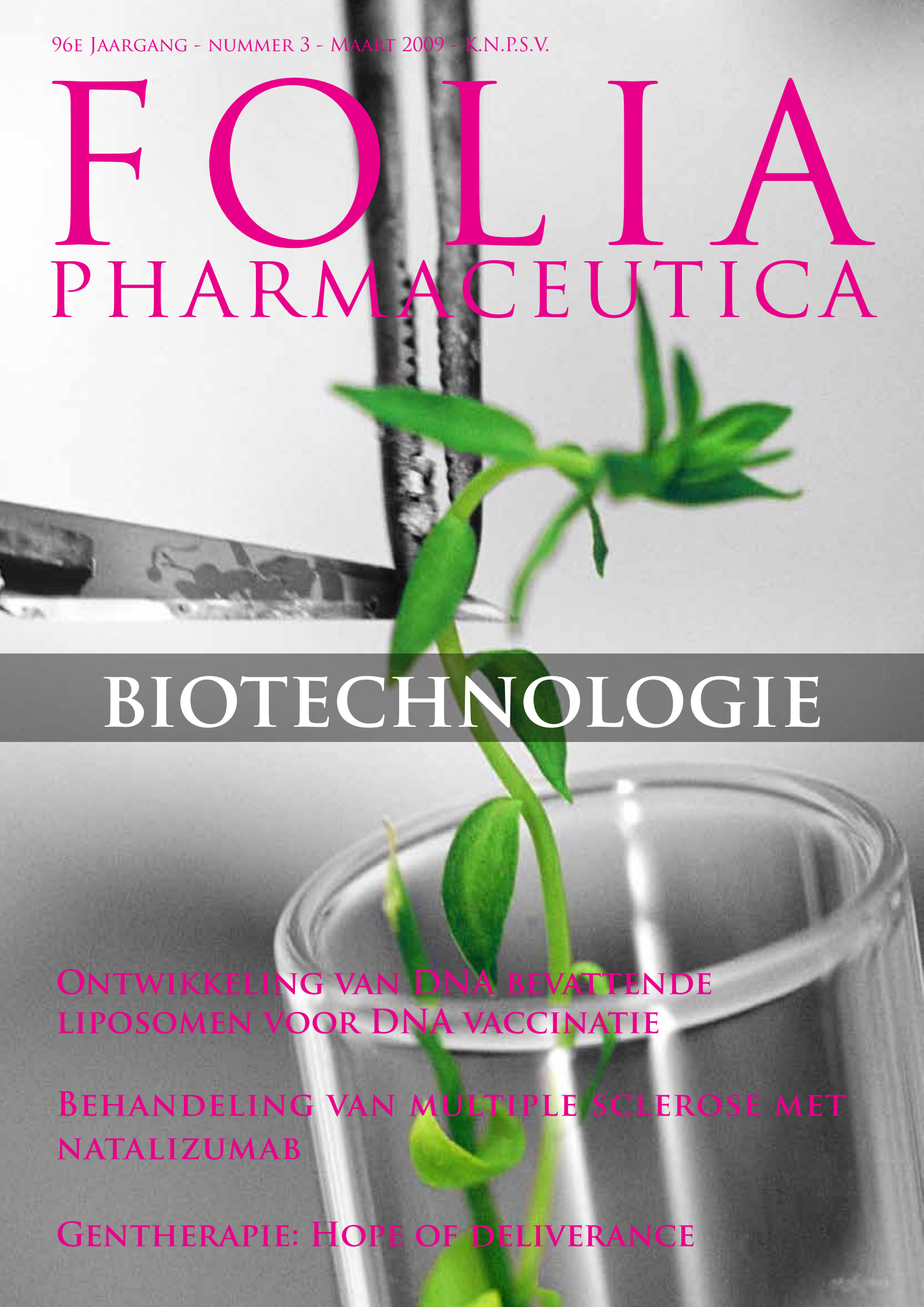
96e Jaargang - nummer 3 - Maart 2009 - K.N.P.S.V.

FOLIA PHARMACEUTICA



BIOTECHNOLOGIE

Ontwikkeling van DNA bevattende liposomen voor DNA vaccinatie

Behandeling van multiple sclerose met natalizumab

Gentherapie: Hope of deliverance

Synthon

Thinking big

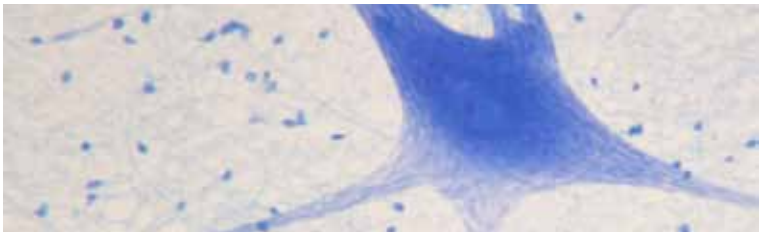
Thinking big. Dan denken wij aan complexe generieke geneesmiddelen. Relevante medicijnen voor de meest uiteenlopende indicaties. Ontwikkeld door getalenteerde onderzoekers. Ondersteund door experts in octrooirecht, registratie en fabricage. Samen met farmaceutische bedrijven over de hele wereld. Maar we denken ook aan nieuwe uitdagingen. Zoals innovaties op het gebied van biotechnologie waarmee Synthon zich in de toekomst onderscheidend wil profileren.

www.synthon.com

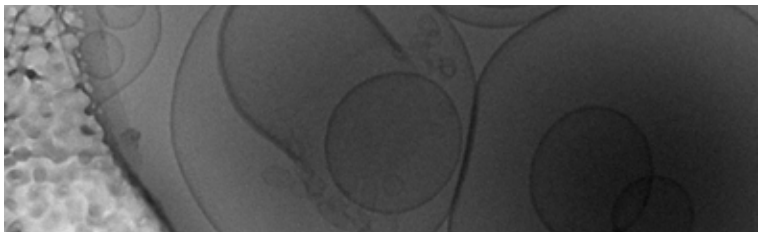
BIOTECHNOLOGIE

Gentherapie: Hope of deliverance 10

Behandeling van Multiple Sclerose met Natalizumab 14



Ontwikkeling van DNA bevattende liposomen 18



FOLIA PHARMACEUTICA

Overige rubrieken

04 Voorwoorden
08 Agenda
09 K.N.P.S.V. - lied
17 Voorjaarsdagaankondiging
21 Patient counselling event '08/'09
23 Hygeia
24 TWIN - aankondiging
25 Verslag januari AV

Redactie

Martin van der Maarel	Voorzitter
Gerlise van Ommeren	Secretaris
Roderick Slieker	Penningmeester & Lay-out
Kamjar Elmi	Redacteur I & Penningmeester II
Anke van Asten	Redacteur II
Ellen Severijns	Redacteur III

VOORWOORD

Beste Lezer,

Voor U ligt alweer de derde editie van de Folia Pharmaceutica van deze commissie. Wellicht bent U al gewend geraakt aan de nieuwe lay-out en is ook de nieuwe, maatschappelijke invulling van de vorige Folia u bevallen. Deze keer zijn we wat onderwerp betreft echter teruggedoken in de wondere wereld van de wetenschap. Met als thema 'biotechnologie' is gekozen voor een meer traditioneel, maar daardoor zeker niet minder interessant onderwerp.
Nu de farmaceutische industrie meer en meer moeite heeft met het vinden van nieuwe klein-moleculaire geneesmiddelen, wordt er steeds meer aandacht besteed aan de biofarmacie. Grote, complexe eiwitstructuren worden zo ontworpen dat ze zeer specifiek kunnen ingrijpen in processen die leiden tot ziekte. Een goed voorbeeld hiervan zijn de monoklonale antilichamen. Deze zijn al langere tijd in gebruik voor verschillende aandoeningen, waaronder reuma. De kracht en potentie van deze mAb's wordt steeds meer onderkend en er wordt dan ook veelvuldig onderzoek gedaan naar de mogelijkheden van specifieke antilichamen bij de behandeling van verschillende ziekten. Bij bijvoorbeeld Multiple Sclerose wordt nu onderzoek gedaan naar mAb's als therapie. Deze chronische ziekte kon tot op heden niet adequaat behandeld worden. Dhr. Schipper vertelt ons over de huidige stand van zaken.

Gentherapie is een ander zeer mooi onderwerp. Het idee om het genetisch materiaal van al bestaande cellen aan te passen bestaat al sinds de jaren 70. De theorie is prachtig: verander bij bepaalde genetische aandoeningen de gemuteerde genen en de ziekte is verholpen. Helaas is de praktijk iets ingewikkelder. Ethlinn van Gaal vertelt over de geschiedenis van de gentherapie en de huidige ontwikkelingen van nieuwe technieken.

Tenslotte zal Koen van der Maaden, 5e jaars student Bio Pharmaceutical Sciences te Leiden, ons inlichten over zijn onderzoek over DNA-vaccins. Dit nieuwe soort vaccin kan een immuunreactie opwekken tegen ziekteverwekkers die voornamelijk intracellulair actief zijn, zoals virussen en bijvoorbeeld tuberculosebacillen. Door verschillende toedieningsvormen te onderzoeken, wordt nu geprobeerd de potentie van het vaccin te verhogen. Zoals je ziet gebeurt er ontzettend veel op het gebied van de biotechnologie. Nieuwe manieren om ziekten te bestrijden en manieren om de huidige therapieën te verbeteren worden constant onderzocht. De monoklonale antilichamen zijn hier een goed voorbeeld van. Een goed voorbeeld dat hopelijk goed doet volgen.

De biofarmacie gaat absoluut groter worden dan het nu al is en gaat mogelijk een groot deel uitmaken van het toekomstige arsenaal medicamenten. Niet alleen voor de Leidse biofarmaceutische wetenschappers, maar ook voor de apothekers uit Utrecht en Groningen is dit onderwerp dus razend interessant. Het dan ook mooi om te zien dat de verschillende verenigingen hier voldoende aandacht aan besteden. Dit betekent dat we met onze tijd meegaan en de nieuwe ontwikkelingen op de voet volgen. Wat dat betreft is de biotechnologie een dankbaar onderwerp voor de Folia. Er gebeurt zo veel dat de techniek van vandaag morgen al verouderd is. De discipline is zo breed dat er zonder enige overlap makkelijk meerdere nummers over volgeschreven kunnen worden. Dit zullen we U echter niet aandoen. Niet alleen de biotechnologie, ook de Farmacie heeft vele verschillende facetten die belicht dienen te worden. Rest mij U veel leesplezier te wensen.

Met vriendelijke groet,

Martin van der Maarel

h.t. voorzitter der Commissie ter Redactie van de Folia Pharmaceutica

In Memoriam

Josien den Hartog

22 maart 1986 - 11 februari 2009

In de middag van 11 februari 2009 is Josien den Hartog bij een verkeersongeval om het leven gekomen.

De K.N.P.S.V. wenst alle nabestaanden veel sterkte toe de komende tijd.

K.N.P.S.V.

Geachte leden der K.N.P.S.V.,

Met verdriet heeft onze vereniging op 11 februari kennis genomen van het overlijden van P.S. en K.N.P.S.V. lid Josien den Hartog. Zij kwam door een verkeersongeval om het leven. Het bestuur wil namens de K.N.P.S.V. de nabestaanden de komende tijd veel sterkte toewensen.
Op 31 januari heeft onze AV plaatsgevonden. Tijdens deze AV zijn er voorstellen gedaan over de activiteiten van de K.N.P.S.V., die weer voortvloeiden uit de discussies die tijdens de Buitengewone Algemene Vergadering van 22 november werden gevoerd. Zo vallen de Ziekenhuisfarmacieavond en de Wetenschappelijke Lezing niet meer onder de activiteiten van de K.N.P.S.V. Verder is er een voorstel gedaan om de Voorjaarsdag en de Sportdag te combineren. Op 21 maart is dan ook de laatste traditionele Voorjaarsdag van de K.N.P.S.V. Deze wordt in Putten gehouden en heeft als thema 'Groeistoornissen, laat je niet klein krijgen!'. Verder zal in het weekend van 1 t/m 3 mei en 12 t/m 14 juni de Twin plaatsvinden. In het eerste weekend zullen farmacie studenten uit Leipzig naar Nederland komen om ons studentenleven te ontdekken. Vervolgens zullen wij in het tweede weekend van juni met een Nederlandse afvaardiging naar Leipzig gaan. Binnenkort zal er meer informatie hierover beschikbaar zijn op de site.
Uiteindelijk zal er op 6 maart nog de finale van het PCE plaatsvinden. Dezelfde avond zal ook het jaarlijkse Hygeia diner zijn, waar jullie je ook voor kunnen inschrijven.

Het thema van deze Folia is 'Biotechnologie', een breed onderwerp, aangezien het historisch gezien veel ontwikkelingen heeft gemaakt. De klassieke biotechnologie, waar het fokken van dieren en planten onder valt, bestaat al eeuwen. De moderne biotechnologie is daarentegen een wetenschap die pas sinds enkele decennia bestaat en doorbrak toen het mogelijk werd DNA te analyseren en te modificeren. Verder heeft deze technologie ook grote invloed op de samenleving en is het een terugkerend onderwerp op de maatschappelijke agenda. Deze Folia belooft dus wederom erg interessant te worden, waarbij wetenschappelijke en maatschappelijke onderwerpen aan bod komen. Ik wil jullie dan tot slot nog veel leesplezier wensen!

Met vriendelijke groet,

Namens het 106de bestuur der K.N.P.S.V.

Eveline Richert
h.t. voorzitter

PHARMACIAE SACRUM

Geachte leden der K.N.P.S.V.,

Woensdag 11 februari werden Pharmaciae Sacrum en de K.N.P.S.V. opgeschrikt door het tragische ongeval dat Josien den Hartog trof. Bij een verkeersongeval kwam zij om het leven. De activiteiten die gedurende de rouwperiode op de planning stonden, zijn geannuleerd. Op de faculteit lag in een speciale ruimte een condoléanceregister, waar belangstellenden bijeen konden komen. Daarnaast hebben de website en de LCD-schermen op de faculteit een week lang een 'In Memoriam' voor Josien vertoond. Namens Pharmaciae Sacrum wil ik de nabestaanden sterkte toewensen.

Dit nummer van de Folia Pharmaceutica gaat over 'Biotech'. In de 20e eeuw was biotechnologie een opkomend fenomeen, in de 21e eeuw is het dit nog steeds. De laatste jaren gebeurt er veel op het gebied van genetische manipulatie. Hierdoor woedt er ook al tijden een discussie over wat allemaal mogelijk is en of dit wel ethisch verantwoord is. De ontrafeling van het individuele genenprofiel biedt schitterende kansen om gericht medicatie toe te dienen. Het brengt bijvoorbeeld de mogelijkheid met zich mee om al voor de geboorte te onderzoeken of het kind wel gezond wordt. Hier zit hem echter ook het probleem. Kun je dit eigenlijk wel doen? En is het wel wenselijk een 'supermens' te creëren? Hoe dan ook, de biotechnologie is een interessant onderdeel.

Ik wens u dan ook veel plezier bij het lezen van dit nummer van de Folia Pharmaceutica. Daarnaast hoop ik u binnenkort te ontmoeten op één van de activiteiten van de K.N.P.S.V. of van Pharmaciae Sacrum.

Met vriendelijke groet,

Namens het 127e bestuur der G.F.S.V. "Pharmaciae Sacrum",

Maarten Boon
h.t. praeses

„AESCULAPIUS"

Waerde leden der K.N.P.S.V.,

De Folia die voor u ligt, heeft deze keer een meer wetenschappelijk thema. Als Leidenaar kan ik u een lange uiteenzetting voorleggen hoe verheugd ik hierover ben, maar ik denk dat het voor zich spreekt.
De biotechnologie is een tak van de industrie waar een ieder elke dag mee in aanraking komt. Is het niet via farmaceutische middelen, dan is het wel via het voedsel wat u elke dag voor uw neus krijgt voorgeschoteld. Deze tak is erg breed georiënteerd, hoewel onze generatie deze term vooral gebruikt om te refereren naar het genetische manipuleren van processen die ons (bio-) farmaceuten een stap verder helpen. Laatstgenoemde was ook wat bij mij als eerste te binnenschoot. Maar na wat research kwam ik erachter dat de biotechnologie dichterbij is dan men denkt. Traditionele processen, zoals het maken van yoghurt met behulp van melkzuurbacteriën en het bedekken van brie met schimmels, bestonden al voordat men wist dat DNA te beïnvloeden was. Maar het belangrijkste proces voor ons als leden van een studievereniging is het brouwen van bier! Ook dit valt onder de noemer biotechnologie, iets wat toch als laatste in mij op zou komen.
Mensen staan vaak negatief tegenover dit onderwerp, terwijl zij, net als ik, niet weten wat deze

technologie inhoudt. Met een betere informatiestroom zou dit veranderd kunnen worden. Misschien kunnen we de negatieve kijk wegspoelen met het product van zo'n proces. Ideetje om dit te opperen bij een van de vele belangenorganisaties? Hoe men het wendt of keert, de biotechnologie wordt met de jaren belangrijker en ik denk dat het niet meer zal verdwijnen uit het onderzoeksgebied.
Na toch een uiteenzetting over het belang van de biotech geschreven te hebben rest mij u veel leesplezier te wensen en hoop ik u te mogen begroeten op activiteiten van de K.N.P.S.V. of in het schone Leidsche.

Vivat, Crescat, Floreat, „Aesculapius"!

Namens het 123e bestuur der L.P.S.V. „Aesculapius" 'Zwaanzinnig',

Tatjana Zwaans
h.t. praeses aesculapii

UNITAS PHARMACEUTICORUM

Waarde leden der K.N.P.S.V.,

Je toekomst hangt af van wat je er zelf van maakt, beginnend bij vandaag. De student Farmacie is zes jaar en dikwijls langer op weg naar zijn of haar bul. Deze weg is goed geplaveid en ieder jaar wordt geprobeerd deze wederom te verbeteren. Het is de kunst de koers in deze tijd zo te selecteren dat het genieten een voorname rol speelt. Elkeen student stelt zichzelf doelen. Een doel is de wegwijzer van het leven maar als je er bent, geniet er dan van. Allengs zal een herinnering dan een vorm van ontmoeting betekenen. Gaandeweg zal het terugkijken op de Folia voor de huidige commissie een ontmoeting betekenen, een ontmoeting van het streven naar de voortzetting van een stijgende lijn die zij aan het begin van hun jaar hebben ingezet.
Aangekomen bij het thema van dit nummer verwijst ondergetekende U graag naar zijn voorwoord in de UP to Date. Er bestaat namelijk een evident causaal verband tussen beide.
In het Stichtse staat het leven niet stil, om alleen al te fantaseren over de onwerkelijk mooie 23ste almanak die 18 februari voor het eerst het daglicht zal mogen aanschouwen. Het is een artistieke uitspatting die mettertijd met genoegen geresumeerd zal worden.
Verscheidene activiteiten zijn de revue gepasseerd en voor de

Farmaceuten die zich vertoeven in het Stichtse ligt de komende maanden een mooie toekomst te wachten. De buitenlandexcursie schittert aan de horizon en als vanzelfsprekend nog diverse andere sfeervolle activiteiten. Ondergetekende hoopt u dan ook op een van deze activiteiten te mogen begroeten.

Met vriendelijke groet,

Namens het 114e bestuur der U.P.S.V. "Unitas Pharmaceuticorum",

Rick Henderik
h.t. praeses

Agenda

K.N.P.S.V.

Maart

6 maart	Finale PCE
6 maart	Hygeia activiteit
21 maart	Voorjaarsdag

April

4 april	Dag van de Farmaceutische Industrie
20-26 april	Annual Congres EPSA

Pharmaciae Sacrum

Maart

2 maart	STOF-vergadering
3 maart	P.S.-borrel
16 maart	Carrièredag
17 maart	EFC-feest
24 maart	ALV

April

1 april	SSS Eerstejaarssymposium
6 april	STOF-vergadering
6 april	SSS Ouderejaarssymposium
7 april	P.S.-borrel
30 t/m 5 april	BEC

„Aesculapius"

Maart

5 maart	Panacea sportactiviteit
9 maart	Middagsymposium
11 maart	Bètabanenmarkt
11 maart	Kandidaatbestuur onthullingsfeest
17 maart	DDB
23 maart	Buitengewone ALV

April

14 april	TDB
19-25 april	Buitenlandse Excursie

Unitas Pharmaceuticorum

Maart

2 maart	U.P.-borrel
2 maart	Studiecommissie bijeenkomst
3 maart	OPG ouderejaars excursie
7 t/m 14 maart	Bestuursvakantie
16-17 maart	Mosadex excursie
18 maart	EFC themafeest

April

6 april	U.P.-borrel
6 april	Studiecommissie bijeenkomst
12-19 april	Buicie
22 april	ABN-Amro avond symposium

K.N.P.S.V. -LIED

Wij allen farmaceuten
Door 't zelfde doel vereend
Gaan samen in ons streven
Gaan saam' in lief en leed
Steeds hechter wordt de band toch
Die ons reeds vroeg verbindt
Dank 't schoon vereen'gingsleven
Waar elk zijn steun bij vindt.

Vier universiteiten
Tot een geheel gemaakt
Dat door zo vele krachten
Gewis tot bloei geraakt
Amsterdam, Utrecht, Leiden
En Groningen telt mee
Waar 't geldt de samenstelling
Van de K.N.P.S.V.

Nu zijn wij nog studenten
Van alle zorgen vrij
Vergeten wij de toekomst
En zetten leed opzij
Komt laat ons allen vieren
Ons jaarfeest blij tevree
't Heden van ons allen
De K.N.P.S.V.

D. van Os, 1910

Sander van Rijn, Commissaris Algemene Zaken der K.N.P.S.V.

Gentherapie

Hope of deliverance

In de jaren '60-'70 werd al voor het eerst het idee geopperd om genen als geneesmiddel te gebruiken, maar de behaalde resultaten sindsdien zijn teleurstellend. Dit is de afgelopen jaren de standaard inleiding van teksten over gentherapie geweest. Al jaren. Maar blijkbaar blijft het de gemoederen prikkelen. Zijn het de wetenschappers die hun irreële verwachtingen moeten bijstellen of wordt het tijd dat het publiek dit doet?

Door Ethlinn VB van Gaal
PhD-student, Department of Pharmaceutics, Utrecht Institute for Pharmaceutical Sciences

Het principe: DNA maakt eiwit maakt beter

Gentherapie is het introduceren van genetisch materiaal in doelweefselcellen met als doel het tot expressie brengen van een therapeutisch eiwit. Dit eiwit kan corrigeren voor een bestaand, maar defect eiwit, of dienen als supplement voor een ontbrekend eiwit (bijvoorbeeld voor de behandeling van cystic fibrosis waarbij een ontbrekend eiwit de vorming van taai slijm in de luchtwegen veroorzaakt). Ook kan een eiwit worden gekozen dat een toxisch effect teweeg brengt en ervoor kan zorgen dat de cellen (en hun omgeving) vernietigd worden na het tot expressie brengen van het afgeleverde gen. Deze zogenaamde "suicide gene therapy" kan gebruikt worden voor het bestrijden van kankercellen. Daarnaast kan DNA gebruikt worden dat codeert voor antigenen die een immuunrespons opwekken en zo als vaccin dienen.

Er bestaan twee vormen van gentherapie: somatische gentherapie en kiembaan-gentherapie. In Nederland is alleen de somatische variant toegestaan waarbij alleen lichaamscellen (en geen geslachtscellen) betrokken zijn en er geen sprake is van effecten op het nageslacht.

Ashanthi DeSilva and Jesse Gelsinger

Ashanti DeSilva lijdt aan Severe Combined Immune Deficiency (SCID), een zeer ernstige erfelijke aandoening waarbij blootstelling aan elk micro-organisme een serieuze bedreiging vormt. Zonder behandeling zou Ashanti enkel overleven als ze geïsoleerd van de buitenwereld door het leven zou gaan, zoals een vergelijkbare patiënt genaamd David, alias "the Boy in the Bubble". Ashanti werd echter in 1990 op 4-jarige leeftijd behandeld met gentherapie waarbij een gen werd ingebracht in een deel van haar witte bloedcellen. Bijna 20 jaar later gaat het nog steeds goed met haar en al is er discussie over de relatieve rol van gentherapie en die van haar voortdurende enzymbehandeling, Ashanti lijkt het eerste levende bewijs van geslaagde gentherapie.

Jesse Gelsinger leed aan ornithine transcarboxylase deficientie (OTCD), een zeldzame genetische afwijking waardoor de lever het bloed niet goed kan zuiveren. In 1999 werd Jesse op 18-jarige leeftijd behandeld met gentherapie waaraan hij 4 dagen later overleed. De oorzaak van deze fatale complicatie was een extreme immunologische reactie op het virus waarmee het gen was toegediend.

Ashanti en Jesse zijn slechts 2 voorbeelden uit de grote groep patiënten die inmiddels met gentherapie zijn behandeld maar ze illustreren 2 belangrijke aspecten:

1. de wetenschappelijke basis voor gentherapie is gelegd met de genezing van Ashanti, en andere patiënten na haar;
2. het risico van gentherapie werd benadrukt met de dood van Jesse, en ernstige neveneffecten in patiënten na hem. De risico's blijken niet zozeer verwant aan het therapeutisch gen, als wel aan de gekozen formulering (virus).

Een grote (zo niet de grootste) uitdaging voor succesvolle gentherapie is op dit moment dus het ontwikkelen van een goede formulering: hoe kan het DNA efficiënt en tevens veilig worden afgeleverd op de plak van bestemming?

Delivery, delivery, delivery

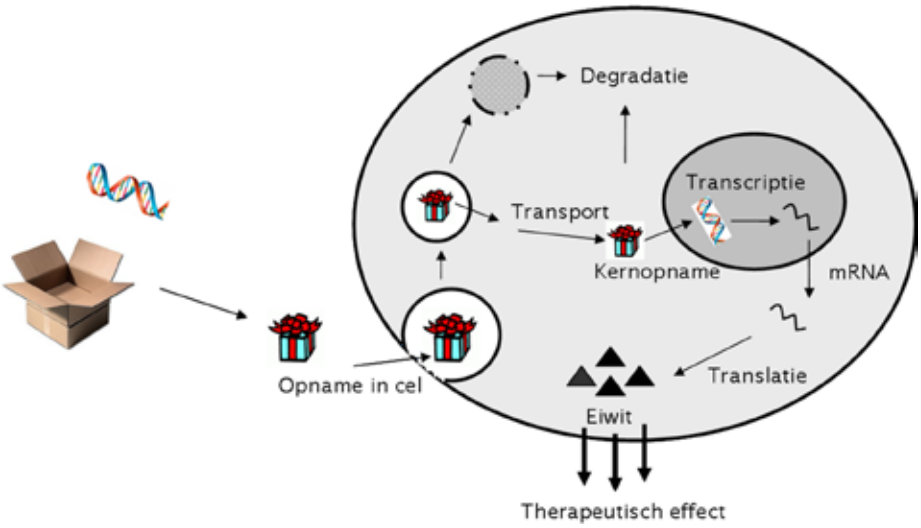
De meest voor de hand liggende keuze voor het afleveren van therapeutisch DNA is om het in een virus te verpakken. Virussen hebben tenslotte een lange evolutie doorgemaakt om erin te slagen hun genetisch materiaal in cellen af te leveren en tot expressie en/of gerepliceerd te krijgen. Helaas hebben de voorbeelden uit het verleden geïllustreerd welke risico's het gebruik van virale dragers met zich meebrengt. Eén gevaar is het opwekken van ernstige immuunreacties tegen (componenten van) virussen. Een ander risico is het ontstaan van insertionele mutagenese: het ontstaan van mutaties in het chromosomaal DNA door integratie van het virale DNA in oncogenen. Een mogelijke benadering om tot minder gevaarlijke formuleringen is het uitkleden en modificeren van virussen zodat ze hun vermogen om DNA op de plaats van bestemming af te leveren behouden, maar hun pathogene eigenschappen kwijtraken ('dress down'). De andere optie is het stapsgewijs opbouwen van een

synthetische drager die de cruciale eigenschappen van virussen kopieert ('dress up'). Er wordt veel onderzoek gedaan naar de ontwikkeling van synthetische dragers, oftewel niet-virale carriers, omdat deze relatief veilig en goedkoop zijn en in principe onbeperkte mogelijkheden voor optimalisatie bieden. Omdat de carrier veel verschillende eigenschappen moet combineren, zal hij uit verschillende modules moeten worden opgebouwd (zie figuur 1).

De eerste module bestaat uit de backbone van de drager: deze moet interactie aangaan met het DNA zodat het DNA gecondenseerd wordt in een klein, positief geladen deeltje waarin het DNA beschermd is tegen degradatie van buitenaf. Vanzelfsprekend moet de toxiciteit van de drager gering zijn. Een verscheidenheid aan molekulen wordt onderzocht voor hun geschiktheid als backbone: polymeren, lipiden, peptiden, eiwitten of combinaties hiervan worden getest op zoek naar de optimale samenstelling en karakteristieken, met wisselende resultaten.

De tweede module is gericht op interacties van het deeltje met de omgeving: er wordt gezocht naar een balans tussen stabiliteit en inertie in extracellulaire matrix enerzijds en optimale interactie met de doelweefselcellen anderzijds. Zo kan het aanbrengen van een hydrofiele laag om het deeltje (bijvoorbeeld een polyethyleenglycol-coating) aspecifieke interactie met eiwitten verminderen, terwijl koppeling van een targeting ligand kan zorgen voor receptorgemedieerde opname in specifieke celpopulaties.

De derde module behelst het intracellulaire transport: na opname moeten de deeltjes vrijkomen uit de endosomen, door het visceuze cytosol richting de kern bewegen (en hierbij niet afgebroken worden door nucleases) en het DNA afleveren in de celkern. In dit kader wordt onderzoek gedaan naar het gebruik van peptiden die door



Figuur 1: De opeenvolgende stappen die nodig zijn voor succesvolle expressie van een therapeutisch gen

fusie met membranen deeltjes uit de endosomen kunnen vrijmaken, liganden die ervoor kunnen zorgen dat de deeltjes via de "normale" transportroutes binnen de cel (de microtubuli) kunnen voortbewegen, en structuren die herkend worden door eiwitten in de cel die verantwoordelijk zijn voor het transporteren van molekulen naar de kern (door middel van nuclear localisation signals).

Het voert hier te ver om in te gaan op alle ontwikkelingen in het optimaliseren van elk van deze modules. Maar wat belangrijk is, is dat de technologische ontwikkelingen op het gebied van cellulaire analyse in de afgelopen jaren het nu steeds beter mogelijk maken om het effect van deze modules te bestuderen. En dat opent de deuren naar het rationeel ontwerpen van modulaire carriersystemen.

Meten is weten

De ontwikkeling van formuleringen voor gentherapie was tot op heden voornamelijk gebaseerd op trial-and-error en dit is niet erg efficiënt. Een belangrijke beperking was het ontbreken van analytische technieken om het afgifteproces proces te bestuderen. Zoals in figuur 1 weergegeven bestaat het proces bestaat uit vele stappen: het vormen van geschikte deeltjes, binding aan en opname in cellen, afgifte van deeltjes uit endosomen naar het cytosol, intracellulair transport, kernopname, transcriptie, translatie -> eiwit. Wat onderzocht werd was echter:

formulering+cel → [redacted] *→ eiwit expressie*

Een gebrek aan inzicht in de processen die zich in de black box afspelen, maakt het vrijwel onmogelijk om rationele verbeteringen aan te brengen aan de formulering. Om deze processen te kunnen bestuderen zijn echter zeer geavanceerde en gevoelige technieken vereist omdat alles zich op het niveau van individuele cellen of zelfs individuele deeltjes afspeelt. In de afgelopen jaren is hier gelukkig veel werk aan verricht zodat het nu mogelijk is om:

-Deeltjes te lokaliseren in een individuele cel: zowel de deeltjes als cellulaire structuren kunnen fluorescent gelabeld worden en vervolgens met fluorescentiemicroscopie met hoge resolutie bekeken worden. Het is ook mogelijk om scans door een cel te maken en hieruit een 3D-beeld af te leiden.

-Transportprocessen real-time in levende cellen te volgen: door de hierboven genoemde techniek te gebruiken, maar nu levende cellen een tijd lang waar te nemen (live cell imaging).

-De afgeleverde dosis DNA te kwantificeren (of correcter: te

benaderen) door middel van real-time PCR op cellen of fracties hiervan.
-Inzicht te verwerven in samenstelling van deeltjes in biologische systemen: bestuderen van het gelijktijd voorkomen van diverse fluorescent gelabelde moleculen op dezelfde locatie (Fluorescence Correlation Spectroscopy, Fluorescence Resonance Energy Transfer, Single-Particle Tracking).

Zet niet te hoog in

Het doel wat men oorspronkelijk voor ogen had met gentherapie was het afleveren van DNA coderend voor een therapeutisch eiwit. Het therapeutische DNA wordt meestal aangeboden in de vorm van plasmid DNA; het cirkelvormige DNA dat in bacteriën voorkomt en in de regel gebruikt wordt voor recombinant-DNA technologie. Het voordeel van plasmiden is dat ze stabiel en relatief ongevoelig voor enzymatische degradatie zijn. Het nadeel is echter dat ze groter zijn dan het benodigde gen met bijbehorende expressiecassette. De grootte is zeer belangrijk in het afleverproces omdat het de opname in de cel, het transport binnen de cel en de opname in de kern beïnvloedt. Opname in de kern vereist zeer kleine deeltjes omdat de poriën in de kernmembraan maximaal 39 nm groot kunnen worden. Deze stap wordt dan ook doorgaans als grootste barrière voor succesvolle genaflevering beschouwd.
Er zijn echter alternatieven te bedenken waarmee naar verwachting op kortere termijn successen te boeken zijn. Zo kan gekozen worden voor het bestuderen van veel kleinere DNA-fragmenten, zogenaamde oligonucleotiden, die in vele opzichten beter te bestuderen zijn en daarom tot belangrijke nieuwe inzichten kunnen leiden. Therapeutisch gezien zijn oligonucleotiden interessant omdat ze zo ontworpen kunnen worden dat ze een gen in het genoom van een gastheercel kunnen herkennen en binden. Deze zogenaamde triple-helix vorming zorgt dat het betreffende gen niet langer afgelezen kan worden en niet langer functioneel is.
De expressie van een geselecteerd eiwit kan ook op RNA-niveau geremd worden. Dit kan door middel van antisense RNA dat bindt aan mRNA en zo translatie van mRNA in eiwit belemmert. Ook kan siRNA (short interfering RNA) gebruikt worden, dat er met behulp van een cellulair enzym voor zorgt dat het mRNA niet alleen gebonden, maar ook afgebroken wordt. Dit biedt om een aantal redenen perspectieven: 1) het proces komt van nature voor en derhalve is de slagingskans groter, 2) het RNA is vele malen kleiner dan de DNA-molekulen die doorgaans afgeleverd moeten worden, 3) RNA heeft zijn effect in het cytosol en vereist geen transport tot in de celkern.

Zijn de behaalde resultaten sinds de jaren 70 teleurstellend? Misschien wel ten opzichte van de verwachting snel een wondermiddel te ontwikkelen voor een scala aan ernstige genetische aandoeningen en kanker. Dat is (nog) niet gelukt. Maar wat is er wel bereikt: een scala aan afgeleide toepassingen, ontwikkeling van technologieën die gedegen onderzoek en rationeel ontwerp mogelijk zullen maken en een sterk vergroot inzicht in de fysiologie en verdediging van de cellen in ons lichaam. Cellen doen er alles aan om vreemd DNA te herkennen, afbreken en uit hun kern te weren. En dat is maar goed ook.

Voor vragen of informatie over mogelijkheden voor stageplekken: e.v.b.vangaal@uu.nl

Kritieke momenten

1953 : ontdekking structuur DNA (James Watson en Francis Crick)
1958 : central dogma: "DNA makes RNA makes protein" (Francis Crick)
1968 : ontdekking eerste restrictie enzym
1970 : ontdekking reverse transcriptase (Howard Temin/ David Baltimore)
1972 : Science publiceert het eerste artikel waarin de mogelijkheid voor gentherapie wordt behandeld
1973 : recombinant DNA technologie (Stanley Norman Cohen en Herbert Boyer)
1977 : ontdekking DNA sequencing (Frederik Sanger/ Walter Gilbert)
1986 : ontwikkeling polymerase chain reaction (PCR; Kary Mullis))
1990 : start Human Genome Project (voor 99 % afgerond in 2003)
1990 : eerste goedkeuring van gentherapie voor de behandeling van Severe Combined Immune Deficiency (SCID) met gen voor adenosine deaminase (ADA)
1999 : 18-jarige Jesse Gelsinger overlijdt aan behandeling met gentherapie door een extreme immuunreactie op het adenovirus (verkoudheidvirus) waarmee het gen werd afgeleverd
1998 : start klinische trial gentherapie voor de behandeling van X-SCID
2000 : eerste genezing met behulp van gentherapie bij een X-SCID patiënt. Ruim 2 jaar na de behandeling blijken echter 3 kinderen leukemie te ontwikkelen van wie er 1 overlijdt.
2003 : registratie eerste gentherapeuticum: GendicineTM (SiBiono GeneTech, China)
2006 : tweede registratie: Oncorine™ (Sunway Biotech, China)

PREFERRED BANKING VOOR MEDICI: UW EIGEN SPECIALIST VOOR AL UW FINANCIËLE ZAKEN

ALSOF UW FINANCIËN EEN BEHANDELING KRIJGEN

Bij medici lopen zakelijk en privé vaak in elkaar over. ABN AMRO biedt daarom persoonlijke dienstverlening die uw zakelijke en privéfinanciën integreert: Preferred Banking voor Medici. Onze gespecialiseerde adviseurs kennen de medische wereld goed en anticiperen daardoor snel op veranderingen. En daar hebt u in alle fasen van uw medische loopbaan voordeel van. Want of u nu een huis koopt, een praktijk start, een samenwerkingsverband aangaat of juist uw praktijk overdraagt, uw persoonlijke Preferred Banker regelt het. Alsof uw financiën een behandeling krijgen. Meer informatie over de services van ABN AMRO Preferred Banking voor Medici vindt u op **www.abnamro.nl/medici.** Voor het maken van een afspraak kunt u contact opnemen met een van onze specialisten op telefoonnummer: 030 - 2327919.

Meer mogelijk maken ABN·AMRO

BEHANDELING VAN MS

Behandeling van Multiple Sclerose met Natalizumab en andere immuunmodulantia

Multiple Sclerose is een vaak op jonge leeftijd beginnende, nog onbegrepen ziekte van het centrale zenuwstelsel. Tot begin jaren negentig was er geen bewezen werkzame therapie. Sindsdien zijn immuunmodulerende medicamenten op de markt gebracht met enig effect op vermindering van exacerbaties, maar hun effectiviteit op het echte probleem van een ms patient, namelijk voorkoming van invaliditeit, blijft onbewezen.

Door J.P.Schipper, neuroloog Bethesda ziekenhuis Hoogeveen

Inleiding

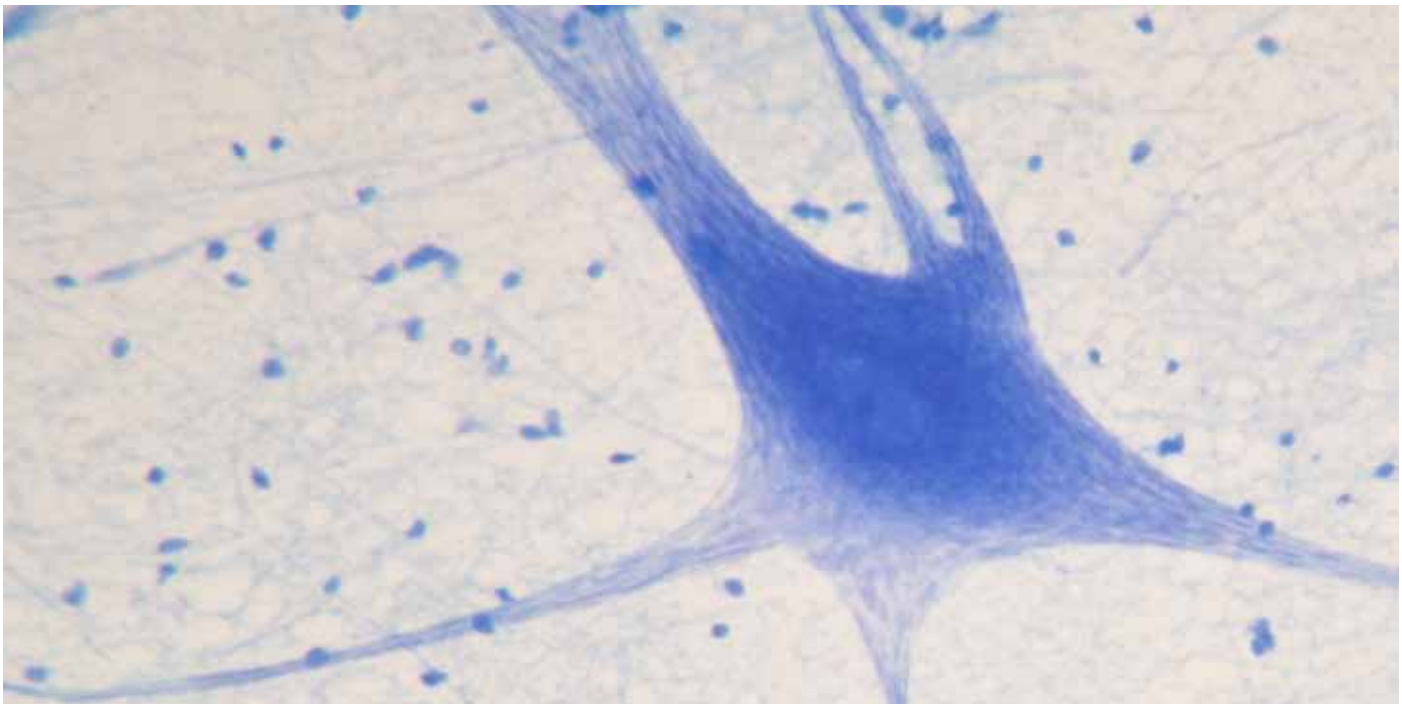
Multiple Sclerose (MS) is een zeer frequent voorkomende chronische ziekte van jonge mensen. De prevalentie in Nederland wordt geschat op 16000 patiënten. MS wordt meestal onderverdeeld in 3 typen, afhankelijk van het klinische beloop: Relapsing Remitting MS (RRMS), de secundair progressieve MS en de primair progressieve MS. RRMS is de meest voorkomende vorm (85%). Dit is de vorm waarbij MS neurologische uitvalsverschijnselen geeft gedurende enkele weken (exacerbaties genaamd) gevolgd door verbetering en symptoomvrije periode. De gemiddelde leeftijd waarop RRMS ontstaat is 29 jaar. Deze RR-fase duurt gemiddeld 19 jaar, daarna volgt vaak een langzaam progressieve verslechtering. Alvorens patiënten langdurig met dure, met bijwerkingen gepaardgaande medicijnen te behandelen is het belangrijk te weten hoe het natuurlijke beloop van de ziekte MS is. MS kan bij 20% van de RRMS patienten mild verlopen. De ziekte kan echter ook tot ernstige invaliditeit leiden.Het voorspellen hiervan is echter nog steeds niet goed mogelijk.

Oorzaak van Multiple Sclerose

De oorzaak van MS is nog steeds onbekend. Vanzelfsprekend zijn derhalve veel speculaties mogelijk. De meeste auteurs beschouwen het ontstaan van ontstekingachtig plekjes in de witte stof van de hersenen als primair centraal gebeuren. De meest gangbare hypothese is dat bij een genetisch gepredisponeerde patient door bv een infectie de integriteit van de bloed-hersenbarriere wordt aangetast. Adhaesiemoleculen kunnen het endotheel van de vaatwand moduleren waardoor leukocyten de hersenen binnen kunnen treden. Er ontstaat vervolgens een infiltraat met destructieve werking op de hersencellen. In het begin van de ziekte MS overheerst de inflammatoire fase, later vooral een degeneratieve fase. Een van de meest intrigerende enigma's bij MS is echter hoe het verband is tussen de ontstekingsachtige fenomenen in het begin van de ziekte en de later optredende degeneratie van de hersencellen hetgeen de uiteindelijke handicap van een MS patient bepaalt. Het oplossen van deze vraag geeft dan ook misschien een antwoord op de vraag of MS inderdaad een (auto)immunologische ziekte is met secundaire degeneratie.

Ziekte verschijnselen

De symptomen en tekenen van MS zijn zeer variabel en talrijk. De



klinische verschijnselen hebben (mogelijk) verband met het ontstaan van nieuwe ontstekingsachtige plekjes in het centrale zenuwstelsel of met voortschrijdende zenuwcel beschadiging. De meest bekende beginsymptomen van MS zijn: zwakte in een of meerdere ledematen, oogzenuw-ontsteking, tintelingen, dubbelzien, duizeligheid, balans stoornissen en overige klachten. Ook het teken van l'Hermitte (elektrisch gevoel langs rugwervels bij flecteren van nek) is op jongere leeftijd regelmatig uiting van MS. Bij een RRMS zullen bovenvermelde klachten na enkele weken weer (deels) verbeteren, bij PPMS helaas niet.

Therapie

Vrijwel alle therapie bij MS richt zich op de beginfase van RRMS wanneer er nog sprake is van aanvallen van verergeringen en verbeteringen. Er komen dan namelijk nog veel ontstekingsachtige MS fenomenen voor die nog enigszins zijn te beinvloeden door remmers van ontstekingsachtige activiteiten. De (onbewezen) hypothese is dat als deze inflammatoire activiteit zo vroeg mogelijk wordt behandeld dan de uiteindelijke invaliditeit verminderd of voorkomen wordt. Bij de secundair en bij de primair progressieve MS ontbreekt een bewezen ziekte-beinvloedende therapie. Wel is er vanzelfsprekend symptomatische therapie mogelijk bv behandeling van spasticiteit en pijn.

Corticosteroïden

Sinds de jaren tachtig van de vorige eeuw is het nog steeds gebruikelijk om Methylprednisolon, 5 dagen 500 mg iv of 3 dagen 1000 mg iv te geven. Dit bekort en verzacht een exacerbatie. Lange termijn effecten zijn echter niet aangetoond. Het exacte werkingmechanisme is onbekend.

Interferonen en glatirameer

Begin jaren negentig kwamen de zogenaamde immuunmodulerende medicijnen op de MS markt. In de kontekst van MS betekent dit dat dit voor het eerst medicijnen waren die het (vermeende) ontstekingsachtige proces van MS beinvloedden. Uit meerdere (kort durende) trials bleek namelijk dat RRMS patienten hiermee een bescheiden vermindering (ongeveer 30%) hadden van aantal exacerbaties. Bescheiden effectief, omdat een gemiddelde RRMS patient 6 jaar deze middelen moet gebruiken om één exacerbatie te voorkomen, ervan uit gaande dat de frequentie van exacerbaties 1 per 2 jaar is. Meerdere trials zijn inmiddels ook verschenen waarbij deze middelen al bij een allereerste exacerbatie zijn gegeven met als controle groep patienten die later startten. De indruk bestaat dat voorkomen van invaliditeit door vroeg te starten tov later starten met deze middelen niet overtuigend is aangetoond. Er bestaan ook langere termijn studies met deze middelen die echter niet voldoen aan acceptabel evidence based medicine. Dit komt omdat er bv niet meer sprake is van randomisatie of verricht zijn zonder juiste controle-groepen. Derhalve is niet duidelijk aangetoond dat deze medicamenten op termijn werkzaam zijn en invaliditeit daadwerkelijk voorkomen of uitstellen. Alvorens deze middelen voor te schrijven is het dus belangrijk om met de patient alle details te bespreken en gezamenlijk de beslissing te nemen.

Natalizumab

Duidelijk is dat er behoefte bestond aan betere MS medicatie. Derhalve werd begin 2000 hoopvol uitgekeken naar een geheel nieuwe vorm van MS behandeling, namelijk met monoklonale antilichamen. Het meest spraakmakende middel was Natalizumab.

Natalizumab is een gehumaniseerd monoklonaal antilichaam, dat met behulp van recombinant-DNA-technologie in een muriene cellijn wordt geproduceerd.Het is gericht tegen de α4-subunit van α4β1-(bekend als 'very late antigen'; VLA-4) en α4β7-integrine. α4-integrinen bevinden zich op alle witte bloedcellen, met uitzondering van neutrofiele granulocyten. Ze binden zich aan receptoren op endotheelcellen (vasculaire-celadhesiemolecuul;VCAM-1). Deze binding is een noodzakelijke stap voor lymfocyten om het centrale zenuwstelsel binnen te dringen. Natalizumab bindt zich aan de α4-subunit van de integrinen en voorkomt zo de transmigratie van witte bloedcellen door het endotheel. De vraag is vanzelfsprekend of deze veronderstelde werkzaamheid zich ook vertaalt in klinische werkzaamheid. In maart 2006 zijn de resultaten verschenen van 2 grote (gesponsorde) MS-trials met natalizumab genaamd AFFIRM en SENTINEL. Beide trials onderzochten 2 jaar lang patiënten met de meest voorkomende vorm van MS, RRMS. De 2 jaar durende, dubbelblinde, gerandomiseerde AFFIRM trial omvatte 942 RRMS-patiënten van 18-50 jaar oud met tenminste 1 exacerbatie in het voorafgaande jaar. De patiënten lootten een behandeling met natalizumab of met placebo. Er waren zowel na 1 als na 2 jaar meerdere vergelijkbare primaire en secundaire onderzoeksuitkomsten. Echter, alleen na 2 jaar was de primaire uitkomst 'progressie van invaliditeit'. Secundaire uitkomsten na 2 jaar waren onder andere het aantal exacerbaties en MS-laesieveranderingen op een MRI-scan van de hersenen. In de natalizumabgroep hadden 17% van de patiënten en in de placebogroep 29% uiteindelijk een lichte progressie van invaliditeit na deze 2 jaar behandeling ($p < 0,001$). Na 2 jaar behandeling met natalizumab had 28% van de patiënten één of meerdere exacerbaties, tegenover 54% in de placebogroep($p < 0,001$). Het aantal MRI-afwijkingen van de hersenen daalde significant tijdens behandeling met natalizumab.

De tweede trial (SENTINEL) betrof 1196 patiënten met RRMS met een leeftijd van 18-55 jaar met tenminste één exacerbatie onder behandeling met interferon beta-1a in het jaar voorafgaande aan de trial.6 Ook dit was een dubbelblinde, placebogecontroleerde trial. Patiënten kregen ofwel placebo met interferon beta-1a ofwel natalizumab met interferon beta-1a. Na 2 jaar was de primaire uitkomstmaat achteruitgang van de invaliditeit en secundaire uitkomsten waren onder andere het aantal exacerbaties en veranderingen van MS-laesies op een MRI-scan van de hersenen. Er was een zeer geringe progressie van de invaliditeit bij 23% in de groep die interferon beta-1a met natalizumab gebruikte en bij 29% van de groep met interferon beta-1a en placebo

(p < 0,001). Van de patiënten die natalizumab met interferon beta-1a gebruikten, had 39% één of meerdere exacerbaties
na 2 jaar behandeling, tegenover 63% van de patiënten met interferon beta-1a met placebo, eveneens een significant verschil (p < 0,001).
Beide trials toonden dus werkzaamheid aan van natalizumab op vermindering van exacerbaties en in mindere mate op voorkoming van invaliditeit, bij onderzoek gedurende echter maar 2 jaar.

Bijwerkingen van Natalizumab
Direct na het afronden van deze trials bleken 3 patienten door natalizumab de (in principe dodelijke) ziekte Progressieve Multifocale Leuco-encephalopathie (PML) te hebben gekregen. Recent zijn weer 3 gevallen beschreven onder monotherapie natalizumab. PML is een ziekte van het centrale zenuwstelsel veroorzaakt door een infectie met het JC-virus, een Papovavirus. Van alle volwassenen is 70-80% met dit virus geïnfecteerd, maar de ziekte ontstaat alleen bij mensen met stoornissen van het immuunsysteem. Geschat wordt dat 1 op de 1000 patienten die natalizumab gebruiken deze ziekte krijgen. Echter volgens Amerikaanse onderzoekers is het een kwestie van tijd dat meer patienten met deze ernstige bijwerking zullen opduiken.
Andere beschreven bijwerkingen van natalizumab zijn ontstaan van opportunistische infecties, leverfunctie stoornissen en verhoogde kans op melanomen. Recent werd ook bekend dat patienten die voortijdig stopten met gebruik van natalizumab toename hadden van ontstekingsachtige haarden op hun magneetscan van de hersenen. Dit doet suggereren dat natalizumab MS alleen tijdelijk onderdrukt, maar niet geneest.
Na het bekend worden van de bijwerkingen is natalizumab door de FDA tijdelijk van de markt gehaald. Maanden later mocht het toch weer geintroduceerd worden, wel met veiligheidsprogramma's ter opsporing van de bijwerkingen van natalizumab. De FDA heeft niet als eis gesteld om ook de klinische effectiviteit van natalizumab te monitoren.

Plaatsbepaling en kritische beoordeling van Natalizumab
Gezien de mogelijke zeer ernstige bijwerkingen van natalizumab mag dit middel pas gegeven worden bij patienten die zeer actieve MS houden ondanks gebruik van interferon of glatirameer. Niet duidelijk is bewezen dat natalizumab veel beter werkzaam is als interferon omdat monotherapie met natalizumab nooit rechtstreeks vergeleken is met interferon. Alleen door indirect bewijs lijkt natalizumab iets beter te zijn. Duidelijk is wel dat door natalizumab tijdelijk? het aantal exacerbaties vermindert. Hoe belangrijk dat is voor de voortschrijdende ziekte MS is onduidelijk. De SENTINEL trial toont namelijk aan dat er op het (voor patienten belangrijkste) eindpunt invaliditeit de combinatie natalizumab met interferon slechts gering beter scoorde dan interferon alleen. Voor zover bekend lopen thans geen natalizumab trials meer volgens het principe van prospectieve gerandomiseerde dubbelblinde langdurige objectieve onderzoekingen. Wel zogenaamde "open label" trials en bv "quality of live" studies met natalizumab, die ons echter niets leren over de echte objectieve langdurige werkzaamheid.

Mitoxantron , immuunsuppressieve therapie
Bij snel progressieve MS, niet reagerend op gangbare therapie worden in Nederland sporadisch mitoxantron of immuunsuppressieve therapie gegeven. Er zijn weinig bewijzen voor langdurige werkzaamheid maar wel voor vaak ernstige bijwerkingen.

Conclusie
Vrijwel alle recente MS trials onderzoeken nieuwe medicatie gedurende 2, hooguit 3 jaar op wetenschappelijk aanvaardbare wijze. Dit bij een ziekte die soms langer dan 50 jaar kan duren. Publicaties tonen dan ook aan dat de huidige trials onbetrouwbaar zijn om antwoord te kunnen geven op het voor MS patienten grootste probleem: blijf ik door het jarenlang gebruiken van deze medicijnen uit de rolstoel? Na meer dan 15 jaar ervaring met immuunmodulerende middelen moet het antwoord zijn dat dit onbekend en mogelijk zelfs niet zo is. Vanzelfsprekend is er wel reden voor enig optimisme omdat met immuunmodulatie voor het eerst een (geringe) vermindering van het aantal exacerbaties bereikt is. Voor het behandelen van het echte chronische beloop van MS is echter nog een lange weg te gaan.

Bronnen

H.van Bronswijk, E.A.Dubois, J.M.A.van Gerven en A.F.Cohen. Nieuwe geneesmiddelen; natalizumab. Ned Tijdschr Geneeskd. 2008;152:499-500

EbersGC, Heigenhauser L, Daumer M, Lederer C, Noseworthy JH. Disability as an outcome in MS clinical trials. Neurology, Aug 2008; 71: 624 - 631.

Noseworthy JH, Miller D, Compston A. Disease-modifying treatments in multiple sclerosis. In: Compston A, editor. McAlpine's Multiple sclerosis. 4th ed. New York: Elsevier Churchill Livingstone; 2005.

Polman CH, O'Connor PW, Havrdova E, Hutchinson M, Kappos L, Miller DH, et al. A randomized, placebo-controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis. N Engl J Med. 2006;354:899-910.

Raine CS, McFarland HF, Hohlfeld R. Multiple Sclerosis: A Comprehensive text. Saunders Elsevier 2008.

Rudick RA, Stuart WH, Calabresi PA, Confavreux C, Galetta SL, Radue EW, et al. Natalizumab plus interferon beta-1a for relapsing multiple sclerosis. N Engl J Med. 2006;354:911-23.

Schipper JP. Natalizumab bij multiple sclerose: onduidelijke baten voor de patiënt. Ned Tijdschr Geneeskd. 2007;151:852-5.

Schipper JP , Bijl D, onder medeverantwoordelijkheid van de redactiecommissie
Multiple sclerose I. Behandeling van exacerbaties en ziektebeloop (Geneesmiddelen bulletin 2008 (juni); 42: 51-58)

Vermeulen M. Gunstig effect van immuunmodulerende behandeling bij het terugdringen van functionele beperkingen door multiple sclerose nog niet aangetoond. Ned Tijdschr Geneeskd. 2007;151:850-1.

VOORJAARSDAG 2009

"GROEISTOORNISSEN, LAAT JE NIET KLEIN KRIJGEN!"

Wanneer de lange koude winter voorbij is en de lammetjes weer in de wei komen is het weer zover, het voorjaar is begonnen. Kortom het wordt weer tijd voor de traditionele Voorjaarsdag van de K.N.P.S.V. Dit jaar zal deze dag gevuld worden met lezingen over het thema:

"Groeistoornissen, laat je niet klein krijgen!"

Programma:

- Symposium met thema "Groeistoornissen laat je niet klein krijgen!"
- Onthulling kandidaatsbestuur der K.N.P.S.V. en het congres 2009
- Afsluitende borrel en diner

Kosten:
Symposium: studenten € 4,-
apothekers € 70,-
Symposium + diner: € 8,-
Reiskosten worden vanaf € 4,50 vergoed door de K.N.P.S.V.

Zaterdag 21 maart vanaf 10:30
Congrescentrum de 'Aker' te Putten

Voor meer informatie en inschrijving
ga naar www.knpsv.nl

DNA Vaccinatie

Ontwikkeling van DNA bevattende liposomen voor DNA vaccinatie

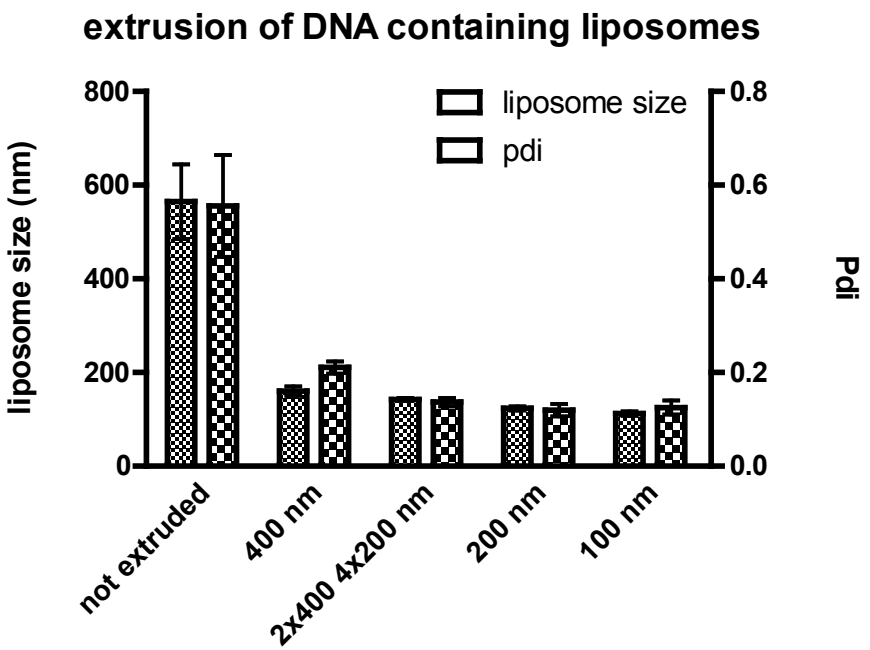
Vaccinatie is een van de belangrijkste ontwikkelingen in de moderne geneeskunde en is de belangrijkste methode om infectieuze ziekte onder controle te houden. Door massale vaccinatie worden er volgens de World Health Organisation (WHO) jaarlijks 2 miljoen doden voorkomen. Pioniers op het gebied van artificiële vaccinatie zijn Edward Jenner (1749-1823) en Lois Pasteur (1822-1895). Lois Pasteur ontdekte dat wanneer pathogene ziekteverwekkers voor een lange tijd gekweekt waren deze niet meer pathogeen waren, maar wel in staat zijn om een immuunreactie op te wekken.

Door Koen van der Maaden

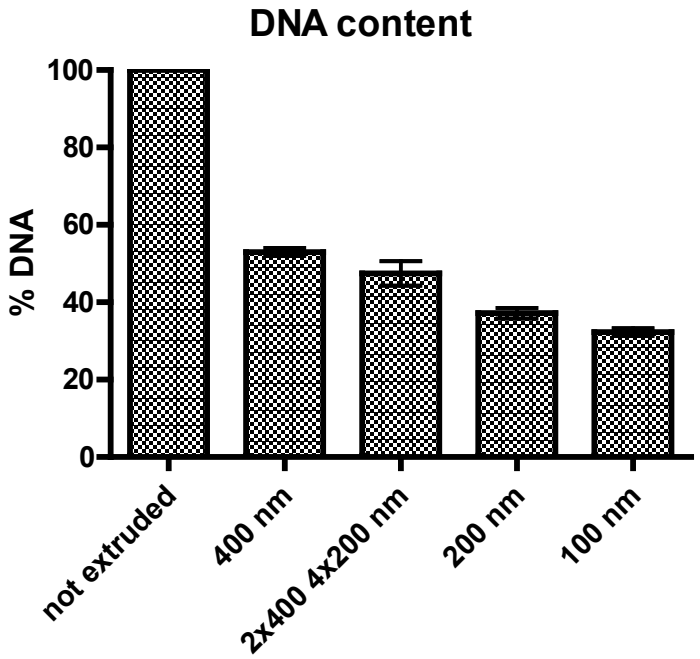
1. Introductie

Vaccinatie is een van de belangrijkste ontwikkelingen in de moderne geneeskunde en is de belangrijkste methode om infectieuze ziekte onder controle te houden. Door massale vaccinatie worden er volgens de World Health Organisation (WHO) jaarlijks 2 miljoen doden voorkomen. Pioniers op het gebied van artificiële vaccinatie zijn Edward Jenner (1749-1823) en Lois Pasteur (1822-1895). Lois Pasteur ontdekte dat wanneer pathogene ziekteverwekkers voor een lange tijd gekweekt waren deze niet meer pathogeen waren, maar wel in staat zijn om een immuunreactie op te wekken.

Momenteel zijn de meest efficiënte vaccins nog steeds degene die gebaseerd zijn op levende verzwakte pathogene ziekteverwekkers. Deze vaccins induceren zowel een humorale als een cellulaire immuunrespons, waar de andere type vaccins alleen een humorale respons opwekken. Een relatief nieuwe vorm van vaccinatie is DNA vaccinatie, waarbij ook een humorale en cellulaire immuunreactie opgewekt wordt. Bij DNA vaccinatie wordt antigen coderend plasmide DNA toegediend, dat in de celkern wordt afgelezen waarna het antigen geproduceerd wordt. Vervolgens zorgen antigenpresenterende cellen ervoor dat het immuunsysteem



figuur 1: Grootte en polidispersiteitsindex (pdi) van DNA bevattende liposomen

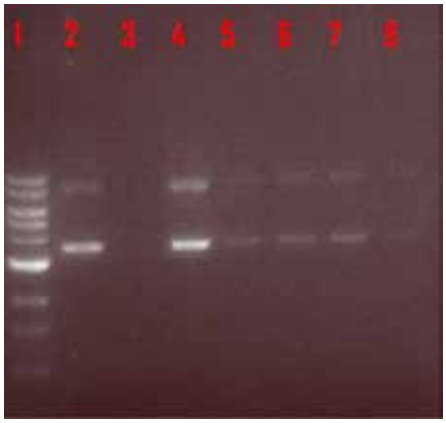


Figuur 2: DNA verhouding voor en na de extrusie van DNA bevattende liposomen

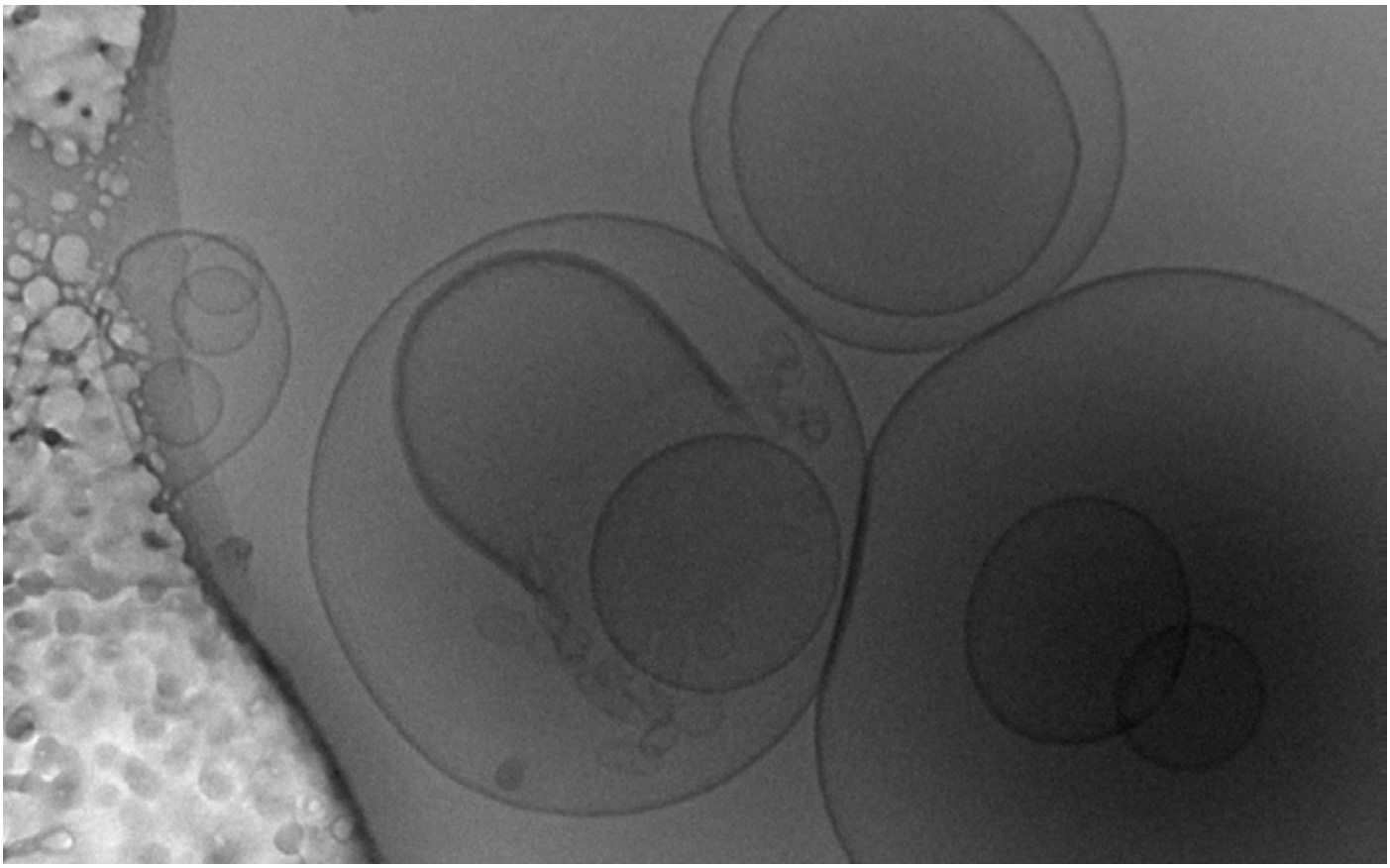
geactiveerd wordt. Deze manier van vaccineren heeft een aantal voordelen boven de huidige manier van vaccineren, zoals: (a) de mogelijkheid om genetische informatie van meerdere antigenen in één plasmide in te bouwen (b) de mogelijkheid tot een naaldloze toediening (c) het zou gebruikt kunnen worden tegen intracellulaire pathogenen als HIV, malaria en tuberculose en (d) vanwege veiligheidsaspecten.
DNA vaccins hebben veel voordelen, maar optimalisatie is echter toch noodzakelijk vanwege de lage potentie van DNA vaccins. Één van de redenen is de lage beschikbaarheid van het plasmide DNA, wat door de aanwezigheid van endonucleases in het lichaam wordt afgebroken. De potentie van DNA vaccins zou verhoogd kunnen worden door middel van het plasmide DNA te verpakken in liposomen, hiermee kan het DNA beschermd worden tegen degradatie. Ook zou de potentie verhoogd kunnen worden door het maken van kleine liposomen (<200 nm), deze worden namelijk opgenomen door professionele antigeenpresenterende cellen (dendritische cellen).

In dit onderzoek worden DNA bevattende liposomen ontwikkeld en geoptimaliseerd voor DNA vaccinatie. In dit artikel wordt een kleine selectie van de resultaten weergeven, die verkregen zijn tijdens 9 maanden onderzoek bij de vakgroep Drug Delivery Technology in Leiden.

2. Methoden en resultaten
Positieve liposomen die DNA bevatten zijn bereid volgens de dehyratie-rehydratie methode (DRM), waarbij DNA wordt ingesloten door middel van vriesdrogen. De liposomen bevatten 90 µg/ml DNA en 28 µmol/ml lipiden. De liposomen worden na de DRM verkleind met behulp van een extruder, hierbij worden de liposomen door een membraan geperst met poriegrootten tussen de 100 en 400 nm. Vervolgens is de grootte van de liposomen gemeten met behulp van Dynamic Light Scattering



Figuur 3:
1) 1kb DNA ladder;
2) naakt plasmide DNA;
3) lege liposomen;
4) niet geëxtrudeerde liposomen;
5) 6x400 nm geëxtrudeerde liposomen;
6) 2x400, 4x200 nm geëxtrudeerde liposomen;
7) 6x400, 6x200 nm geëxtrudeerde liposomen;
8) 6x400, 6x200, 6x100 nm geëxtrudeerde liposomen



Figuur 4: niet geëxtrudeerde liposomen met behulp van CyoTEM

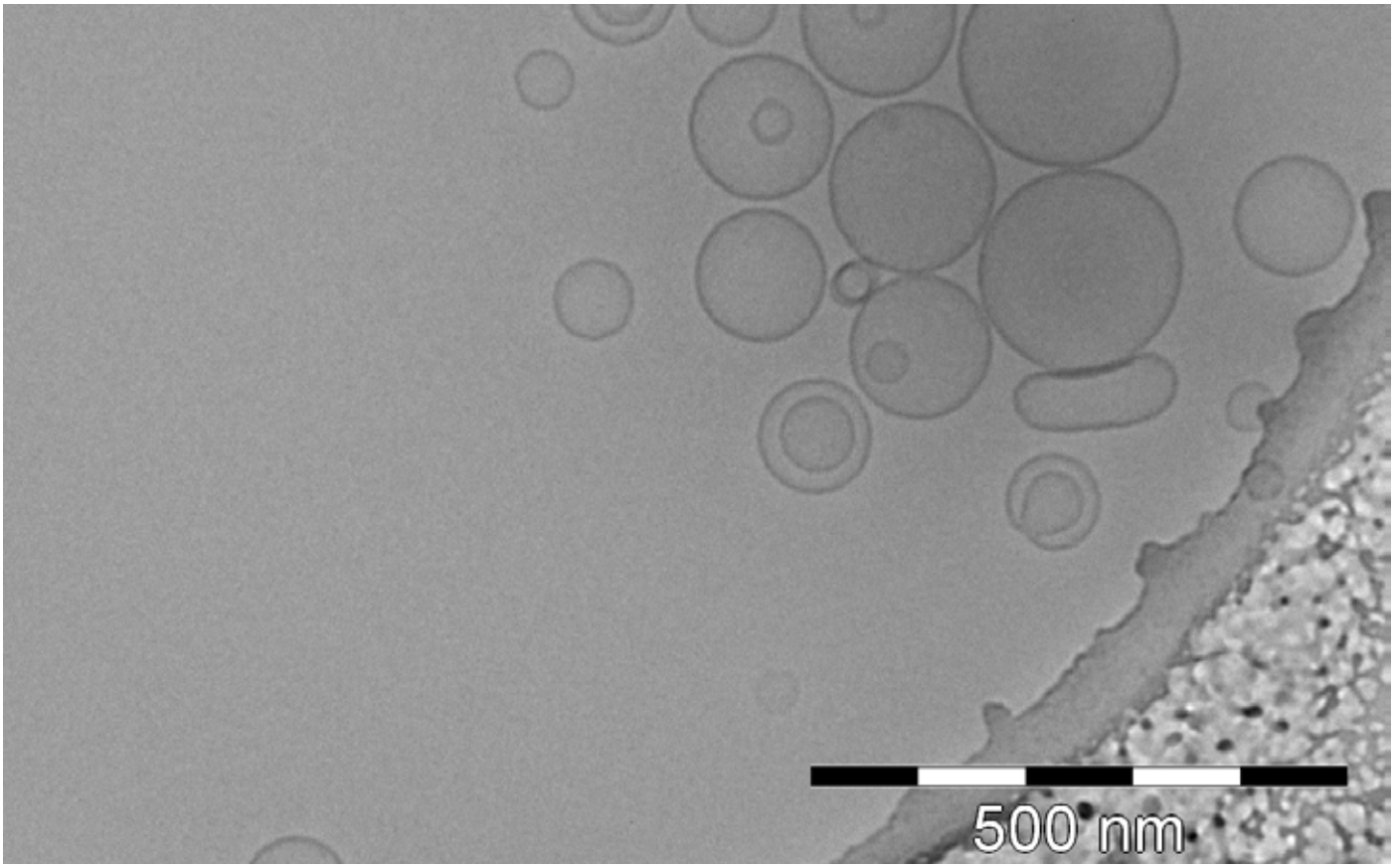
(DLS), data weergeven in figuur 1. De DNA concentratie is bepaald door middel van een PicoGreen assay, zie figuur 2, welke bij binding aan DNA fluorescent is.

Omdat in eerste instantie de intactheid van het DNA niet te bepalen was door de aanwezigheid van positieve lipiden, is er een methode met een extractie en zuiveringsstappen van het DNA ontwikkeld waardoor de integriteit van het DNA bepaald kon worden. De integriteit van het DNA voor en na extrusie is bepaald met behulp van een agarose gel, figuur 3.
Om te bepalen hoeveel DNA er in de liposomen aanwezig was na extrusie (2x400, 4x200 nm) zijn de liposomen afgedraaid met behulp van een membraanfilter en is de DNA concentratie bepaald. Hieruit is bepaald dat 91.1±0.3 % van het DNA daadwerkelijk in de liposomen zat.

De vorm van niet en wel geëxtrudeerde (2x400, 4x200nm) liposomen, resp. figuur 4 en 5, is bepaald met behulp van CryoTEM, een vorm van elektronmicroscopie waarbij de liposomen bevroren worden in vloeibaar ethaan. Bij de niet geëxtrudeerde liposomen is te zien dat de grootte sterk varierd en dat er zich kleinere liposomen in de liposomen bevinden. Nadat de liposomen geëxtrudeerd zijn, is grootte afgenomen en zijn ze uniform qua grootte. Deze foto's zijn gemaakt bij en gefinancierd door de vakgroep Cellular Architecture and Dynamics, Department of Biology, Faculty of Science, Utrecht University.

3. Conclusie
Dit onderzoek heeft aangetoond dat de beste extrusie-methode 2x400 en 4x200 nm is aan de hand van de grootte, pdi, DNA concentratie en de integriteit van het DNA. Door deze extrusie-methode te gebruiken wordt er een goed gedefinieerd systeem gevormd, waarbij er kleine DNA-bevattende liposomen gevormd worden (145±7nm) die daarbij ook uniform van grootte zijn. Door de ontwikkeling en optimalisering van de extractie en zuiveringsmethode van het DNA waren wij in staat de integriteit van het DNA te testen. Hierdoor konden wij aantonen, ook al is er een vrij groot verlies van DNA, dat het DNA intact blijft na extrusie wanneer filters boven de 200 nm gebruikt worden. Het DNA in de bereide geëxtrudeerde liposomen is beschermd tegen degradatie door endonucleases (data niet weergeven). Door de kleine deeltjesgrootte en de bescherming van het DNA tegen endonucleases zou dit een goede formulering kunnen zijn voor DNA-vaccinatie.

4. Vervolgonderzoek
De geëxtrudeerde formulering van het DNA vaccin zal spoedig in vivo getest gaan worden. Ook staat in de planning om specifieke moleculen aan de liposomen te koppelen, zodat de liposomen specifiek door professionele antigeenpresenterende cellen worden opgenomen wat de potentie van DNA-vaccins zou kunnen verhogen.



Figuur 5: geëxtrudeerde liposomen met behulp van CyoTEM

Goedemiddag, kan ik u helpen?

PCE 2008 - 2009

Door Dorieke van Balen

Vrijdag 19 januari was het zover, het Patient Counselling Event begon! Doordat de dag gevolgd zou worden door studenten die het vak communicatie liepen èn door de deelnemers van het Patient Counselling Event was het een grote groep.

De dag begon met een aantal colleges. Allereerst bracht Dick Toering (docent communicatie) ons de fijne kneepjes bij van non-verbale communicatie. Beeldspraak, lichaamshouding en gezichtsuitdrukkingen kwamen aan bod. Vervolgens vertelde Jos Luers (openbaar apotheker) over de verschillende soorten patiënten die hij in zijn apotheek krijgt; van FC-Groningen hooligan tot cardioloog van het ziekenhuis, van Oosterparker tot cabaretier. Hij stipte het belang aan dat iedere patiënt weer anders is en dat je je communicatievaardigheden hier goed op moet aanpassen. Na deze twee colleges was het tijd voor ons om zelf in actie te komen door middel van theatersport. Zo moesten we er bijvoorbeeld achter zien te komen wat twee buitenlandse vrouwen mankeerde zonder dat zij Engels of Nederlands spraken. Dit was erg interessant en leidde ook wel tot een aantal hilarische situaties. Zo probeerde Femke namelijk aan een Arabische vrouw te vragen of ze diarree had, door dit uit te gaan beelden!

Na de lunch was het vervolgens tijd voor het spannende gedeelte, de competitie! Voor een zaal met 30 toeschouwers moesten we 2 baliegesprekken voeren. Zo kregen we een vrouw aan de balie die het nut van het gebruik van atenolol niet inzag aangezien ze niets merkte van haar hoge bloeddruk. Eveneens kwam er een man aan de balie die last had van maagpijn en graag een zelfzorg middel hiertegen wilde hebben. Het was leuk om te zien hoe verschillende studenten uit verschillende jaren met de twee casussen omgaan. Iedereen was erg meelevend en ik denk dat de patiënten met een gerust gevoel naar huis konden. Gelukkig kon de jury, bestaande uit twee openbaar apothekers Jos Luers en Lous Kluin, een beslissing maken. Femke en ik zullen 6 maart naar Utrecht komen om te strijden voor de reis naar Bali.

Het is zeker een aanrader om volgend jaar mee te gaan doen! KNPSV bedankt voor de goede organisatie!

Door de balie naar Bali?

PCE 2008 - 2009

Door Christel Zuidberg

Iedere student krijgt er op den duur mee te maken. Tijdens je studie, je stage of natuurlijk later als apotheker. Voor een optimale medicatiebegeleiding is het onmisbaar: baliegesprekken.
Om eens extra te oefenen en je kwaliteiten te tonen organiseert de K.N.P.S.V. elk jaar het Patient Counselling Event, oftewel het PCE. De wedstrijd draait erom wie het het beste doet achter de balie.

De winnaar mag strijden tegen internationale studenten op IPSF Congres. Een mooie bijkomstigheid was dat dat congres dit jaar in Bali plaatsvindt. Ik wilde wel eens een gokje wagen en feedback krijgen is nooit verkeerd, dus heb mij aangemeld!

Toen ik naar binnenstapte en de driekoppige jury zag zitten, sloegen de zenuwen toch wel even toe. Gelukkig waren deze meteen verdwenen toen ik 'goedemorgen' had gezegd tegen mijn eerste patiënt.
Meneer had te horen gekregen dat hij suikerziekte had en kwam zijn medicatie ophalen. Hij was nogal overdonderd van de hele situatie. Allereerst aan mij de taak hem gerust te stellen, anders wist ik zeker dat mijn informatie niet bij hem aankwam.
De tweede patiënt had last van verstopping. Door de alom bekende WHAM-vragen te stellen heb ik hem een goed advies proberen te geven.

Ik raad iedereen aan volgend jaar ook mee te doen!
Super leerzaam en wie weet mag jij jouw baliekwaliteiten zelfs laten zien op het IPSF Congres!

Beste Folia-lezer,

Met het Pharmaceutisch Vrouwen Dispuut “Hygeia” gaat het heel goed! De eerste 25-diners zijn achter de rug, afstudeerborrels hadden zich al aangediend en een enkeling maakt al haar eerste carriere-move...worden we dan toch volwassen?
Het juiste antwoord laat zich raden...

In november 2008 vond ons vierde dispuutweekend plaats. Alle dertien aanwezig (14 inclusief Jenifer), werd dit keer Zeeland onveilig gemaakt... Met een hoop slaap, weinig alcohol (of was het nou andersom) en een straffe strandwandeling werd het een erg actief, gezond en fanatiek weekend. Maar hoe kon het ook anders, Weekendcie “Vo! Tastisch” had zich werkelijk uitgesloofd. Dat daarom iedereen zich zondag topfit voelde, behoeft geen uitleg.
Na een spetterende onthulling door Weekendcie “Vo! Uit met de geit” belooft het vijfde dispuutweekend in maart ook veel moois...

Gelukkig beperken we ons niet tot enkel de dispuutweekenden voor leden, maar organiseren we ook elk jaar een heuse activiteit voor alle K.N.P.S.V.-leden!

Vrijdag 6 maart a.s. zal alweer het **derde Hygeia-diner te Utrecht** plaatsvinden!!
Voor meer info over locatie en kosten; zie www.knpsv.nl

Overdag zal, ook in Utrecht, de finale van het Patient Counselling Event van de K.N.P.S.V. plaatsvinden, dus een mooie gelegenheid het één en ander te combineren...

Zij die er afgelopen keren bij waren, kunnen het enkel beamen; **Wees erbij, want het wordt weer mooi!!!**

We hopen op net zo’n mooie opkomst te kunnen rekenen als vorig jaar, de Kneus is alvast ingelicht over onze komst...

Tot op de komende K.N.P.S.V.-activiteiten!

Roze groet,

Ph.V.D. “Hygeia”

Anita Anouk Chiara Debbie Fieke Iris Isabel Lieke Lucienne Merel Mieke Renée Tanja

Schrijf je in voor de TWIN!

Twin 2009:
Groningen, NL - 1-3 Mei
Leipzig, DE - 12-14 Juni

Thema:
Obesitas: door Dik en Dun

Programma in NL:

Vrijdag: Groningen by night
aankomst, bierestafette

Zaterdag: Educatieve dag
symposium, lunch,
diner & feest

Zondag: Culturele dag
culturele verrassing,
vertrek

Prijs: 75 euro
Check: www.knpsv.nl
Mail: bestuur@knpsv.nl
Inschrijvingen: op het
hok (vanaf 1 maart)

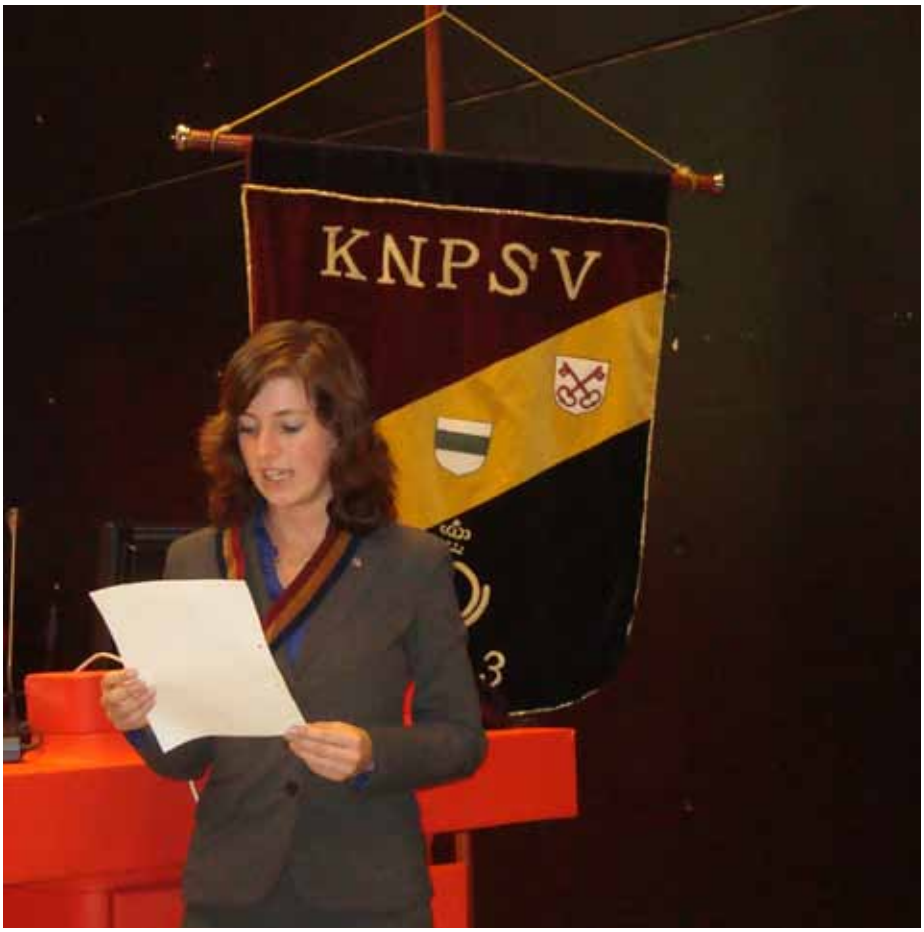
Secretarieel verslag AV

De buitengewone AV is besproken en de daaruit voortgekomen voorstellen zijn behandeld.
De volgende voorstellen zijn goedgekeurd:
- De Wetenschappelijke lezing zal niet meer door de K.N.P.S.V. georganiseerd worden
- De Ziekenhuis farmacieavond zal niet meer door de K.N.P.S.V georganiseerd worden
- De Sportdag en de Voorjaarsdag zullen worden gecombineerd. Deze dag zal op de eerste zaterdag van de lente worden georganiseerd, over de naam wordt nog nagedacht.
- Het aantal folia's per jaar wordt gereduceerd van 6 naar 5.

Verder is er een voorstel behandeld over de winst die gemaakt is in het bestuursjaar 2007-2008. De winst is als volgt verdeeld:
€ 1500,- reservering laptops
€ 2000,- Congrescommissie 2008-2009
€2000,- reservering Lustrum congres 2013
€1500,- Sportcommissie 2008-2009
€1500,- gecombineerde sportdag /voorjaarsdag in 2010
€2000,- voor een fonds dat kan worden aangeschreven voor activiteiten.
Bij de voorstellen is er ook nog gesproken over het Congres: één symposiumdag wordt eruit gehaald. Wat er dan wel op deze dag wordt georganiseerd is vrij aan de commissie.
Verder is er nog geen voorstel gedaan over de statuten en reglementen. De voorzitter is bij de notaris geweest en die heeft precies aangegeven welke stukken er aangepast moeten worden. Op de Congres AV zal de volledig aangepaste versie klaar zijn.
Er is aangekondigd dat de TWIN dit jaar wel door zal gaan. In het weekend van 1 t/m 3 mei zullen onze Duitse buren naar Groningen komen om deze stad en het studentenleven te ontdekken. Vervolgens zullen wij in het weekend van 12 t/m 14 juni met een Nederlandse afvaardiging naar Leipzig gaan om hen daar te ontmoeten.
Het bestuur heeft besloten het FaMe af te gelasten. Het is na drie jaar organiseren niet gelukt en de K.N.P.S.V. zal het ook niet meer organiseren.
Aangezien de Wetenschappelijke lezing en de Ziekenhuis farmacieavond niet meer door de K.N.P.S.V. georganiseerd worden, zal de TOP commissie komend jaar minder activiteiten hoeven te organiseren. Hierdoor zal de commissie komend jaar nog uit 6 in plaats van 8 personen bestaan. Over verdere invulling van de TOP commissie zal nog worden nagedacht.
Het thema van de Voorjaarsdag is onthuld. De laatste originele Voorjaarsdag van de K.N.P.S.V. zal zaterdag 21 maart plaatsvinden met als thema "Groeistoornissen, laat je niet klein krijgen!" Inschrijven kan via de site.
De commissaris buitenland heeft vertelt over het Patiënt Counseling Event. Afgelopen maand hebben de voorrondes plaats gevonden en de finale zal vrijdag 6 maart gehouden worden in Utrecht. Deze is open en dus voor iedereen toegankelijk. Daarnaast heeft ze verteld over het SEP en het IPSF congres komende zomer.
De commissaris algemene zaken heeft verteld over de nieuwe opzet voor de Snuffelstage. Hij heeft nieuwe richtlijnen opgesteld om het aantrekkelijker te maken en om wachtlijsten te voorkomen. Verder vertelde hij nog over de ontwikkelingen van de website.
De penningmeester heeft zijn halfjaarlijkse afrekening gepresenteerd en de afrekening van het lustrumcongres en het functionarisweekeinde zijn goedgekeurd.
Tot slot zijn Marvin Roos, Fieke van Moorsel, Kees Scheffers, Chiara van Rodijnen, Cheng Wang Cheung en Natalja Bouwhuis in de Congrescommissie 2009-2010 geïnstalleerd.

Aldus naar waarheid opgemaakt,
februari 2009

Linda Labberton
h.t. secretaris



Colofon

Drukkerij
Hegadruk B.V.
Den Haag

Oplage
2900 exemplaren

Software
Adobe InDesign CS4

Ontwerp
Commissie ter Redactie van de
Folia Pharmaceutica 2008-2009

Kopij
Redactie Folia Pharmaceutica 2008-2009
t.a.v. Gerlise van Ommeren
Hooft Graaflandstraat 4
3525 VV Utrecht
06-11525101 (privé)
folia@knpsv.nl

Copyright
Copyright 2008/2009 - Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of welke andere wijze dan ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de Commissie ter Redactie van de Folia Pharmaceutica 2008-2009

MEDIQ APOTHEEK

Meebouwen aan het succes van een landelijke apotheekformule?

Bij Mediq Apotheek krijg je alle ruimte en aandacht om door te groeien

www.mediq-apotheek.nl, www.mediveen.nl, www.opggroep.nl

Jan Smits
Voorzitter van het Hoofdbestuur van de KNMP

Lid worden van de KNMP

Als student (bio)farmacie kun je kandidaatlid worden. Een kandidaat-lidmaatschap kost € 29 per jaar exclusief 19% BTW. Hiervoor krijg je het apothekersvakblad PW (Pharmaceutisch Weekblad) toegezonden. Je krijgt een toegangscode tot de KNMP website (www.knmp.nl). Hierop staat een schat aan informatie, zoals de Kennisbank. Ook blijf je op de hoogte van actuele ontwikkelingen in de farmaciebranche. Verder krijg je de Leden- en adressenlijst en de Apothekenlijst toegestuurd. Overigens, in de laatste fase van je studie kun je het Informatorium Medicamentorum en het Formularium der Nederlandse Apothekers (FNA) krijgen! Redenen genoeg om een lidmaatschap aan te vragen.

De KNMP is de beroeps- en branche-organisatie voor apothekers. Wij behartigen de belangen van de leden, de branche en de farmacie in het algemeen. In al onze activiteiten staat de essentiële rol van de apotheker in de zorgverlening centraal. Als onderdeel van de totale zorgketen staan we voor een effectieve en patiëntgerichte farmaceutische zorg, waarbij medicatieveiligheid en kwaliteit in de branche voorop staan.

Meer informatie: www.knmp.nl
Telefoon 070 - 37 37 373
E-mail leden@knmp.nl

KNMP

Jan Smits over de KNMP

Vertel kort iets over uzelf

"Sinds 1996 ben ik beherend apotheker in Tilburg. In die periode heb ik onder meer Coöperatieve Apotheken Midden Brabant U.A. opgericht. Hierin werken alle apotheken in de regio Tilburg samen. Onze computersystemen zijn zodanig gekoppeld dat we van elke patiënt in de regio het meest actuele medicatiedossier hebben. We waren een van de eersten in Nederland die deze kwaliteitsslag maakten. Na mijn afstuderen in 1984 heb ik gedurende twaalf jaar voor diverse organisaties gewerkt. Daar hield ik me vooral bezig met de nationale en internationale marketing van nieuwe geneesmiddelen en business services. Ik ken dus de voor- en nadelen van het in een grote organisatie werken en die van het bestaan van éénpitter. Met die combinatie van kennis en ervaringen zet ik me graag in voor de KNMP."

Wat betekent de KNMP voor u?

"De KNMP is het kaderscheppend instituut voor de farmacie in Nederland. Op dit moment kan onze sector zich kwalitatief meten met het hoogste niveau ter wereld. De opdracht voor de KNMP is die positie intact te houden. De inzet daarbij is het verlenen van maximale farmaceutische zorg."

Wat is uw belangrijkste doelstelling voor de komende periode?

"Ik wil me de komende periode graag inzetten op drie gebieden: kwaliteit van de farmaceutische zorg, samenwerking tussen apothekers onderling en met andere disciplines binnen de gezondheidszorg en communicatie naar de achterban, klanten en stakeholders. Daar heb ik geen SMART-doelstellingen voor geformuleerd, maar vanuit mijn visie wil ik daar graag een bijdrage aan leveren."

Waar bent u trots op?

"Er is een tijd geweest dat sommige collega's op verjaardagsfeestjes liever niet vertelden tot welke beroepsgroep ze horen. Ik ben er echter trots op apotheker te zijn en onderdeel uit te maken van een zeer hoogwaardige farmaceutische dienstverlening."