



Vak

2.A.3

Samenvatting

Zelfstudieopdrachten en klinische Casussen

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.

Zelfstudieopdrachten

ZO 1: Nieuwe ontwikkelingen: genome profiling

De recente explosieve toename in kennis over het humane genoom heeft het mogelijk gemaakt om alle menselijke genen in kaart te brengen en te analyseren. Samen met vergaande automatisering, miniaturisering en de ontwikkeling van gevoelige en specifieke detectiemethoden kunnen er zeer gedetailleerde genoombrede analyses van weefselmonsters van individuele personen gemaakt worden. Deze methodes kunnen bijvoorbeeld gericht zijn op het detecteren van mutaties, het bepalen van genexpressie niveaus, het vinden van afwijkende karyotypes en het analyseren van eiwitten. Deze nieuwe ontwikkelingen in kankeronderzoek zullen een belangrijke bijdrage gaan leveren aan de diagnostiek en behandeling van kankerpatiënten.

Genexpressiepatronen hebben vele toepassingen:

- § Classificering van tumoren (genoom-brede genexpressiepatronen); bijvoorbeeld DLBCL.
- § Epidemiologisch onderzoek (zeer nauwkeurig meten van genexpressie); bijvoorbeeld het coloncarcinoma.

Classificatie met behulp van genexpressieprofielen

Diffuse grote B-cel lymfoom (diffuse large B-cell Lymphomas of DLBCL) is het meest voorkomende subtype van het non-Hodgkin lymphomen. De ziekte is klinisch heterogeen, bij 40% van de patiënten is er klinisch een goede respons op de huidige behandeling resulterend in verlengde overleving terwijl bij de overige 60% de therapie geen succes heeft en de patiënten snel overlijden. De oorzaken voor deze variabele respons zijn onbekend. Met de bestaande technieken om B-cel Lymphomen te classificeren is het niet mogelijk om een onderscheid te maken tussen beide groepen.

Het zou theoretisch wel mogelijk zijn dat er meerdere vormen van DLBCL bestaan, maar op dit moment is daar op moleculair en histologisch niveau geen enkele aanwijzing voor. De variabele respons op de therapie zal ergens anders vandaan kunnen komen; het kan bijvoorbeeld zo zijn dat de behandeling bij de ene groep patiënten in een ander stadium van de ziekte is gestart of dat er genetische verschillen zijn tussen de beide groepen patiënten.

Amerikaanse onderzoekers veronderstellen dat de twee groepen twee verschillende types DLBCL vertegenwoordigen, die gekenmerkt worden door verschillen op moleculair niveau. Daarbij moet je denken aan mutaties in verschillende genen, verschillende mutaties in dezelfde genen of dat ze zijn ontstaan uit B-cellen die zich op dat moment in een ander stadium bevonden.

De mutaties in specifieke genen zou je aan het licht kunnen brengen door het DNA uit het B-cel lymfoom te isoleren en het te analyseren met de Southern blotting of door de genen te amplificeren met PCR en de producten te sequencen. Als twee types DLBCL ontstaan uit B cellen in een verschillend stadium van differentiatie, kunnen ze zich van elkaar onderscheiden doordat ze nog steeds differentiatie stadiumspecifieke genen tot expressie brengen. Dit zou je kunnen aantonen met bijvoorbeeld Northern blotting, RT-PCR en Western blotting.

De onderzoekers redeneerden dat de expressie van genen bepaalt hoe een cel zich ontwikkelt, gedraagt en reageert op zijn omgeving. Ze verzamelde tumormateriaal van een groot aantal DLBCL patiënten en isoleerden hieruit RNA. Belangrijke parameters bij het bepalen van genexpressie zijn het uit of aan staan van een gen in de te onderzoeken cellen

en als het gen aan staat, op welk niveau het gen tot expressie komt. Om een compleet beeld te krijgen van genexpressie zou je de expressieniveaus van alle genen in het humane genoom moeten bepalen. In het humane genoom zitten naar ongeveer 22.000 eiwitcoderende genen.

Met de klassieke moleculair-biologische technieken kun je de expressie van één of een klein aantal genen tegelijkertijd bepalen. Dit is heel bruikbaar als je weet welke genen van belang zijn voor het type tumor dat je onderzoekt, maar het is zoeken naar een speld in een hooiberg als je geen idee hebt. Met behulp van DNA micro-array technologie is het mogelijk om in principe de expressie van alle genen tegelijkertijd te bepalen. Dergelijke analyses worden genoom-breed genoemd, omdat de activiteit van het hele genoom gemeten wordt. Het grote voordeel hier van is dat je van tevoren geen aannames hoeft te maken of de expressie van een gen wel of niet van belang is voor de onderzochte tumor, maar dat je een compleet overzicht krijgt van de expressie van alle genen. Hierdoor is het mogelijk om nieuwe genen te identificeren die informatief zijn.

De onderzoekers gebruikten bij hun experimenten DNA micro-arrays waarmee de expressie van ongeveer 15.000 verschillende genen tegelijkertijd bepaald kan worden. Onder deze 15 000 genen zullen zich waarschijnlijk een groot aantal weefselspecifieke genen bevinden. Het is daarom onwaarschijnlijk dat alle 15.000 genen in de onderzochte kweekselmonsters tot expressie komen. Deze 15 000 genen vertegenwoordigen ongeveer 68% van alle eiwit-coderende genen in het genoom. Het is daarom redelijk om te veronderstellen dat deze analyse een goede representatie van de activiteit van het hele genoom is.

Om het onderzoek naar DLBCL te kunnen doen werden 96 monsters met micro-array experimenten geanalyseerd. Als controle werden normale B-cellen in verschillende stadia van ontwikkeling en activering gebruikt. In totaal verkregen ze ongeveer 1.8 miljoen metingen van genexpressie. Om deze gegevens te standaardiseren werd elk experiment genormaliseerd door te vergelijken met RNA geïsoleerd uit een pool van negen lymfoma cel lijnen zodat ze direct onderling konden worden vergeleken.

Dergelijke experimenten leveren zulke hoeveelheden gegevens op dat die niet meer normaal geïnterpreteerd kunnen worden zonder gebruik te maken van bioinformatica. Met behulp van de computer kunnen de gegevens gesorteerd worden op bijvoorbeeld expressieniveau en cellulaire functie (celcyclus, apoptose, signaaltransductie, cytoskelet, celmembraan, transcriptie, etc.) waardoor er een beeld verkregen wordt van de genexpressieprofielen van de individuele monsters.

Niet elke meting aan elk gen levert een zinvol resultaat op. Redenen hiervoor zijn:

- § Niet alle genen op de array komen in de onderzochte monsters tot expressie, en de expressie van een individueel gen kan fluctueren van monster tot monster.
- § Verder zullen veel genen op hetzelfde niveau tot expressie komen als in de controle cellen; hiermee kun je tumorcellen niet van controle cellen onderscheiden.

Als resultaat van het onderzoek kwam naar voren dat er twee categorieën DLBCL bleken te zijn:

- § Tumorcellen met een genexpressieprofiel dat lijkt op de germinale Center B-cellen.
- § Tumorcellen met een genexpressieprofiel dat lijkt op geactiveerde B-cellen.

Er bleken niet één of twee genen te zijn die het verschil maakte, maar het ging om een groot scala van genen. Als je een genexpressieanalyse zou doen van één of een paar genen, zou je de subtypes dus niet kunnen onderscheiden. Er is namelijk niet één enkel gen dat volledig discrimineert tussen de twee subtypes. De kracht van micro-array technologie is dat je door te kijken naar de expressieprofielen van vele genen dit onderscheid wél kan maken.

Vervolgens is gekeken of er ook klinische verschillen waren tussen beide subtypes. Een klinische indicator voor de prognose van DLBCL patiënten, de International Prognostic Indicator (IPI), werd met succes gebruikt om patiënten met een laag klinisch risico te definiëren. Deze indicator maakt gebruik van onder andere de leeftijd van de patiënt en de lokalisatie en uitgebreidheid van de ziekte. Als je kijkt naar alle patiënten, blijkt het dat de patiënten met het activated B-cell type over het algemeen een minder goede prognose hadden dan de gene met het GC B-like type.

Gebruik van genexpressiemeting in epidemiologisch onderzoek

De onderzoeksgroep van Bert Vogelstein heeft het stappenmodel voor de progressie van darmtumoren ontwikkeld. Inactivering van tumorsuppressor genen, waaronder het APC gen, is onderdeel van dit model. Het APC gen wordt geïnactiveerd door loss of heterozygositeit. Indien het APC gen de erfelijke factor is in families met erfelijke darmtumoren verwacht je een inactiverende mutatie in één van beide allelen van het APC gen in dergelijke families.

Bij een familie met erfelijke darmtumoren zijn beide allelen van het APC gen ogenschijnlijk normaal. Omdat genetisch onderzoek toch wees in de richting van het APC gen, is men gaan kijken naar veranderingen in het expressieniveau van het APC gen in plaats van veranderingen in het eiwit zelf. Het bleek dat één van beide APC allelen lager tot expressie kwam dan normaal het geval is. Dit zou kunnen komen door mutaties in sequenties die de transcriptie reguleren. Het gen kan dan lager tot expressie komen, maar het eiwit is volledig normaal.

Deleties van het APC gen in de tumoren bleken vrijwel zonder uitzondering altijd op te treden in het APC allel dat op een normaal niveau tot expressie komt. Dit suggereert dat een cel die alleen het APC allel heeft dat lager tot expressie komt, onvoldoende APC eiwit maakt om alle APC functies goed uit te kunnen voeren. Onvoldoende APC functie is een belangrijke factor in Vogelstein's stappenmodel voor de progressie van darmtumoren.

De onderzoekers concludeerden dat relatief kleine veranderingen in expressie een grote invloed kunnen hebben op de kans om kanker te krijgen. Het is nu nog onduidelijk of dergelijke relatief kleine veranderingen ook in andere gevallen een grote invloed hebben op de kans om kanker te krijgen. Als aangetoond wordt dat dit inderdaad het geval is, zou het van het grootste belang zijn om dit als parameter mee te nemen in epidemiologische studies.

ZO 2: Pharmacogenetics in de praktijk

Er zijn individuele verschillen in effectiviteit en bijwerkingen van geneesmiddelen en het ontwikkelen van resistentie. Men zou de therapie beter kunnen aanpassen aan een patiënt als we de genetische factoren kenden, die deze persoonsgebonden gevoeligheid en eigenschappen bepalen. Invoering van deze nieuwe mogelijkheden in de dagelijkse praktijk gaat echter niet zonder slag of stoot.

Als je geen werkzaam TPMT hebt, dan geeft een lagere dosis al relatief veel toxiciteit. In het Caucasische ras is ongeveer 1 op de 300 mensen overgevoelig voor 6-MP. De allelfrequentie kan met de Hardy Weinberg formule uitgerekend worden voor het Caucasische ras: Je gaat uit van de allelfrequenties voor normaal (p) en mutant (q) TPMT; per definitie is $p+q=1$. De verdeling van de allelen wordt beschreven door $p^2 + 2pq + q^2$. Omdat 1 op de 300 mensen overgevoelig is, is $q^2 = 1/300$ \square $q = 1/17,32 = 0,0577$, en $p = 1 - 0,0577 = 0,9422$. De dragerfrequentie $2pq$ kunnen we nu uitrekenen: $2 \times 0,9422 \times 0,0577 = 0,109$. Ongeveer 1 op de 9 mensen is drager.

Een ander voorbeeld:

Een veelbelovende nieuw geneesmiddel is Novacts-967, een middel tegen het plaveiselcelcarcinoom van de long; dit middel is inmiddels in fase II klinische trials beland.

Het blijkt dat Novacts-967 door sommige patiënten slecht getolereerd wordt. Nader onderzoek leert dat Novacts-967 en vergelijkbare stoffen gemetaboliseerd worden door het enzym CYP2D6. Alle deelnemers aan de fase II klinische trial worden onderzocht op de activiteit van CYP2D6. Het merendeel (48%) van de patiënten zijn matige metaboliseerders; 35% zijn snelle metaboliseerders; de twee kleinste groepen, 7% en 10%, zijn respectievelijk hypermetaboliseerders en slechte metaboliseerders. Indien het middel goedgekeurd zou worden, moet de fabrikant zich houden aan de dosis die getolereerd wordt door de slechte metaboliseerders.

De verschillen in metaboliseringssnelheid van Novacts-967 worden veroorzaakt door mutaties in het gen dat codeert voor het CYP2D6 enzym. In dit geval zou het zinvol zijn om patiënten te testen voor mutaties in het CYP2D6 voordat ze Novacts-967 krijgen toegediend. Het aantal overgevoelige patiënten is namelijk behoorlijk groot; dat geldt ook voor de hypermetaboliseerders. Op basis van de gentest zou je de dosering aan de metaboliseringssnelheid aan kunnen passen, zodat het middel altijd zo effectief mogelijk wordt toegediend en bijwerkingen zo veel mogelijk vermeden worden.

Indien er enkele honderden mutaties van CYP2D6 bekend zijn, zou je een DNA chip kunnen maken waarop elk van die mutaties kan worden bepaald: voor elke mutatie een stukje DNA dat specifiek met deze mutatie kan hybridiseren, zodat je het genotype kunt uitlezen. Je zou met de verschillende oligonucleotiden een DNA micro-array kunnen maken, wat je vervolgens hybridiseert met gelabeld PCR product van het hele gen. Als je op zo'n micro-array zowel de gezonde als alle gemuteerde allelen aanbrengt, zou je direct kunnen vaststellen of de patiënt drager is van mutaties en of die homozygoot zijn.

Een ander cytostaticum, Novacts-247 lijkt er veel op Novacts-967. Deze stof wordt echter door alle patiënten vergelijkbaar gemetaboliseerd. Het heeft in zo'n geval geen zin om een gentest uit te voeren voordat Novacts-247 gegeven wordt. Het is echter wel van belang om te weten hoe groot de individuele verschillen binnen de groepen zijn. Als deze groot zijn, dan wordt de metaboliseringssnelheid van Novacts-247 mogelijk bepaald door een ander mutatiespectrum in CYP2D6 dan dat van Novacts-967.

Als je keuze hebt tussen beide middelen kies je in principe voor Novacts-247, want dan hoeft je niet eerst een (dure) test uit te voeren. Het hangt natuurlijk wel af van de vraag hoe effectief beide cytostatica voor de diverse soorten tumoren zijn en of de tumor misschien niet sneller resistent wordt tegen een van deze cytostatica.

Terug naar 6-MP (het cytostaticum tegen ALL bij kinderen)

Hoewel het voor iedereen duidelijk zou kunnen zijn dat gentesten in bepaalde gevallen (zoals het TMPT gen) zeer nuttig kunnen zijn, zijn niet alle artsen er enthousiast over:

- § De prijs: het is te duur
- § Slechts 1 op de 300 mensen test positief
- § Geen dosis bekend voor heterozygoten; gevaar van onderdosering
- § Onvermogen van artsen om de uitslag van de gentest te begrijpen
- § Het alternatief (regelmatig blood count) werkt al jaren goed

Indien bij een kankerpatiënt met combinatietherapie blijkt dat deze patiënt overgevoelig is voor de behandeling, wordt de dosis van alle componenten met een relatief kleine stap verminderd. Indien een gentest overgevoeligheid voor één van de componenten aangeeft dan zou de dosis van die ene component direct veel meer verlaagd worden tot een hoeveelheid die wel getolereerd wordt. De dosis van de andere componenten moet waarschijnlijk niet veranderd worden.

Medicijnen worden ontwikkeld voor een bepaald doel (bestrijding leukemie), maar in de praktijk worden ze vaak ook voor andere doeleinden gebruikt ('off label use'). Hoewel de doses lager zijn dan bij therapie voor het oorspronkelijke doel, kan langdurige blootstelling toch ernstige complicaties veroorzaken bij TPMT deficiënte patiënten. Deze patiënten worden echter niet nauwkeurig gevolgd door regelmatige bloedtests, zodat veel te laat zou worden opgemerkt dat ze TPMT deficiënt zouden zijn. Een gentest zou hiervoor heel nuttig zijn.

Het gebruik van gentests is op dit moment nog zeer minimaal. Toch wordt er hard aan gewerkt door verschillende farmaceutische en biotechnologische industrieën om dit te veranderen. Er bestaat dus een grote kans, dat je als arts voor de keuze komt te staan of je zo'n gentest moet aanbieden of zelfs aanraden aan je patiënt. Het is goed om hierover nu alvast na te denken.

ZO 3: MicroRNA en siRNA in het kankeronderzoek

Enkele jaren geleden werd een nieuwe klasse van RNA moleculen gevonden. Er zijn verschillende klassen RNA: mRNA (messenger), tRNA (transfer) en rRNA (ribosomaal). Daarnaast zijn er ook kleine RNA moleculen die niet voor eiwitten coderen, maar wel de expressie van genen kunnen beïnvloeden. De bekendste klassen van deze kleine RNA moleculen wordt microRNA genoemd. microRNA is ongeveer 21 nucleotiden lang en kan binden aan mRNA moleculen, waarvan ze de stabiliteit of de mate van translatie kunnen regelen, zodat de uiteindelijke hoeveelheid eiwit mede afhankelijk is van de hoeveelheid van deze microRNAs in de cel.

Om experimenteel de effecten van sterk verlaagde expressie (knock down) van genen te kunnen onderzoeken gebruikt men de eigenschap om afbraak van mRNA te kunnen veroorzaken. Deze korte RNAs worden dan short interfering RNAs (siRNAs) genoemd.

Micro RNA

Micro RNAs zijn gedeeltelijk complementair met het te reguleren mRNA waardoor ze specificiteit krijgen voor de regulatie van een of meerdere mRNAs. Tumoren hebben vaak een afwijking in expressie van bepaalde microRNAs. MicroRNAs verminderen de expressie van genen. Hierdoor kan er dus vermindering van de genproducten van tumorsuppressorgenen zijn of van genen die apoptose stimuleren of de celcyclus reguleren. Dit kan leiden tot het ontstaan van een tumor. Door het analyseren van de microRNA expressiepatronen kunnen tumoren beter worden ingedeeld en deze informatie kan gebruikt worden om de therapie aan te passen.

siRNA

Deze korte RNAs kunnen ook gebruikt worden om de expressie van genen te reguleren in een experiment. Hiervoor worden dan dubbelstrengs RNA oligonucleotiden in cellen gebracht, waarna het effect op genexpressie kan bestudeerd worden. Met behulp van RT-PCR of Northern blotting kun je onderzoeken of een dubbelstrengs RNA oligonucleotide inderdaad tot verminderde expressie van mRNA leidt. Met behulp van een immunoblot kun je onderzoeken of een dubbelstrengs RNA oligonucleotide inderdaad tot verminderde expressie van eiwit leidt.

Als zo duidelijk is geworden dat inderdaad de expressie van het gen, waarin je geïnteresseerd bent, sterk is verminderd na de behandeling, kun je gaan onderzoeken wat de functie van dit genproduct is. Je kunt bijvoorbeeld bepalen welke eiwitten door een bepaalde proteïne kinase gefosforyleerd worden. Dit kun je doen aan de hand van immunoblotting met een antiserum, dat speciaal het gefosforyleerde eiwit herkent. Als je alle eiwitten wilt analyseren, kun je massa spectrometrie gebruiken, gevolgd door analyse m.b.v. bioinformatica.

Het verminderen van de expressie van het gen waarin je geïnteresseerd bent (knock down), kun je ook gebruiken om het effect van combinaties van gendefecten te onderzoeken. Zo kun je uitzoeken welke gendefecten naast BRCA1 deficiëntie, leiden tot een gevoeligheid voor PARP inhibitors, zodat je er meer tumoren mee zou kunnen behandelen. Hiervoor selecteer je een aantal genen, waarvan je vermoedt dat die tot PARP inhibitor sensitiviteit zouden kunnen leiden. Eerst moet je m.b.v. siRNA de expressie van die genen verminderen, en dan moet je ze kweken in aanwezigheid van toenemende concentraties van de PARP inhibitor. Van elke concentratie kun je dan de overleving bepalen, zodat je weet hoe gevoelig die cellen zijn.

Er zijn collecties van siRNAs voor alle menselijke genen. Om van alle menselijke genen te bepalen of ze tot gevoeligheid voor PARP inhibitor leiden, moet je al die siRNAs (een voor een) inbrengen in cellen, waarna je test of ze op een vrij hoge concentratie PARP inhibitor nog kunnen groeien (een concentratie die nog niet remmend werkt op normale cellen). De culturen die niet goed meer groeien zijn dan de genen die mogelijk ook nodig zijn voor groei in aanwezigheid van PARP inhibitor. Je moet natuurlijk wel kijken of die siRNA niet leidt tot verminderde groei of celdood zelfs als geen PARP inhibitor aanwezig is.

Het vinden van nieuwe targets en medicijnen voor anti-tumor therapie

Een siRNA bank bestaat uit een verzameling van duizenden verschillende siRNAs die stuk voor stuk een ander gen herkennen en kunnen uitschakelen. Zo'n bank wordt gebruikt bij het onderzoeken van duizenden genen tegelijkertijd, om zodoende onbekende genen die een belangrijke rol spelen in bepaalde biologische processen, op te sporen. Dit wordt behandeld aan de hand van een voorbeeld over Diffuse Large B-cell Lymphoma (DLBCL). Er zijn twee typen: activated B-cell like DLBCL (ABC-DLBCL) en germinal center B-cell like DLBCL (GCB-DLBCL). Deze twee typen onderscheiden zich van elkaar omdat ze verschillend reageren op therapie en derhalve biologisch en moleculair verschillend zijn.

Om te analyseren of er verschillende genen betrokken zijn bij de tumorontwikkeling van deze twee typen worden de tumorcellen behandeld met een siRNA bank. Zo worden heel veel verschillende siRNA moleculen ingebracht in heel veel cellen tegelijkertijd. Dit wordt zo gedaan dat steeds één unieke siRNA in één cel terechtkomt. De bank waarvan gebruik gemaakt werd bestaat uit ongeveer 7500 siRNA's, en richt zich op ongeveer op 2500 genen. Dit komt doordat meerdere siRNAs tegen hetzelfde mRNA gericht kunnen zijn, waar ze complementair zijn aan verschillende delen van dat mRNA. Om per cel één siRNA uit te testen, wordt gebruik gemaakt van een virus dat zo'n siRNA tot expressie brengt. Elk virus heeft behalve het siRNA ook een zogenaamde barcode. De barcode kan gebruikt worden om te onderzoeken hoeveel cellen met het bijbehorende siRNA in de celkweek voorkomen. Elke siRNA moet dus gecombineerd zijn met een unieke barcode. Wanneer het virus de cellen infecteert, wordt het DNA geïntegreerd in het cellulaire DNA, in de chromosomen dus. Het virale DNA is zo gemaakt dat deze siRNA pas tot expressie komt als de cellen worden geactiveerd. Celkweken waarin het siRNA wel of niet tot expressie komt worden met elkaar vergeleken. De bedoeling is om erachter te komen welk siRNA cellen kan doden of tenminste hun proliferatie kan tegengaan. Cellen worden drie weken doorgekweekt. De cellen moeten namelijk de kans krijgen om verschillende delingen door te maken, zodat duidelijk wordt welke cellen niet meer kunnen groeien: die zullen dus minder in de cultuur voorkomen na verloop van tijd.

Na enige tijd wordt DNA geïsoleerd uit cellen waarin het siRNA wel tot expressie kwam en cellen waarin dit niet het geval was. De aanwezigheid van een virus dat een bepaald siRNA tot expressie brengt, wordt vervolgens bekeken door die DNA isolaten met elkaar te vergelijken. Hierbij komt de barcode van pas. De auteurs hebben een microarray met daarop alle barcode sequenties. Door nu de geactiveerde en de niet geactiveerde kweken met

elkaar te vergelijken, kun je direct zien welke siRNAs tot verminderde celgroei of celdood leiden.

Zodra op deze manier aanwijzingen verkregen zijn dat een bepaald gen nodig is in bepaalde cellen, kan dit bevestigd worden door een paar verschillende siRNAs te ontwerpen tegen dat speciale gen en vervolgens te testen welk effect dat heeft op de groei van de cellen. Om het effect het best te kunnen meten, wordt een kweek die het siRNA tot expressie brengt, gemengd met ene kweek die dat niet doet. Door enkele dagen door te kweken en dan te bepalen wat de relatieve groei van beide kweken is, kunnen we preciezer bepalen of het gen waarin we geïnteresseerd zijn ook inderdaad nodig is voor de uitgroei van die tumorcellen. Het effect van deze behandeling is na 10 dagen optimaal. Blijkbaar gaan de cellen niet direct dood maar groeien langzamer en/of gaan pas na verloop van tijd dood.

Er blijkt dat siRNAs gericht tegen het gen CARD11 de groei van kankercellen remt. Dit gebeurt echter niet bij alle DLBCL cellen. De ABC-DLBCL hebben het CARD11 gen wel nodig voor tumorgroei, maar de GCB-DLBCL niet. Dat kun je zien, omdat de celkweken van de eerste groep minder cellen met het siRNA tegen CARD11 bevatten na enige dagen kweken, terwijl de tweede groep er geen hinder van ondervindt.

De experimenten lijken ons te vertellen dat tumorgroei kan worden geremd met bepaalde siRNAs. Echter deze siRNAs kunnen niet gebruikt worden voor klinische doeleinden. siRNA zorgt er eigenlijk alleen maar voor dat er geen eiwit gemaakt wordt. Daarom zou je kunnen proberen om een remmer van de activiteit van het CARD11 eiwit te vinden, bijvoorbeeld een klein chemisch molecuul.

Er is op dit moment nog geen remmer van het CARD11 eiwit gevonden. Wel is bekend, dat CARD11 een onderdeel is van een signaaltransductie route waarvan ook NFkB een onderdeel is. Er zijn wel NFkB remmers op de markt. NFkB remmers zouden zeker een goede therapeutische optie kunnen zijn, want misschien gaat het er alleen om dat die signaaltransductie route wordt geïnactiveerd. Het is natuurlijk ook mogelijk, dat zo'n behandeling te veel bijwerkingen zou hebben, maar dat kan onderwerp van verder onderzoek zijn.

Alles in schema:

siRNA bank → infecteer cellen → kweek enige tijd (met siRNA aan of uit) → haal DNA uit de cellen → bepaal de relatieve hoeveelheid van elk siRNA m.b.v. microarray (waarbij de barcode gebruikt kan worden) → selecteer de siRNA die verminderd voorkomt in de kweek waarin het siRNA aan staat → test enkele siRNAs tegen hetzelfde gen op hun effect op groei van de tumorcel → als die inderdaad remmen, is dit een interessante target voor geneesmiddelontwikkeling.

Klinische Casussen

Klinische Casus 1

Je bent **kinderarts** en een jong gezin komt op je spreekuur. De ouders (zelf kerngezond) zijn doorgestuurd door de huisarts, omdat bij hun **dochtertje (4 jaar oud)** de laatste tijd toenemende problemen zijn. Ze is vaak ziek geweest in het afgelopen jaar (**infecties**) en de laatste tijd **loopt ze niet zo goed** meer: haar gang is **onzeker en waggelend** geworden, terwijl ze toch volkomen normaal heeft leren lopen op de gangbare leeftijd (vanaf 1jaar). De infecties waren met antibiotica goed te bestrijden, maar ze blijft erg gevoelig om telkens weer nieuwe op te lopen. Bij nader lichamelijk onderzoek valt je ook nog op, dat **beide ogen rooddoorlopen** zijn (gesprongen adertjes in het oogwit). Hier blijkt het meisje al **enkele maanden** last van te hebben. Bij de eerste bloedtest, die de huisarts had aangevraagd bleken **normale waarden** voor erythrocyten, leukocyten en thrombocyten aanwezig te zijn. Bij het jongere broertje (2 jaar oud) is niets aan de hand. Hij is niet vaak ziek en heeft verder ook geen problemen met het leren lopen. De geboorte van beide kinderen is zonder problemen verlopen, ze hadden een normaal geboortegewicht, goede APGAR scores en vertoonden geen ontwikkelingsstoornissen.

De differentiaal diagnose is nu:

1. Ataxia Telangiectasie: vanwege de infecties als gevolg van een verzwakt immuunsysteem, progressieve cerebellaire ataxie die problemen met beweging geeft en telangiectasiën van de huid. Belangrijk te onthouden is dat dit gepaard gaat met overgevoeligheid voor straling, dus er is een contra-indicatie voor CT of röntgenonderzoek
2. Selectieve IgA deficiëntie: de symptomen kunnen allemaal verklaard kunnen worden met infecties (slecht lopen door gewrichtsontsteking en een rood oog door een conjunctivitis) en dit is de meest voorkomende primaire immundeficiëntie op deze leeftijd, die niet X-chromosomaal overerft
3. Jeugdreuma (Oligoartrculaire juveniele chronische artritis): vanwege het waggelende lopen die verklaard kan worden door aangetaste gewrichten. Het gaat ook gepaard met infecties of een oogontsteking
4. Acute lymfatische leukemie: vanwege de vele infecties en wellicht is het slechte lopen te verklaren door botpijn

Onderzoeken:

1. In het bloed: alfa-foetoproteïne en IgA, IgG en IgE voor AT. Indien de eerste hoog is en de laatste drie laag is dit bevestigend voor AT. Indien IgA laag is, is dit een aanwijzing voor selectieve IgA deficiëntie. Reumafactoren, ANA en HLA-B27 zijn aan te tonen bij jeugdreuma. Om ALL uit te sluiten kan een leukodifferentiatie van het bloed gedaan worden. Indien er geen blasten in het bloed zitten is ALL uit te sluiten
2. Röntgenfoto van de botten, alleen indien het geen AT blijkt te zijn
3. Echo van het oog voor RB

Bij een sterke verdenking van AT kun je genetisch onderzoek laten doen (sequenzen van het ATM gen).

Er blijkt een verhoogd niveau van alpha-foetoproteïne (AFP) in het bloed aanwezig te zijn. Er worden ook chromosomale translocaties gevonden tussen de chromosomen 7 en 14. Bij sequentie-analyse blijkt er een homozygote mutatie in het ATM gen aanwezig te zijn, waardoor midden in het gen een stopcodon wordt geïntroduceerd.

Uit de resultaten van het aanvullend onderzoek komt sterk de diagnose Ataxia Telangiectasia (AT) naar voren. De prognose van deze ziekte is ongunstig, gezien het feit

dat hier (nog) geen behandeling voor is. Gemiddeld wordt een kind met A-T zo'n 25 jaar, welke deze waarschijnlijk al vanaf zijn tienerjaren in een rolstoel zal moeten doorbrengen. De overleving groeit de laatste jaren echter gestaagd. Afhankelijk van de onderliggende ernst van de mutaties en de resterende hoeveelheid produceerbare ATM-eiwit kan het leven nog veel langer duren. 1/3^e van de patiënten met AT overlijdt aan de gevolgen van een kanker (leukemie, lymfomen) en 1/3^e overlijdt aan de gevolgen van een chronische longziekte. Een patiënt met AT heeft ongeveer een 37-voudige kans op kanker, vergeleken met gezonde mensen, en voor het ontwikkelen van lymfomen is dit zelfs 100-voudig.

Wanneer er onverhoopt kankers ontstaan, is er nog redelijk veel discussie over de best mogelijke behandeling. Sommige studies zeggen: normale doses chemotherapie, andere studies zeggen: gereduceerde doses chemotherapie. En weer andere studies zeggen: je moet proberen een aantal systemische therapieën als Bleomycine, Actinomycine D en Cyclofosfamide te vermijden. Echter: de kankers worden hoe dan ook behandeld.

De behandeling van AT is dus nooit curatief, maar wordt vooral symptomatisch ingezet. Het is bewezen dat kinderen met AT er veel baat bij hebben levenslang behandeld te worden met anti-biotica, preventief tegen infecties, en het inspuiten van immunoglobulines. Er zijn nog een heleboel andere mogelijkheden, bijvoorbeeld een fysiotherapie om flexibel te blijven en een logopedist om de patiënten beter te leren praten. Daarnaast is het ook belangrijk om na te gaan of het patiëntje nog goed kan slikken. Uiteraard moet geprobeerd worden het patiëntje zo min mogelijk bloot te stellen aan ioniserende straling; alleen wanneer het echt medisch geïndiceerd is, waarbij er goed gecontroleerd moet worden wat de eventuele bijwerkingen zouden kunnen zijn. Er kan ook therapie ingesteld worden tegen neuroloogische symptomen (balans, coördinatie, spraak, tremor), maar dit is nog niet bewezen effectief.

De follow-up van patiënten met AT moet bestaan uit het monitoren van eventuele (respiratoire) infecties en het monitoren van de mogelijkheid op kanker.

Bij het broertje is het zaak om het niveau van alpha-foetoproteïne en immunoglobulines in het bloed te bepalen. Is dit verhoogd, dan is er ook voor hem een sterke verdenking op A-T. Hiervoor moet dan hetzelfde pad bewandeld worden als voor zijn zusje: dus genetisch onderzoek (ATM gen-sequencing en karyotypering). De kans dat hij ook AT heeft is 25%, AT erft immers autosomaal recessief over. Je geeft de ouders geen advies over wat ze moeten doen, maar je legt beiden mogelijkheden (wel of niet testen) duidelijk uit en benadrukt ook wat de gevolgen zijn van beiden.

Wanneer er een derde kindje op komst is, heeft ook dit kindje 25% kans om A-T te ontwikkelen. Hoewel het niet routinewijs aangeboden wordt, is het wel mogelijk om prenatale diagnostiek te voeren. Dit kan gebeuren door te kijken hoe de cellen van de foetus reageren op ioniserende radiatie. De cellen die hiervoor nodig zijn kunnen met een vlokentest verkregen worden of met een vruchtwaterpunctie. Deze test moet dan wel gevolgen indien de test positief is. Het is dus van belang te weten hoe de ouders tegenover abortus staan. Indien de ouders het kind houden als het AT blijkt te hebben, heeft de test geen verschil gemaakt. Een andere mogelijkheid is een kind adopteren of helemaal geen kinderen meer nemen.

In het bloed van patiënten Ataxia-Telangiectasia (A-T) worden frequent translocaties tussen de chromosomen 7 en 14 gevonden en bestaat een verhoogde kans op kanker. Verder blijken cellen van A-T patiënten zogenaamde 'radioresistant DNA synthesis' (RDS) te vertonen.

Voor de maturatie en recombinitie van T-cellen zijn chromosoom 7 en 14 betrokken. Op chromosoom 14 liggen namelijk de genen die coderen voor de α en δ ketens, op

chromosoom 7 liggen de genen die coderen voor de γ en β ketens. Hier treedt dus vaker recombinatie op en hierdoor is de kans groter dat er translocaties (7;14) voorkomen.

Normaal kunnen cellen DNA replicatie remmen als het blootgesteld is aan ioniserende schade. Het ATM zorgt voor recrutering van reparatie eiwitten en ophoping van p53, waardoor er uiteindelijk vertraging is van G1 naar S-fase. Hierdoor heeft de cel de tijd DNA-schade te herstellen of de cel in apoptose te laten gaan. Dit functioneert niet goed bij AT en dus zijn de cellen in staat te delen zonder herstel van DNA fouten. In de cellen zul je dus een verhoogd aantal chromosombreuken na röntgenstraling vinden: door een defect ATM is niet meer mogelijk NHEJ te doen. Er is geen verhoogde expressie van AFP. Dit is foetaal albumine wat in de darmen en lever van het ongeboren kind gemaakt wordt. Bij AT patiënten zie je ook AFP in het bloed, die waarschijnlijk door de lever gemaakt wordt. Bij onderzoek naar fibroblasten zullen er niet meer translocaties specifiek tussen 7 en 14 voorkomen. Veelal zullen dit willekeurige translocaties zijn. AT patiënten zijn gevoeliger voor röntgenstraling, doordat de cellen in apoptose gaan door de niet te repareren DNA schade. Patiënten zijn niet gevoeliger voor UV straling, omdat de cellen nog in staat zijn enkelstrengsbreuken te herstellen die door UV straling veroorzaakt worden.

Klinische Casus 2

Assistent chirurg Pieters is in het vierde jaar van zijn opleiding. Tijdens een avonddienst wordt hij door een huisarts gebeld die mevrouw van Pelt, een jonge vrouw van 39-jaar, in wil sturen met heftige buikpijn in de rechter onderbuik. De voorgeschiedenis van deze jonge vrouw vermeldt weinig bijzonderheden. Ongeveer een half jaar geleden is zij bij de huisarts geweest voor een gesprek over een bestaande kinderwens bij haar nieuwe relatie. De huisarts verrichtte gynaecologisch onderzoek en vond geen bijzonderheden. Mevrouw van Pelt was zich bewust van het feit dat een zwangerschap op latere leeftijd mogelijke risico's met zich meebrengt. Toch had zij samen met haar nieuwe partner besloten om de pil te stoppen in de hoop nog een kind te kunnen krijgen. De huisarts is nu bij mevrouw van Pelt geroepen wegens, in enkele uren ontstane, forse pijn in de rechter onderbuik. De laatste weken was ze wat moe en had ze af en toe een wat zeurend gevoel in de onderbuik. Zij was voor deze klachten niet naar de huisarts geweest.

naam Mevrouw W.M. van Pelt

leeftijd 39 jaar

burgerlijke stand Sedert 2 jaar nieuwe partner en recent getrouwd, geen kinderen

beroep Lerares basisschool

medische voorgeschiedenis Mei 2002: fractuur linker fibula na val van de trap

medicatie Pilgebruik, +/- 6 mnd. geleden gestopt wegens kinderwens

familieanamnese De moeder van mevrouw van Pelt evenals een zus van moeder zijn behandeld voor borstkanker.

Dokter Pieters onderzoekt mevrouw van Pelt bij aankomst in het ziekenhuis. Mevrouw van Pelt heeft enkele uren geleden flinke pijn in de rechter onderbuik gekregen die steeds heviger is geworden. Zij is misselijk en heeft gebraakt. De overige informatie is conform die van de huisarts. Dokter Pieters constateert inderdaad een pijnlijke buik die erg gevoelig is bij palpatie. Er is geen darmperistaltiek meer hoorbaar. De pols en de bloeddruk zijn niet afwijkend. Differentiaal diagnostisch denkt dokter Pieters aan een appendicitis of steeldraai van het rechter ovarium. Dit is een acute situatie waarbij snel handelen vereist is. De gynaecoloog dokter Jansen wordt in consult gevraagd. Het gynaecologisch onderzoek is echter wegens de pijn niet goed te beoordelen. Een CT scan van de onderbuik toont een vergroot rechter adnex. Het bloedonderzoek levert geen aanvullende informatie op.

Dokter Pieters bespreekt met mevrouw van Pelt de acute situatie en legt uit dat in zo'n geval een buikoperatie nodig is om de juiste diagnose te stellen en het probleem te verhelpen. Bij de operatie, waarbij ook dokter Jansen mee opereert, blijkt dat de appendix normaal is. Het rechter adnex is vergroot en grillig van vorm en een cyste die in het adnex aanwezig was, is gebarsten. In de vrije buikholte is door de ruptuur wat bloed aanwezig. De gynaecoloog heeft het afwijkende adnex verwijderd en heeft tevens het bloederige vocht uit de buikholte naar het laboratorium gestuurd. Deze twee preparaten zijn onderzocht door de patholoog.

De uitslag van het pathologierapport luidt;

1. Excisie adnex rechts, 5cm papillair sereus adenocarcinoom, Silverberg stadiëring graad III. Kapseldoorgroei en vasoinvasieve groei. In het adnex zijn enkele kleinere cysten aanwezig, waarvan er 1 gebarsten is. Tuba geen bijzonderheden.
2. Ascites en bloed met atypische cellen verdacht voor adenocarcinoom.

Zonder de uitslag van het pathologierapport kan de volgende differentiaal diagnose opgesteld worden:

- Benigne adnex tumor: cyste of dermoïdcyste
- Maligne adnextumor
 - i. Primair: ovariumcarcinoom, kiemceltumor, sex-cord-stromatumoren
 - ii. Metastase van elders: mammacarcinoom of een maligniteit van het tractus digestivus

Na uitslag van het pathologierapport blijven de diagnoses epitheliaal ovariumcarcinoom of sereus papillair ovariumcarcinoom over. In een vroeg stadium geeft deze tumor vrijwel geen symptomen, maar bij premenopauzale vrouwen kunnen ze menstruatiestoornissen geven. Soms kan er acute buikpijn ontstaan indien er steeldraai en een ovariumgezwel is. In een later stadium kunnen een opgezette buik, vage buikpijn en abnormaal vaginaal bloedverlies optreden. In een zeer vergevorderd stadium ontstaan slechte eetlust, vermagering, mictie- en of defaectatieproblemen en rug- en/of buikpijn.

De vrouw is erg jong (39 jaar) voor een ovariumcarcinoom.

Er is hier sprake van een stadium I C tumor. Dit omdat het kapsel gescheurd is en er sprake is van maligne ascites. Verder is er geen uitgroei naar andere organen in het kleine bekken of naar de buikholte te zien. Vanwege spill tijdens de Operatie is het Ic

De week na de operatie bespreekt dokter Jansen de uitslag van de operatie, het weefselonderzoek verricht door de patholoog en de vervolghandelingen met mevrouw van Pelt en haar echtgenoot.

Wat er besproken wordt:

Behandelingsmogelijkheden:

- Re-laparotomie voor volledige staging. Als de buik macroscopisch schoon is doe je een staging; dan neem je uterus en het andere ovarium en het omentum weg en neemt bipten van meerdere plaatsen. Als er dan een microscopische metastase buiten het kleine bekken (Stadium IIb en hoger) wordt gevonden is er een indicatie voor chemotherapie. Er is dan per definitie niets meer te opereren. Als er tijdens de stagingoperatie voor tumor verdachte afwijkingen worden gezien wordt een vriescoupe gedaan. Als die tumorpositief is worden uterus, adnexa en omentum verwijderde, een indicatie voor chemotherapie is dan namelijk al gesteld.

- Bij vrouwen met kinderwens kunnen uterus en het andere ovarium behouden blijven mits stadium I en volledig gestageerd. (= conservatieve stagering) Als een 2-de operatie niet mogelijk is, is chemotherapie geïndiceerd, Er is immers geen formele stagering uitgevoerd, er kunnen nog meer afwijkingen in de buik zitten.

Beiden behandelingen moeten besproken worden. Bij het ovariumcarcinoom is de prognose van een goed gestageerde vrouw met een bewezen laag stadium zo gunstig dat verdere behandeling (in NL) achterwege blijft. Als geen volledige stadiering heeft plaatst gevonden en het dus onduidelijk is of de tumor zich heeft verspreid geeft adjuvante chemotherapie overlevingswinst.

Acute bijwerkingen van carboplatin-taxol-bevattende chemotherapie:

Overgevoeligheidsreactie, misselijkheid en braken, beenmergdepressie, beschadiging van de nierfunctie en leverenzymstoornissen, perifere neuropathie, kaalheid.

Acute bijwerking van chirurgie (complicaties daargelaten) indien conventionele stagering (andere adnex ook verwijderd): Oestrogeenderivings klachten. Patiënte is postmenopauzaal geworden. Klachten daarvan zijn: opvliegers, stemmingswisselingen, spierpijnen, gewichtstoename, vaginale droogheid.

Bijwerkingen op langere termijn van de chemotherapie: Persistierende neurotoxiciteit en nierschade

Bijwerkingen op langere termijn van de chirurgie (indien conventionele stagering) en mogelijk van chemotherapie: Verlies van fertiliteit, Osteoporose door vervroegde menopauze

Na de volledige stageringslaparotomie werd bij pathologisch onderzoek in de bipten van de diafragmahoek microscopische haardjes adenocarcinoom aangetoond. Mevrouw van Pelt werd na de operatie behandeld met 6 kuren chemotherapie met paclitaxel en carboplatin. Mevrouw van Pelt komt 3 maanden na de laatste kuur chemotherapie weer bij dokter Jansen op de polikliniek ter controle. Zij is blij dat de hele behandeling nu is afgerond hoewel zij alles goed doorstaan heeft en zich op dit moment goed voelt.

Met de gegevens van de tweede operatie is het stadium wel veranderd: het stadium is nu IIIA, T3A. Er is daarbij ook reden om aan erfelijke belasting te denken: in de familie komen borst- en eierstokkanker voor. Daarbij zijn eerstegraads familieleden aangedaan en dat in twee generaties. De opvliegers worden verklaard door hoge spiegels gonadotrofines (LH en FSH). De opvliegers komen gelijk met pulsen van LH. De mediale preoptische area en de GnRH-bevattende neuronen zitten bij elkaar en mogelijk is er simultane activatie van GnRH release en thermoregulatorische veranderingen. Klachten door opvliegers kunnen weggenomen worden door toediening van oestrogenen-monotherapie indien de baarmoeder verwijderd is en anders gecombineerd met progestagenen. Homeopathische middelen zijn niet bewezen effectiever dan placebo's. Het is wel verantwoord mevrouw deze hormoonsubstitutie te geven, omdat de verhoogde kans op borstkanker niet relevant is en ze erg jong is en niet te lang substitutie hoeft te gebruiken. Bij aanvang moet een mammografie gemaakt worden en na één tot twee jaar een herevaluatie van de situatie.

Controlebeleid bij deze patiënten: Follow up met 3-maandelijks gynaecologisch onderzoek, inclusief transvaginaal echografie met eventueel CA 125 monitoring in het serum. In principe twee jaar elke drie maanden, het derde jaar elke vier maanden en daarna elk half jaar. Dit wordt volgehouden tot vijf jaar na het eindigen van de behandeling.

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