

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

Ieder dag maakt ons lichaam nieuwe cellen aan, dat is nodig om te groeien en om beschadigde en/of verouderde cellen te vervangen. De kern van iedere cel in ons lichaam bevat informatie om de celdeling te regelen, deze informatie ligt opgeslagen in het genetisch materiaal ook wel DNA genoemd.

Tijdens de miljoenen celdelingen die dagelijks in ons lichaam plaatsvinden treden wel eens fouten op. Deze fouten kunnen toevallig optreden of als gevolg van schadelijke omgevingsfactoren, bijvoorbeeld door roken, radioactieve straling of contact met chemische stoffen.

Normaal gesproken ruimt het lichaam cellen met fouten op, soms echter verloopt het opruimen niet helemaal goed, cellen met defecten in het genetisch materiaal kunnen dan blijven bestaan.

Als de defecten zijn opgetreden in genen die een rol spelen in celdeling en/of uitrijping, dan kan een kankercel ontstaan, een cel die ongeremd gaat groeien, onafhankelijk van de signalen die de celgroei normaal gesproken controleren.

Een algemeen geaccepteerd idee is dat er meerdere van zulke stappen nodig zijn voordat een normale gezonde cel een kankercel wordt. Deze stappen worden gekenmerkt door opeenvolgende genetische veranderingen in diverse sleutelgenen.

Wanneer er ongeremde groei optreedt van bloedvormende cellen, dan spreken we van leukemie.

In gezonde personen vindt de bloedvorming plaats in het beenmerg. In dit beenmerg gaat de bloedvorming uit van een voorlopercel; deze cel wordt ook wel de stamcel genoemd.

Door uitrijping ontstaan uit deze stamcel uiteindelijk grofweg 3 subtypen cellen; de rode bloedcellen, witte bloedcellen en de bloedplaatjes. Rode bloedcellen (erythrocyten) spelen een rol in zuurstoftransport. Witte bloedcellen (leukocyten) spelen een rol in het opsporen van ziekteverwekkers die ons lichaam zijn binnengedrongen en infecties kunnen veroorzaken, zoals bacteriën en virussen. Bloedplaatjes (trombocyten) spelen een rol bij de bloedstolling, zodat bloedverlies bij verwondingen beperkt blijft.

Als er sprake is van leukemie, dan rijpen de voorlopercellen niet meer normaal uit, maar blijven steken in een bepaalde ontwikkelingsfase. Deze onrijpe cellen, ook wel blasten genoemd hopen zich op in het beenmerg. Daarmee verhinderen ze de aanmaak van gezonde bloedcellen.

Dit leidt tot bloedarmoede (bij een tekort aan rode bloedcellen), infecties (in het geval van tekort aan witte bloedcellen) en een verhoogde bloedingsneiging (bij een tekort aan bloedplaatjes). In eerste instantie bevinden de blasten zich in het beenmerg, na verloop van tijd zullen zij zich in het bloed manifesteren. Via het bloed kunnen de blasten andere organen bereiken, zoals de lever, milt en de lymfeklieren. Indien de leukemie cellen niet worden verwijderd zal de patiënt op korte termijn overlijden.

Er bestaan verschillende soorten leukemie; dit proefschrift is met name gericht op Acute Myeloïde Leukemie (AML).

Per jaar wordt bij ongeveer 550 volwassenen in Nederland de diagnose AML gesteld, de incidentie van AML is het hoogst bij volwassenen ouder dan 60 jaar.

De behandeling van patiënten met AML bestaat uit het toedienen van verschillende combinaties van medicamenten die de celdeling remmen, ook wel cytostatica genoemd. Cytostatica remmen de celdeling van zowel de abnormale leukemie cellen als ook van de gezonde bloedcellen. Als gevolg van dit laatste treedt er na chemotherapie vaak langdurig uitstel van de normale bloedvorming op (bij-effect).

In ongeveer 80% van de patiënten wordt er na chemotherapie met behulp van de microscoop geen leukemiecellen meer in het beenmerg gevonden. De patiënten zijn dan in “complete remissie”. Dit betekent echter niet dat er helemaal geen leukemiecellen meer in het lichaam aanwezig zijn.

Het blijkt dat er in het beenmerg van de meeste patiënten een kleine, microscopisch niet waarneembare, hoeveelheid leukemiecellen achter kan blijven. Deze cellen worden in het engels ‘minimal residual disease’ (MRD) cellen genoemd. MRD cellen kunnen opnieuw uitgroeien, wat leidt tot terugkeer van de leukemie. Dit wordt ook wel een recidief genoemd.

Tijdens een recidief zijn de leukemie cellen minder gevoelig voor chemotherapie, terwijl de patiënt ook minder chemotherapie kan verdragen dan eerder bij diagnose; de patiënt heeft een grotere kans te overlijden.

Om de kans te verkleinen dat de MRD cellen uitgroeien wordt na het bereiken van complete remissie een tweede en soms een derde kuur van chemotherapie toegediend.

Een selectie van de patiënten met leukemie komt in aanmerking voor een stamceltransplantatie, in de volksmond beenmergtransplantatie genoemd.

Voor een dergelijke transplantatie kunnen stamcellen gebruikt worden die afkomstig zijn van de patiënt zelf, een zogenaamde autologe transplantatie. In dit geval zorgen groeifactoren, die de patiënt krijgt toegediend als hij of zij in complete remissie is, ervoor dat de stamcellen uit het beenmerg in het bloed terechtkomen. Deze kunnen dan uit het bloed geïsoleerd worden en later, na een hoge dosis chemotherapie, aan de patiënt worden terug gegeven via een infuus.

De hoge dosis chemotherapie is bedoeld om resterende leukemiecellen in het beenmerg te doden. Dit gebeurt echter ook met de normale stamcellen, maar dit wordt ongedaan gemaakt door het stamceltransplantaat terug te geven.

Een andere optie is de allogene transplantatie waarbij de patiënt stamcellen krijgt die afkomstig zijn van een gezonde donor. Het is niet altijd mogelijk om voor iedere patiënt een geschikte donor te vinden.

Beide transplantatievormen hebben hun voor- en nadelen. In het geval van de allogene transplantatie, bevat het transplantaat normale cellen die afkomstig zijn van een gezonde donor. De bijeffecten en zelfs het risico op overlijden (morbiditeit en mortaliteit) bij dit type transplantatie is echter hoog, als gevolg van afweerreacties van immuuncellen van de donor in het transplantaat tegen de cellen van de patiënt. Deze reacties worden graf-versus-host reacties genoemd. Dit type reactie treedt natuurlijk niet op als het transplantaat afkomstig is van de patiënt zelf, in dit geval is er wel een risico dat het transplantaat MRD cellen bevat, welke kunnen uitgroeien en een recidief kunnen veroorzaken.

Ondanks al deze intensieve en belastende behandelingen is slechts 30% van de patiënten met AML, vijf jaar nadat de diagnose bij hem of haar is gesteld nog in leven. Een deel van de patiënten zal overlijden omdat de leukemie niet gevoelig is voor chemotherapie (de leukemie is refractair), als gevolg van recidief of aan de complicaties van de ziekte dan wel van de behandeling.

Verbetering van de behandeling van AML is noodzakelijk en moet gericht zijn op zowel verbetering van overlevingskansen als ook op vermindering van bijwerkingen. Op dit moment worden volwassen AML patiënten die bij diagnose jonger zijn dan 60 jaar behandeld volgens een ander standaard protocol dan volwassenen die bij diagnose ouder zijn dan 60 jaar. De diagnose AML op oudere leeftijd (>60 jaar) heeft een ongunstiger prognose dan op jongere leeftijd, mede omdat oudere patiënten een grotere kans hebben te overlijden als gevolg van bijwerkingen van agressieve chemotherapie.

Leeftijd bij diagnose is dus een risicofactor die wordt meegenomen in de bepaling van een passende behandeling.

Andere klinische factoren die op dit moment worden meegenomen in de bepaling van het risicoprofiel van patiënten met AML zijn cytogenetische afwijkingen (specifieke defecten aan de chromosomen) en FAB klasse (subtypen leukemie die worden vastgesteld op basis van celkleuringen en diverse morfologische aspecten van de leukemiecél onder de microscoop).

Om te komen tot een passende behandeling voor iedere patiënt is het nodig om meer patiënt specifieke, maar ook leukemie specifieke karakteristieken te identificeren. De leukemie karakteristieken kunnen enerzijds helpen om patiënten met een prognostisch gunstige leukemie te onderscheiden van patiënten met een prognostisch ongunstige leukemie en in een deel van de gevallen de behandeling hierop af te stellen. Anderzijds, kunnen ze ook een aangrijpingspunt vormen voor nieuw te ontwikkelen therapieën die zich richten op deze leukemie specifieke eigenschappen. Een gerichte therapeutische benadering zou minder schade toebrengen aan de gezonde weefsels omdat ze zich richt op een karakteristiek die alleen de leukemiecél betreft. Een dergelijke aanpak wordt op dit moment al toegepast in een subcategorie AML, de acute promyelocyten leukemie (APL), waarbij toevoegen van vitamine A aan het behandelingsprotocol heeft geleid tot een sterke verbetering van overleving van deze patiënten. Vitamine A is gericht op een specifiek defect in het DNA dat in deze subcategorie patiënten leidt tot ongeremde celdeling.

In dit proefschrift wordt aandacht geschonken aan een aantal leukemie specifieke karakteristieken die mogelijk vroege identificatie van patiënten met een prognostisch ongunstige leukemie mogelijk maken en tevens een aanknopingspunt kunnen vormen voor een meer subgroep gerichte therapeutische benadering van patiënten met AML.

## RESULTATEN

In **hoofdstuk 1** wordt een algemene introductie gegeven van het ziektebeeld acute myeloïde leukemie. Tevens wordt er een overzicht gegeven van prognostische karakteristieken die aanwezig zijn bij diagnose maar ook in het verloop van de ziekte en die een handreiking kunnen geven voor meer gerichte therapeutische benaderingen. Tenslotte worden de in dit proefschrift uitgewerkte vraagstellingen beschreven.

Iedere cel bevat een complex mechanisme dat er voor zorgt dat de cel opgeruimd wordt als deze te oud is, geïnfecteerd is met virussen of bacteriën, of te ernstig beschadigd is geraakt. Dit mechanisme wordt geprogrammeerde celdood of apoptose genoemd. Het is belangrijk dat apoptose nauwkeurig wordt gereguleerd: als er te veel apoptose optreedt, kunnen cellen verloren gaan die essentieel voor het lichaam zijn. Als er te weinig apoptose optreedt kunnen er cellen in het lichaam ophopen die het normale functioneren verstoren, zoals in het geval van leukemie.

Uit eerder onderzoek is gebleken dat AML cellen veel apoptose remmende eiwitten bevatten. In het recente verleden is voor een aantal individuele apoptose eiwitten aangetoond dat zij de gevoeligheid van de cel voor chemotherapie beïnvloeden en daarmee invloed uit oefenen op de overlevingsprognose van patiënten.

Om deze associaties beter te doorgronden is het gewenst om meer apoptose gerelateerde factoren te kunnen bestuderen.

In **hoofdstuk 2** wordt de ontwikkeling van een meetmethode beschreven, waarmee het mogelijk is de regulatie van apoptose op het niveau van gen expressie te bestuderen.

Het expressie niveau van een gen weerspiegelt hoe vaak een cel gebruik maakt van dat specifieke gen.

Veranderingen in de expressie van apoptose gerelateerde genen lijken bij te dragen aan het ontstaan van verschillende tumoren en bloedkankers. De nieuwe Reverse Transcriptase–Multiplex Ligation dependent Probe Amplification (RT-MLPA) methode maakt het mogelijk de expressie van 40 verschillende genen te meten.

Op basis van cel verdunningsexperimenten kon worden vastgesteld dat voor een correcte reproduceerbare meting slechts 300 cellen nodig zijn.

Door het vergelijk van ingevroren en ontdooid materiaal van dezelfde patiënt kon worden bepaald dat het mogelijk is om deze methode toe te passen op zowel ontdooid als op vers beenmerg. Om gen expressie van verschillende patiënten met elkaar te vergelijken is het nodig om een ijkpunt vast te stellen. Hiervoor worden zogenaamde huishoudgenen gebruikt; deze genen komen in theorie altijd even sterk tot expressie en worden niet beïnvloed door externe omstandigheden. Uit een selectie van mogelijke huishoudgenen, is GUS-B geselecteerd voor gebruik in deze studie.

De expressie van dit gen bleek niet te worden beïnvloed door procedures die nodig zijn voor de experimenten die wij hebben uitgevoerd zoals 1) invriezen en ontdooiden, 2) het aankleuren met antistoffen met fluorescerende labels en 3) het isoleren met behulp van FACS-sorting.

Met behulp van de RT-MLPA methode is onderzocht in hoeverre de expressie van apoptose gerelateerde genen in de AML blasten bij diagnose voorspellend zijn voor de duur van de overleving van de patiënt.

Uit het beenmerg van een groep van 120 patiënten bij diagnose zijn in het laboratorium levende (vitale) blasten geïsoleerd met behulp van celoppervlakte markers CD45 (blasten marker) en 7-AAD in combinatie met Annexine-V (de laatste twee zijn vitaliteit markers), die ons in staat stelt processen in nog levende tumorcellen te bestuderen.

**Hoofdstuk 3** beschrijft hoe positieve associaties zijn gevonden tussen de expressie van apoptose stimulerende genen en apoptose remmende genen. Deze associaties hebben geleid tot de vorming van een nieuw apoptose concept.

In dit nieuwe concept is niet zo zeer de balans tussen apoptose remmende en apoptose stimulerende genen bepalend voor de overleving van patiënten met leukemie, maar staat de mate van activering van het totale apoptose systeem centraal.

Met behulp van een rekenkundig model wordt vervolgens aangetoond dat het mogelijk is aan de hand van de expressie van drie geselecteerde apoptose genen overleving te voorspellen voor verschillende groepen patiënten. De voorspellende waarde van deze geselecteerde genen blijkt los te staan van de aanwezigheid van andere prognostische voorspellers. Belangrijk is dat op deze manier patiënten op het moment van diagnose geïdentificeerd kunnen worden met een hoog risico op een korte overleving.

Deze onderverdeling naar risico was ook mogelijk binnen de grootste patiënten groep namelijk die met de zogenaamde intermediaire cytogenetica, waarbinnen normaal geen extra onderverdeling qua prognose te maken is.

Dit is vernieuwend aangezien het met behulp van de huidige risicofactoren vaak niet mogelijk is om de prognose voor deze grote groep te verfijnen en eventueel behandeling aan te passen op basis van de prognose.

Indien AML cellen bij diagnose minder gevoelig zijn voor chemotherapie, dan zou dit kunnen leiden tot meer restziekte: een hogere MRD frequentie.

Omdat we voor de RT-MLPA maar een paar honderd cellen nodig hebben om een adequate meting te verrichten, is het in theorie mogelijk om met deze methode de expressie van apoptose genen in de kleine hoeveelheden MRD cellen te bepalen.

Bij diagnose werden zogenaamde leukemie geassocieerde fenotypes (LAP's) gedefinieerd, dit zijn leukemie specifieke combinaties van celoppervlakte markers die in meer of mindere mate aanwezig blijven op de leukemie cel gedurende de ziekte en niet of nauwelijks voorkomen op normale cellen. De cellen worden hiertoe geïncubeerd met antistoffen waaraan een fluorescerende stof is gekoppeld.

In **hoofdstuk 4**, wordt beschreven hoe in de praktijk leukemiecellen werden geïsoleerd bij diagnose als ook in de MRD situatie en bij recidief op basis van LAP's.

In deze geïsoleerde zuivere leukemie populaties werd vervolgens met behulp van RT-MLPA de apoptose gerelateerde gen expressie gemeten.

Na analyse bleek dat de hoeveelheid c.q. de frequentie van MRD cellen in het beenmerg na chemotherapie geassocieerd is met de hoogte van apoptose gerelateerde gen expressie bij diagnose: patiënten die een hoge expressie hebben bij diagnose, hebben een grotere kans om niet of slechts gedeeltelijk in remissie te komen.

Hoewel in het algemeen de genexpressie in MRD cellen verlaagd was ten opzicht van diagnose hadden patiënten die een hoge expressie hadden bij diagnose in de MRD cellen nog altijd een hogere expressie in vergelijking met patiënten met een lage expressie bij diagnose.

Dit suggereert dat de geïdentificeerde apoptose resistentie karakteristieken die we hebben beschreven in hoofdstuk 3, inherent zijn aan de leukemie en deels behouden blijven gedurende de ziekte.

Om te kijken welk type defect direct of indirect verantwoordelijk zou kunnen zijn voor de ontregeling van apoptose gerelateerde genen hebben we twee mechanismen onderzocht waarvan bekend is dat ze een rol spelen in het meerstaps proces dat uiteindelijk leidt tot de vorming van leukemie. Beide processen zijn direct dan wel indirect geassocieerd met ongevoeligheid (resistentie) voor apoptose.

Het eerste mechanisme betreft de klasse 1 mutaties: het optreden van deze mutaties levert de cellen een groeivoordeel op.

De meest bekende klasse 1 mutatie bestaat uit een verdubbeling van een specifiek gebied in het gen dat codeert voor de zogenaamde FLT3-receptor.

Deze prognostisch ongunstige mutatie vormt een doelwit voor nieuwe medicijnen (FLT3 remmers) die specifiek gericht zijn tegen cellen met een dergelijk defect. Deze gerichte medicijnen hebben op individuele basis hun effectiviteit al bewezen in grote klinische studies.

Behandeling met deze medicamenten leidt bij een subgroep van de AML patiënten tot verlenging van de lange termijn overleving.

Vroege uitleesparameters om de effectiviteit van deze medicijnen te testen ontbreken echter op dit moment.

In **hoofdstuk 5** wordt onderzocht of het meten van de frequentie van MRD cellen na chemotherapie een goede korte termijn uitleesmaat zou kunnen bieden voor de effectiviteit van FLT3 remmers.

Hiertoe is in het beenmerg van een groep van 265 patiënten de mutatie status van het FLT3-gen bepaald. Een deel van deze patiënten hebben we kunnen vervolgen in de loop van hun ziekte: van deze patiënten zijn de MRD frequenties gemeten in beenmerg aspiraten na eerste, tweede en/of derde kuur chemotherapie.

Het bleek dat er zowel na eerste als na tweede chemotherapiekuur een verschil in MRD frequentie bestaat tussen patiënten met en zonder mutaties in het FLT3 gen. Dit verschil was het meest uitgesproken na de eerste chemotherapiekuur. Na deze eerste kuur bleken patiënten met een mutatie 8,5 maal meer MRD cellen in hun beenmerg te hebben.

Stel dat je de patiënten in deze studie zou hebben behandeld met een medicijn dat gericht is op deze specifieke mutatie (FLT3 remmer) dan was het mogelijk geweest aan de hand van de MRD celfrequentie een 8,5-voudig verschil in effectiviteit van een dergelijke inhibitor uit te lezen al na 21-35 dagen na het starten van de gecombineerde therapie.

Het tweede mechanisme dat we hebben bekeken is methylering van tumor suppressor genen (TSGs).

DNA-methylering is een voor de cel simpele maar doeltreffende manier om een gen langdurig uit te schakelen. Methylering is nodig en nuttig, omdat niet in iedere cel alle genen actief hoeven te worden gebruikt.

Wanneer echter een tumor suppressor gen door een fout gemethyleerd raakt en daardoor inactief wordt, is dit gen niet meer in staat de cel te beschermen tegen tumorvorming.

Individuele TSGs kunnen een regulerende rol spelen in verschillend celprocessen, zoals hechting van cellen, celdeling en apoptose. Echter voor een groot aantal van de TSGs is een directe relatie met de celfunctie (nog) niet aangetoond.

In **hoofdstuk 6**, hebben we de methylerings status van 25 TSGs bepaald in beenmerg aspiraten van 119 AML patiënten op het moment van diagnose met behulp van de MS-MLPA (methylerings specifieke-MLPA).

Het bleek dat methylering van de TSG die wij hebben onderzocht, soms geassocieerd is met langere overleving en soms geassocieerd is met een kortere overleving.

Analoog aan hoofdstuk 2, hebben we ook hier gekeken naar associaties tussen de methylerings status van verschillende TSGs. TSG methylering bleek sterk geassocieerd te zijn, deze associatie bleek voorts het best voorspeld te worden door een gemethyleerde status van het gen ESR1 (oestrogeen receptor 1).

Methylering van dit specifieke gen was geassocieerd met langere overleving en een jongere leeftijd, methylering van genen die geassocieerd zijn met ESR1 methylering waren over het algemeen geassocieerd met kortere overleving en prognostisch ongunstige cytogenetische afwijkingen.

Mogelijk betekent dit dat methylering van ESR1, het de cel mogelijk maakt om (tijdelijk) afwijkingen in methylering te stapelen zonder dat dit al leidt tot ontregeling van de celgroei.

In dit hoofdstuk laten we verder zien dat het mogelijk is om aan de hand van de methylering status van combinaties van genen de overleving van patiënten te voorspellen, zowel in de totale populatie als ook in de patiënten met intermediaire cytogenetica.

Tenslotte wordt in **hoofdstuk 7** gekeken of DNA methylering van genen die geassocieerd zijn met Fanconi Anemie (FA) een rol kan spelen in het ontstaan van sporadische acute leukemie.

Fanconi Anemie is een ziekte waarbij er defecten zijn opgetreden in genen die een rol spelen bij de reparatie van defecten in het DNA. Bij patiënten met FA is de functie van deze genen verstoord; deze patiënten hebben dus ook een groter risico om verschillende vormen van kanker te ontwikkelen, omdat zij schade aan het DNA niet meer kunnen repareren.

Een van de veel voorkomende kankers bij deze patiënten is acute myeloïde leukemie. et behulp van de in hoofdstuk 6 beschreven MS-MLPA techniek hebben we de methylerings status van 11 FA genen bepaald in 139 AML en 97 ALL beenmerg biopten.

Methylering van FA genen kwam weinig voor: Methylering van het zogenaamde FANCC gen werd gevonden in een AML die ook eigenschappen van een acute

lymfatische leukemie (ALL) had, alsook in drie biopten van patiënten met ALL. Het FANCL gen werd gemethyleerd gevonden in één ALL sample.

Er is in deze studie tevens gekeken of selectie van AML patiënten met genetische defecten die veel voorkomen bij patiënten met FA leidt tot het vinden van een verhoogde frequentie van FA methylerings defecten; dit bleek niet het geval te zijn.

De methyleringsstatus van deze genen kon bevestigd worden m.b.v. het zogenaamde bisulfiet sequenzen.

Tevens bleek dat cellen van AML patiënten met FA gemethyleerde genen, meer gevoelig waren voor bepaalde chemotherapeutische middelen waarvan bekend is dat cellen van patiënten met Fanconi Anemie daar ook verhoogde gevoeligheid voor laten zien. Deze specifieke middelen worden slechts sporadisch gebruikt in de behandeling van AML en ALL en zouden derhalve een waardevolle toevoeging kunnen vormen bij de behandeling van een selectie van patiënten.

### TOEKOMSTPLANNEN

In dit proefschrift worden een aantal verschillende genetisch en niet-genetische (epigenetische-, zoals gen-methylering) mechanismen beschreven die ieder op hun eigen wijze kunnen bijdragen aan resistentie tegen chemotherapie.

Voor een aantal van deze mechanismen hebben we laten zien dat zij niet alleen bepalend zijn voor de karakteristiek van de leukemie maar tevens voorspelende waarde hebben voor wat betreft overleving van de patiënt en daarenboven een aangrijpingspunt vormen voor nieuwe therapeutische strategieën.

Mogelijk dat het combineren van informatie over verschillende resistentie eigenschappen leidt tot een verfijnde karakterisering en voorspelling van het verloop van de ziekte, alhoewel grote overlap in resistentie karakteristieken van verschillende parameters op diverse gronden aannemelijk is: verschillende resistentie karakteristieken leiden op analoge wijze tot identificatie van groepen patiënten met korte dan wel lange overleving. Tevens wordt er op basis van resistentie karakteristieken een groep patiënten geïdentificeerd voor wie overleving niet te voorspellen valt op basis van de onderzochte resistentie karakteristiek.

De vraag is of therapie falen in deze groep gebaseerd is op een (nog nader te identificeren) resistentie karakteristiek. Mogelijk echter wordt therapie falen in deze groep niet zozeer bepaald door resistentie als wel door beschikbaarheid van het chemotherapeuticum in het beenmerg en bestaat er voor deze groep een noodzaak tot een volledig andere aanpak.

De uitdaging voor de toekomst ligt erin deze biologische verscheidenheden te bundelen en te incorporeren in nieuwe therapeutische strategieën. Het belang van middelen die gericht zijn op specifieke enkelvoudige dan wel gecombineerde defecten zou afhankelijk kunnen zijn van specifieke genetische en epigenetische eigenschappen. De lopende en toekomstige klinische studies met enkelvoudige en/of gecombineerde geneesmiddelen welke gericht zijn op specifieke defecten, zullen uitwijzen hoe we patiënten uiteindelijk in aanmerking laten komen voor bepaalde combinaties en of deze nieuwe combinaties dan in staat zullen zijn om de bestaande therapieën te vervangen dan wel aan te vullen.