcellen:

- Ze moeten tumor initiërende capaciteit hebben wanneer ze worden geïnjecteerd in een immuun incompetent muis
- In verband met pluripotentie moeten kankerstemcellen allerlei cellen kunnen worden en dus ook allerlei tumoren veroorzaken
- Cellen moeten celvernieuwingscapaciteit hebben, dus je moet kunnen blijven doorgeven van tumor

Kankerstemcel theorie gebruiken in kliniek (behandeling):

Tumoren zou je echt kunnen genezen door kankerstemcellen te doden ('benzine' uit tumor halen). Maar dit klopt alleen in theorie want kankerstemcellen zijn resistent tegen chemo- en radiotherapie, dit komt door intracellulaire pompen, DNA reparatie en resistente tegen DNA schade geïnduceerd door apoptose.

Csc hebben resistentie tegen veel therapieën door interleukine 4. Aspirine (een NSAID) remt interleukine 4 en daardoor ook de kans op darmkanker. Verder remt aspirine de Wnt/ β catenine transductie pathway en het remt kankerstemcellen. Misschien kan combinatie van chemotherapie met aspirine worden toegepast. Uit onderzoek lijkt het beter te zijn.

Definitie.

Bij het inbrengen in proefdieren van kanker met bijvoorbeeld het antilichaam CD133+, krijg je bij 100 cellen al een tumor. Deze kankerstemcellen hebben de volgende eigenschappen:

1. Tumorinducerende capaciteiten
2. Pluripotent
3. Zelfvernieuwing.

Klinische consequentie

Het idee is simpel:

Als er 1 stemcel achterblijft is er vroeg of laat sprake van een relapse. Als medicijnen die kunnen aantasten heb je een manier om te genezen. Kankerstemcellen zijn immuun tegen allerlei invloeden van buitenaf als gevolg van intracellulaire pompen, DNA repair, resistent tegen apoptose, reactive oxygen species (ook immuun tegen bestraling). Ook kunnen ze slapend zijn, zoals traagdelende normale stemcellen: dit is op zich een mechanisme van resistentie. Chemo werkt specifiek op sneldelende cellen.

Kankerstemcellen hebben dus trage en snelle stemcellen. Er zijn voorbeelden van mensen die twintig jaar later terugkomen met een metastase. Klassieke cytostatica met medicijnen tegen kankerstemcellen: dat werkt, dan kun je genezen.

Hoorcollege 5: Circadiane klok en het ontstaan van kanker

De circadiane klok is je interne klok. Deze drijft niet alleen slaap waakcyclus aan, maar een groot deel van alle processen in je lichaam. Muizen hebben een circadiane dag van ongeveer 23 1/2 uur. Een aardse dag is 24 uur. Licht zorgt dat de klok keurig in fase blijft. Dit heet photoentrainment. Fotoreceptoren zitten in de retina. Staafjes en kegeltjes produceren opsines. Een subset ganglioncellen produceert melanopsine. Mis je een van de systemen, dan kan de andere het opvangen. De klok zit in onze hersenen. In het onderste deel zit een vierkantje met 20000 zenuwcellen, de suprachiasmatische nuclei.

Hier worden homologen van een fotolyase gegenereerd, er zijn twee genen die sterk op elkaar lijken: Cryptochromen. Cry1 zorgt voor langere klok, Cry2 zorgt voor kortere.

Er kunnen proefdieren maken die zo genetisch gemodificeerd zijn, dat ze geen biologische klok hebben.. Hoe werkt dat?

De twee eiwitten van CLOCK en BMAL1 hebben hier iets mee te maken. Wanneer gevormd gaan CRY en PER terug naar de kern en remmen Clock en BMAL1. CRY en PER genen gaan als complex terug en remmen Clock en BMAL1. De daarnaast lopende positieve loop is niet essentieel maar stabiliserend. De genen komen ritmisch tot expressie. Omlooptijd kan je laten variëren door te spelen met posttranslationele modificatie van clockeiwitten.

Er wordt heel wat bepaald door genetische verschillen: het maakt het verschil tussen een ochtendmuis en een avondmuis. Je hebt niets aan biologische klok als het niet gekoppeld is aan alle processen. Dit kan door de eerder besproken Ebox genen (clock gecontroleerde genen). Koppelen de circadiane oscillator aan gedrag etc.

De centrale klok bevindt zich in neuronen van de SCN. Perifere klokken zitten in meeste andere cellen en weefsels. Overige cellen en weefsels hebben ook clockgenen. Die worden iedere dag gelijkgezet door stimuli uit SCN (bijv hormonen). In kweek desynchroniseren ze.

10% van alle actieve genen staat onder circadiane controle. Ze hebben dus piekactiviteit op verschillende momenten van de dag. Het gedrag van de fysiologie en het metabolisme worden gecontroleerd door de circadiane klok.

Hoe pas je dit nu toe?

Het chemotherapeutikum cyclofosfamide werkt als volgt:

Cyclofosfamide -> actieve vorm -> dwarsverbindingen -> celdood.

De lever reageert anders op cyclofosfamide in de avonduren. Veel minder genen reageren bij nacht. Nog geen tiende van het aantal genen. Slechts een klein aantal genen reageert beide keren. Het chemotherapeutikum wordt tijdens de actieve periode veel minder getolereerd.

Chronotoxiciteit: moment mede bepalend voor de reactie van organismen op blootstelling. Cosmetische industrie doet dierproeven overdag, op nachtdieren. Een alternatief zou zijn cellen eerst synchroniseren en dan blootstellen. Je krijgt nu chronotoxische informatie. Er zijn op dit gebied allerlei invloeden op het dagelijks leven denkbaar: het verbeteren arbeidsomstandigheden en chronotherapie.

Cellen delen op een vast moment, repliceren op een vast moment, etc.

CDC2 en Cycline B1 reguleren de mitose. Deze wordt geremd door WEE1, WEE1 staat onder controle van de biologische klok. In een tumor verloopt de celcyclus niet meer synchroon. Dit is te bereiken op twee manieren: de klok is ontkoppeld, of is nog gekoppeld, maar asynchroon. Binnen Nederland is het EMC de eerste instelling die de mogelijkheden hiervan verder gaat onderzoeken

Hoorcollege 6: Translationeel onderzoek voor prostaat- en blaascarcinoom

PSA: prostaat specifiek antigeen, komt vrij in bloed bij prostaatkarcinoom. Indien PSA verhoogd is wordt er een biopsie genomen.

De prostaat bestaat uit buisjes en produceert prostaatvloeistof. Epitheelcellen in de prostaat veroorzaken kanker. Kanker is genetische schade met vervolgens selectie van de best en snelst groeiende cel (die eventueel ook niet overlijdt door therapie). De therapie zaait meestal uit naar de lymfeklieren en de botten. Als het gemetastaseerd is wordt de tumor niet meer verwijderd. Als er bij metastasen klachten optreden wordt er gebruik gemaakt van radiotherapie of hormoontherapie (evt. weghalen). In het geval van prostaatkanker is dit met behulp van testosteron, dit bindt aan de androgeenreceptor. Bij de hormoontherapie wordt testosteron weggenomen, zodat de androgeencascade geremd wordt.

Voorbeeld verloop:

- Diagnose, PSA verdwijnt
- PSA stijgt weer dus recidief, onderdrukken met hormoontherapie. Het werkt goed bij 70-80% van de patiënten gedurende 2-3 jaar.
- Na enkele jaren metastasen en eigenlijk geen therapie meer.

Verloop van een prostaattumor tot het overlijden duurt gemiddeld 15 jaar.

Kanker is een ziekte van het DNA, dit geldt ook voor prostaatkanker. Eerst tredt genetische schade op, daarna ontstaan bijvoorbeeld bij proliferatie additionele mutaties welke kunnen zorgen voor doorgroei, ingroei en/of metastase (Naar lymfeklieren en bot, vervolgens in end stage naar alle organen).

Modellen

- In vivo

Het TRAMP model is een model met gemanipuleerde transgene muizen (deze krijgen dus een extra gen in elke cel). Hierbij wordt het SV40-T oncogen tot expressie gebracht in

prostaat epitheliale cellen. Dit is een reproduceerbaar en manipuleerbare proef en derhalve zeer geschikt bij onderzoek. Alleen naar de oorzaak kan geen onderzoek worden gedaan, omdat die geïnduceerd is. Er zijn ook proefdieren waarbij endogeen kanker wordt ingebracht: xenografts: subcutaan (onder de huid) of orthotoop (in prostaat). Dit gebeurt bij muizen waarin het afweersysteem plat is gelegd.

Test vragen:

- 1) Hormoon therapie voor prostaatkanker wordt toegepast:
Als palliatieve therapie
- 2) Het uiteindelijke doel van hormoontherapie voor prostaatkanker is:
Het remmen van de androgeenreceptor cascade
- 3) Het percentage van patiënten die positief reageren op hormoontherapie:
70-80%
- 4) Een transgenen muis met een tumor heeft:
 - a. Een tumor van niet-muis origine
 - b. *Een extra gen in elke cel van zijn lichaam*
 - c. Een deel van zijn DNA verwijderd
 - d. Expressie van een transgen in de tumorHet juiste antwoord is B, D is niet juist want in het begin staat oncogen aan maar als de tumor gevormd is dan wordt het gen uitgezet.
- 5) Waar metastaseert prostaatcarcinoom naartoe?
Eerst naar bot en lymfeklieren, vervolgens naar elke orgaan.

- In vitro

- Orgaan cultures
- Primaire cel cultures: kweekbakjes met medium onder de ideale omstandigheden bewaard – deze stoppen na een aantal delingen met groeien.
- Geïmmortaliseerde cellen uit weefsel en kanker: deze cellijnen kunnen oneindig doorgroeien.
- Cel-vrije modellen: in vitro transcriptie translatie systemen en gezuiverde eiwitten
- Computer modellen dit zijn voorspellende modellen voor ontwerpen van medicijnen, het zijn modellen die gedrag van eiwitten of kankercellen voorspellen

Hoe kan na hormoontherapie toch weer opnieuw kanker ontstaan?

De hypothalamus levert LHRH aan de hypofyse, die daardoor LH toelaat in het bloed. In de testes levert dat productie van DHT/testosteron, dat op de androgeenreceptor bindt en zo primaire target genen aanzet, die door de androgeenreceptor gebonden en gereguleerd worden. Deze kunnen op hun beurt eventueel wil secundaire targetgenen aanzetten. In de prostaat zal er als reactie prostaatvocht worden geproduceerd inclusief PSA wat ook leidt tot groei.

Maar hoe kan het nu dat de groei onafhankelijk kan worden? Door amplificatie van androgeenreceptoren. Of door onafhankelijkheid van pathway, tumorsuppressorgenen aanzetten en oncogenen uitzetten.

Testvragen:

- 6) Om een cellijn te genereren moet je:
Primaire cellen immortaliseren
- 7) De androgeenreceptor wordt gesynthetiseerd door:
Cellen die op mannelijke geslachtshormonen moeten reageren.
- 8) Een primair androgeen receptor target gen wordt gedefinieerd als:
Een gen dat door de androgeen receptor wordt gebonden en gereguleerd

Als men in vitro de androgeenafhankelijke cellijn langdurig laat kweken zonder androgenen, ontstaat er na verloop van tijd een androgeen onafhankelijke cellijn. Met micro-array is uitgezocht dat er heel wat genen zijn veranderd in de loop der tijd, waaronder genen voor groeifactorreceptoren, kinases en androgeenreceptoren, die alle drie omhoog gereguleerd zijn om niet afhankelijk te zijn van androgenen. De androgeenreceptor cascade blijft echter een target voor therapie, want ook deze receptor is veelvuldig toegenomen.

In de kliniek leverde dit soort onderzoek:

- Herceptin: blokkerende antilichamen tegen receptor
- Tyrokinase remmers
- RAS antisense
- Proteïne kinase C remmers

Testvragen:

- 9) Als een patiënt niet meer op hormoontherapie reageert dan:
Blijft de AR-cascade een mogelijke target voor therapie
- 10) Het materiaal uit kanker dat gebruikt wordt om een cDNA microarray analyse te doen is: RNA

Hoorcollege 7: Van laboratoriumonderzoek naar Medicijn

Farmacologie: werking van signaalstoffen (hormonen, neurotransmitters) en geneesmiddel; (cel)biologie.

Farmacie: vervaardiging van geneesmiddelen; (bio)chemie

Agonist/ antagonist: stof die een receptor stimuleert/ remt

Inhibitor: stof die een enzym remt.

Moderne natuurwetenschappelijke disciplines:

- Medische biologie
- Chemische industrie
- Organische chemie, wetenschap die bestudeert hoe organische moleculen in elkaar zitten en hoe je die kunt modificeren en hoe de eigenschappen daardoor veranderen.

Een signaalstof heeft een bindingsplaats waarvoor het specificiteit en affiniteit vertoont.

Specificiteit is de voorkeur om daar te binden (draagt bij aan mate van bijwerkingen).

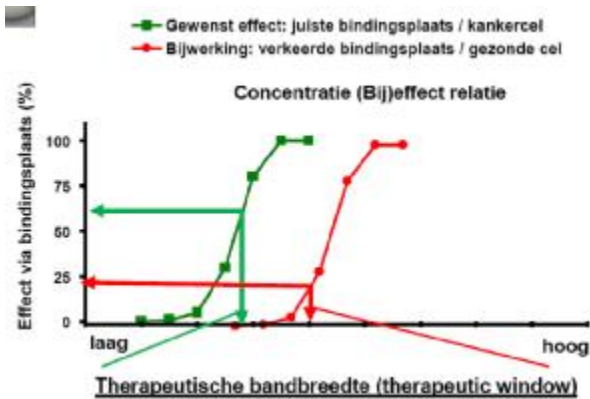
Affiniteit is de sterkte van deze binding.

Farmacologische stoffen kunnen binden aan verschillende onderdelen van het lichaam:

- Receptoren bijvoorbeeld hormonen (medroxyprogesteron), tyrosine kinase receptor antagonist (sunitinib)
- Enzymen bijvoorbeeld topo-isomerase remmers, Bcr-Abl kinase inhibitor (=Imatinib)
- Ionkanalen
- Transporter eiwitten
- Cytoskelet bijvoorbeeld paclitaxel (taxol)
- DNA/RNA bijvoorbeeld DNA: cisplatine

Geneesmiddelen binden zelden tot nooit aan 1 bindingsplaats. Een geneesmiddel grijpt dus ook aan op gezonde weefsels: daardoor ontstaat toxiciteit (bijwerkingen → specificiteit belangrijk).

Voorbeeld bijwerking: Remming VEGFR receptor zorgt ervoor dat tumorgroei daalt doordat bloedvoorziening wordt geremd maar daarnaast wordt ook vasodilatatie geremd waardoor hypertensie kan ontstaan.



De therapeutische bandbreedte geeft het verschil in concentratie aan tussen werkzaamheid op de pathologie en bijwerkingen: hoe groter de therapeutische breedte, hoe minder de kans op bijwerkingen bij een therapeutische dosis.

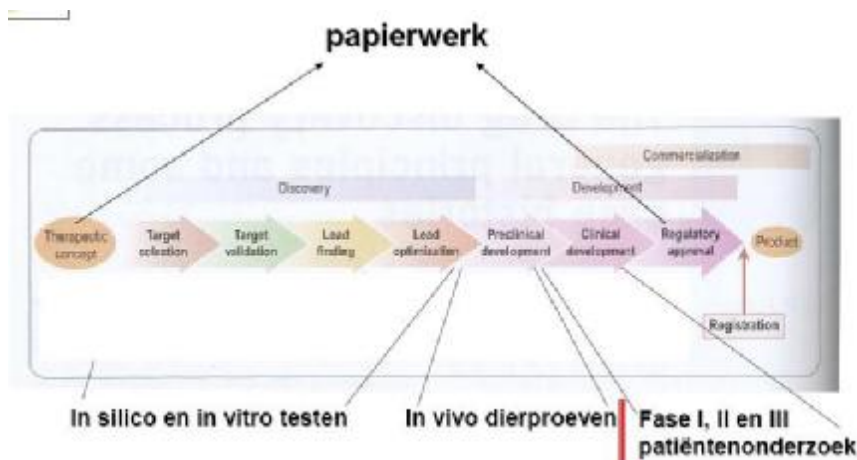
Farmacodynamiek

Farmacokinetiek: bekijkt de opname en verwerking door het lichaam

In het lichaam gebeuren met de farmaca vier grote dingen:

- Absorptie: door cellen/celmembranen (bepaalt of medicijn oraal of intraveneus moet worden toegediend)
- Distributie: penetratie in weefsel
- Metabolisme: afbraak door enzymen (CYP)
- Eliminatie: uitscheiding door nier (of long, darm, zweet)

Essentie van een goed geneesmiddel: een effectief werkende stof waarvoor een dosering mogelijk is die de plasma- en of weefselconcentratie binnen de therapeutische bandbreedte houdt. Met andere woorden middel met de juiste farmacodynamische en farmacokinetische eigenschappen.



De herkomst van een geneesmiddel kan zijn uit natuurlijke materialen; door modificatie van een bestaand geneesmiddel; surendipity (toeval zoals bij penicilline) of door een rationeel ontwerp.

De zoektocht naar een stof met de juiste farmacologische/farmacokinetische eigenschappen duurt gemiddeld 15 jaar. Het bestaat uit vele fasen, onder te verdelen in:

- Concept
- In silico en in vitro testen
- In vivo dierproeven (preklinische ontwikkeling) voor farmacokinetische en farmacodynamische informatie, die niet in vitro te verkrijgen is.
- Fase I,II,III onderzoek

Hoorcollege 8: Evidence Based Medicine

Punctie van een metastasen alleen zinvol wanneer curatie mogelijk zou zijn.

Academische functie binnen de oncologie is een ontwikkelfunctie. Nieuwe ontwikkelingen initiëren en volgen. Onderzoek met nieuwe compounds tegen kanker(cellen) gericht. Dit leidt tot verwijzingen van elders voor specifieke vragen om verdere (studie)behandelingen.

We spreken nu, nu vast te stellen dat er geen standaard behandelingen meer zijn, met de patiënt over experimentele systemische therapie. Nee heb je, de kans op ja is heel klein. We bieden weinig maar vragen veel. De eigen motivatie van de patiënt is dan ook essentieel.

Karnofsky Performance Status is belangrijk voor de afweging of er een experimenteel middel kan worden gegeven aan een patiënt. De grens ligt rond de 60.

Studiefasen:

- Fase I studies = exploreren, dosering bepalen; toxiciteit; veiligheid
- Fase II studies = leren, leidt het ergens toe; voordeel; werkzaam; verbetering (vermindering, gelijk blijven ziekten, vermindering klachten)
- Fase III = bevestigen; vergelijken met andere middelen; toegevoegde waarde

Neurenberg code (1947):

De vrijwillige keus van de patiënt is absoluut essentieel = informed consent

Fase III studies:

Vergelijken standaard of care met een nieuwe behandeling. Iets erbij (dosering, een extra stofje, een andere toedieningsvorm) of iets nieuws (A vs B). Wordt gedaan bij grote aantalen patiënten met 1 ziekte. Altijd gerandomiseerd, meestal (dubbel) blind. Overleving (OS) vrijwel altijd als primair eindpunt, maar moeilijk te bereiken en daarom ook gekeken naar ziekte- of progressievrije overleving (DFS, PFS). Kwaliteit van leven, response rate en kosten bekijken. Dit zet vaak een nieuwe standaard of care bij positief resultaat.

Laserpoint statistics: geen verbetering

Fase II studies:

Kijken of een nieuw middel (combinatie) een antitumorwerking heeft. In vaste doseringen bij kleinere aantallen patiënten met 1 ziekte. Bij voorkeur gerandomiseerd. Antitumor response (CR, PR, SD, PD) als primair eindpunt. Te kleine studies voor beoordeling overleving (OS). Met enige tijd wel ziekte- of progressievrije overleving (DFS, PFS). Kan leidraad vormen voor fase III studies bij positief resultaat.

Fase I studies:

Klinisch geneesmiddel onderzoek; zeer streng gereguleerd en geprotocolleerd. Eerste toepassing van een beloftevolle compound bij mensen. Alleen aan patiënten te geven voor wie geen standaardbehandeling (meer) beschikbaar is; de ziekte speelt geen rol. De pathways spelen in de toekomst wellicht steeds meer. Dose finding; heel voorzichtig beginnen, steeds dosering wat ophogen. Veel toevoegende wetenschap, toxiciteit, PK, PD. Welke dosis gaan we verder bestuderen in fase II/III studies?

- Farmacokinetiek: wat doet het lichaam met het medicijn. Hoeveel medicijn komt er (systemisch) in je lichaam. Waar gaat het zitten (moet het daar ook zijn)? Hoe verdwijnt het weer? Hoeveel heb je nodig (om actief te zijn)?

Farmacodynamiek: wat doet het medicijn met het lichaam en de tumor? Toxiciteit, effectiviteit? Doet de stof wat ze zeggen dat deze doet? Meting biologische activiteit

Werken bij JoHo - De ideale studentenbijbanen!

Student-managers (vanaf 10 uur per week)

Als student-manager ben je in één van de JoHo support centers samen met één of twee collega's verantwoordelijk voor het gehele traject rondom het uitgeven van samenvattingen. Een zeer veelzijdige functie waarbij je in 1,5 jaar met alle aspecten van de bedrijfsvoering te maken krijgt.

Profiel:

- Enthousiaste student, binnen de relevante studies
- Zelfstandig en in teamverband kunnen werken
- Geen moeite hebben met zo nu en dan leiding geven en aansturen
- Organisatorische vaardigheden
- Commercieel inzicht

Student-auteurs

Voor het maken van de boekuittreksels en samenvattingen, maken wij gebruik van ervaren auteurs, voornamelijk Masterstudenten en/of (pas-)afgestudeerden. De hulp van studenten die het vak volgen is echter hard nodig om ons aanbod perfect te laten aansluiten op de wensen van de student!

Dus:

1. Heb jij aanleg om netjes en overzichtelijk te schrijven en wil je deze vaardigheden verder ontwikkelen? Vind je deadlines geen probleem en vind je het prettig om in je eigen tempo daar naartoe te werken? Word dan **student-auteur!** Als student-auteur help je JoHo met het verbeteren van de samenvattingen, door bijvoorbeeld bestaande samenvattingen te controleren op inhoud en spelling, het schrijven van aanvullende teksten en het maken van collegeaantekeningen.
2. Naast de verdiensten voor de gemaakte opdracht verbeter je ook je schrijfvaardigheden en krijg je gratis hulpguides om effectiever te studeren en beter je tentamens voor te bereiden.

Studie-coördinatoren (4 tot 8 uur per maand)

- Sta jij graag veel in contact met je medestudenten en ben jij van alles op de hoogte rondom je studie? Zoek je een bijbaan voor maar enkele uren in de maand, die perfect aansluit bij je werkzaamheden voor je studie? Word dan **studie-coördinator!** Als studie-coördinator help je JoHo met het verzamelen van alle relevante info voor jouw studie en zorg je ervoor dat je medestudenten weten wanneer de samenvattingen beschikbaar zijn. Tevens help je JoHo met het vinden van nieuwe auteurs en je medestudenten met een passende bijbaan.
- Naast de vaste verdiensten per maand, maak je gratis gebruik van een groot deel van de samenvattingen voor jouw studie

Interesse in een van bovenstaande functies? Stuur je motivatiebrief en CV naar: personeelszaken@joho.nl t.a.v de procescoördinator P&O (je hoeft de mail niet persoonlijk aan iemand te richten) Heb je nog vragen dan kan je iedere dinsdag tussen 12.00 en 17.00 uur via 088-3214567 contact opnemen met de Procescoördinator P&O.

Europass: Essentieel voor je internationale carrière

Wil je werken, studeren of stage lopen in het buitenland? Dan is het belangrijk dat je in het buitenland duidelijk maakt wat je weet en wat je kunt. Europass is een set gratis documenten in alle Europese talen, waarmee werknemers hun vaardigheden en talenten kunnen laten zien. De basis van Europass is het Europass CV, de Europese standaard, dat je naar wens kunt aanvullen met documenten over je taalvaardigheid, je werkervaring en je diploma's.



www.europass.nl

