

VU Research Portal

Immune modulation of bone marrow-derived cells in Ischemic Heart Disease

Yildirim, C.

2015

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Yildirim, C. (2015). *Immune modulation of bone marrow-derived cells in Ischemic Heart Disease*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Hart- en vaatziekten is nog steeds de belangrijkste doodsoorzaak in de westerse landen. Grote vooruitgang in onderzoek is geboekt in het afgelopen decennium bij de preventie en behandeling van hart- en vaatziekten. Veel onderzoek is gericht op de rol van ontsteking en het immuunsysteem in de pathogenese van hart- en vaatziekten. In dit proefschrift hebben we de immuun modulerende effecten van TLR activatie (**hoofdstuk 2**), type I IFN signalering (**hoofdstuk 3**), p66Shc activatie (**hoofdstuk 4**), glucocorticosteroiden en M-CSF (**hoofdstuk 5**), en galectin-2 (**hoofdstuk 6**) in de pathogenese en behandeling van ischemische hartziekten onderzocht, met nadruk op hun rol in beenmerg-afgeleide cellen. In dit proefschrift worden de resultaten van ons onderzoek beschreven, waarin we nieuwe immuun modulerende targets en strategieën tonen om ischemische hartziekten te voorkomen en/of te behandelen.

Immuun modulatoren in acuut myocardinfarct

In **hoofdstuk 2**, hebben we de gen expressie van TLRs en hun downstream effectoren bestudeerd in circulerende leukocyten tijdens acuut myocardinfarct (AMI) in een specifieke patiëntgroep, en hoe deze gerelateerd zijn aan de hartfunctie. We hebben aangetoond dat de TLR signalering route actief is door toename in de expressie van TLR4 en zijn downstream effectoren, met inbegrip van IL-18R1, IL-18R2, IL-8, MMP9, HIF1A en NFKBIA. In tegenstelling, werd de expressie van klassieke TLR-geïnduceerde genen, TNF- α en IL-1B, verminderd tijdens AMI. Deze verhoogde niet-canonieke TLR4 reactie tijdens AMI kan worden verklaard door de activatie van transcriptiefactor HIF-1 α . Verhoogde TLR4, HIF1A en IL-18R1/2 expressie verscheen alvorens troponine T afgifte, een marker voor hartschade. Alleen HIF1A en IL-18R1/2 expressie correleerde met de mate van ischemie, en suggereert dat hart ischemie een voldoende trigger is voor de inductie van HIF1A en IL18R expressie in circulerende leukocyten.

Immuun modulatoren in neovascularisatie

Circulerende angiogene cellen (CAC) zijn belangrijke effectoren van neovascularisatie die eerder aangewezen waren als vroege endotheel voorloper cellen (EPC). CAC zijn beenmerg-afgeleide bloed cellen die de kenmerken van endotheelcellen en monocyt/macrofagen delen na *in vitro* conditionering. In **hoofdstuk 3**, hebben we een mogelijke downstream effector molecuul van interferon (IFN)- β in CAC geïdentificeerd, dat de remming van IFN- β op arteriogenese (collateraal vorming) in patiënten met coronaire hartziekte met onvoldoende myocard perfusie zou kunnen verklaren. Voor dit doeleinde hebben wij de effecten van IFN- β en calpain 1 (een calcium-afhankelijke eiwitplitsend enzym) onderzocht, op het aantal CAC *in vitro* en hun functie in neovascularisatie met behulp van een *in vitro*

assay. We hebben aangetoond dat IFN- β het aantal CAC *in vitro* verminderd zowel tijdens differentiatie uit mononucleaire cellen (MNC) als na differentiatie op fibronectine, een verhoogd extracellulaire matrix eiwit tijdens neovascularisatie. Het verminderde aantal CAC door IFN- β was niet direct veroorzaakt door cel dood, maar door verminderde hechting en verspreiding op fibronectine, die afhankelijk was van de adhesiemolecuul $\alpha 5\beta 1$ (VLA-5) integrine. IFN- β beïnvloedde de functionele activiteit van VLA-5 in gedifferentieerde CAC, wat leidt tot cel ronding en loslating van fibronectine, door inductie van calpain 1 activiteit. Cel ronding en loslating werd volledig teruggedraaid door remming van calpain 1 activiteit in gedifferentieerde CAC. Onze data suggereert een rechtstreekse betrokkenheid van calpain 1 in de negatieve effecten van IFN- β op CAC-matrix hechting door proteolytische klieving en inactivatie van VLA-5. Tijdens de vorming van capillair-achtige buisvormige structuren *in vitro*, verhoogde calpain 1 remming in de afwezigheid van IFN- β de buisvorming door endotheelcellen in een fibrine matrix, maar niet de CAC-geïnduceerde optimale endotheelcel buisvorming. De adhesie van endotheelcellen op fibrine wordt gemedieerd door de adhesiemoleculen VLA-5 en $\alpha v\beta 3$, die capillair-achtige buisvorming *in vitro* stimuleren. Calpain 1 inactivatie in endotheelcellen leidt waarschijnlijk tot verhoogde VLA-5 en $\alpha v\beta 3$ integrine activatie, verbetering van endotheelcel-matrix hechting en dus buisvorming. CAC hechten aan endotheelcellen voornamelijk via $\beta 2$ integrine, die belangrijk is voor homing en neovascularisatie capaciteit van CAC *in vivo*. CAC verhoogden endotheelcel buisvorming in onze studie, die waarschijnlijk is gemedieerd door $\beta 2$ integrine activatie. Calpain 1 inactivatie in CAC leidt waarschijnlijk niet tot verhoogde $\beta 2$ integrine activatie. Tot slot, verminderde de aanwezigheid van IFN- β in de capillair-achtige buisvorming assay endotheelcel buisvorming en CAC-geïnduceerde endotheelcel buisvorming. Calpain 1 remming was niet voldoende om IFN- β -verminderde endotheelcel buisvorming en CAC-geïnduceerde endotheelcel buisvorming te herstellen, waaruit blijkt dat andere factoren dan calpain 1 mogelijk meer verantwoordelijk zijn voor de anti-arteriogene effect of IFN- β *in vivo*.

In **hoofdstuk 4**, hebben we het effect van hoge levels van palmitinezuur, een verzadigde vrije (niet-veresterde) vetzuur verhoogd bij diabetes patiënten onderzocht op oxidatieve stress inductie in CAC, en het aantal CAC en hun angiogene functie *in vitro*. We hebben ook de rol van oxidant adapter enzym p66Shc onderzocht in de bemiddeling van palmitinezuur effecten op oxidatieve status en angiogene functie van CAC *in vitro*. Bovendien, hebben we de heilzame werking van resveratrol, een polyfenol aanwezig in druif en rode wijn met een anti-oxidant potentieel, op palmitinezuur-geïnduceerde effecten op CAC bepaald. Hoge levels van palmitinezuur induceerde oxidatieve stress, p66Shc overexpressie, maar had geen invloed op het aantal CAC. Daarnaast kunnen hoge levels palmitinezuur de angiogene potentieel van CAC negatief beïnvloeden door onafhankelijke inductie van de expressies van de schadelijke cytokine TNF- α en groeifactor VEGF-A, en vermindering van de expressies van de chemokine SDF-1 α , adhesiemolecuul PECAM-1 en angiogene receptoren CXCR4,

VEGFR-2 en Tie2 die belangrijk zijn voor de neovascularisatie *in vivo* door het induceren van CAC mobilisatie en homing. Uitschakelen van het gen voor p66Shc enzym beïnvloedde niet de palmitinezuur-geïnduceerde oxidatieve stress, wat suggereert dat p66Shc een effector is van oxidatieve stress, of andere bronnen van oxidatieve stress zijn dominantier dan het mitochondriaal-gegenereerd oxidatieve stress. Een belangrijke bevinding was dat het uitschakelen van het gen voor p66Shc enzym leidde tot een verminderde palmitinezuur-geïnduceerde TNF- α en VEGF-A expressie. Bovendien, had het wegvangen van oxidatieve stress door het anti-oxidant N-acetylcysteïne geen effect op palmitinezuur-geïnduceerde p66Shc, TNF- α en VEGF-A expressie, wat aangeeft dat p66Shc geen effector is van oxidatieve stress. Verder, leidde het wegvangen van oxidatieve stress en het uitschakelen van het p66Shc gen niet tot het herstel van palmitinezuur-gereduceerde SDF-1 α en PECAM-1 expressie, wat aangeeft dat deze twee genen oxidatieve stress- en p66Shc-onafhankelijk gereguleerd worden. CAC van diabetes patiënten waren ook niet beïnvloed in aantal, maar toonden verhoogde oxidatieve stress, die verzwakt werd door resveratrol. Resveratrol herstelde palmitinezuur-geïnduceerde oxidatieve stress en p66Shc expressie, normaliseerde TNF- α , VEGF-A, PECAM-1 en CXCR4, maar niet de SDF-1 α en VEGFR-2 expressie levels. Bovendien, verbeterde resveratrol de palmitinezuur-aangetaste CAC migratie naar VEGF-A, wat suggereert dat resveratrol de gevoeligheid van VEGFR-2 voor VEGF-A verhoogd. Resveratrol verbeterde palmitinezuur-aangetaste chemokinese, een functie die wordt gecontroleerd door stikstofmonoxide productie in CAC. In onze studie, observeerden we echter geen verandering van de expressie levels van eNOS (enzym dat stikstofmonoxide productie katalyseert) na palmitinezuur behandeling, wat suggereert dat resveratrol eNOS activiteit verbetert en/of de biologische beschikbaarheid van stikstofmonoxide door het verminderen van palmitinezuur-geïnduceerde oxidatieve stress.

Het gebruik van humane CAC als potentiële therapeutische middel is veelbelovend in de vasculaire reparatie bij de behandeling van hart ischemie en myocardinfarct *in vivo*. Echter, er is weinig bekend over de pro-angiogene factoren en mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de therapeutische werking van CAC *in vivo*. Dit is van belang voor de identificatie van nieuwe strategieën voor het optimaliseren van humane CAC voor therapeutische neovascularisatie om ischemische hartziekten bij patiënten succesvol te kunnen behandelen. Aangezien therapeutische neovascularisatie vermeerdering van het aantal CAC vereist of verbetering in hun functie, kunnen nieuwe strategieën betrekking hebben op het aanbrengen van wijzigingen in de kweekmethoden van CAC. In **hoofdstuk 5**, hebben we het potentieel van verschillende factoren beschreven om de neovascularisatie capaciteit van humane CAC te verhogen door onderzoek te doen naar de effecten op aantal en functie *in vitro*, en hun relatie tot monocyt en macrofaag subtypen. We hebben aangetoond dat alle humane monocyt subtypes (klassieke, intermediaire en niet-klassieke) differentiëren tot CAC wanneer deze gekweekt worden in endotheel groeimedium (EGM), die gekenmerkt

worden door hun hechting aan fibronectine, opname van Dil-Ac-LDL (fluorescent gelabelde lipoproteïne) en binding aan Ulex-lectine (fluorescent gelabelde koolhydraat-bindend proteïne). EGM-afgeleide CAC vertoonden de angiogene receptoren VEGFR-2 en Tie2 aan hun oppervlak, die belangrijk zijn voor hun angiogene functie. Uit de EGM componenten, hebben we de pro-angiogene factor geïdentificeerd die essentieel is voor CAC differentiatie. Specifiek, hydrocortison induceerde Tie2 (en VEGFR-2 alleen bij hoogste farmacologische concentratie), en verminderde CD14 oppervlakte eiwit expressie, wat aangeeft dat CAC het M2 macrofaag fenotype hebben verkregen. Deze effecten werden door de verwante glucocorticosteroïde, dexamethason gereproduceerd. Behandeling met macrofaag koloniestimulerende factor, M-CSF verhoogde het effect van hydrocortison op VEGFR-2 oppervlakte eiwit expressie tot levels hoger dan de expressie levels op M2 macrofagen. CAC deelden een aantal M2 differentiatie markers, maar hun angiogene capaciteit lijkt veel hoger dan M2 macrofagen, gekenmerkt door hogere gen expressie levels van paracrine pro-angiogene factoren zoals IL-8, VEGF-B, HGF, PDGF-B, PDGF-C en CXCL12. Echter, glucocorticosteroïden en M-CSF waren van minder belang voor paracrine pro-angiogene factor productie vergeleken met endotheel basaal medium (EBM), met name IL-8 werd verminderd door beide componenten. Dit kwam ook tot uiting in een *in vitro* angiogenese model. VEGF-gedreven endotheelcel buisvorming was alleen aanzienlijk verbeterd door EBM-afgeleide CAC, terwijl hydrocortison en M-CSF het stimulerende effect van EBM handhaafden. Het feit dat hydrocortison en M-CSF VEGF-gedreven angiogenese door CAC *in vitro* niet verder verhoogden, kan worden toegeschreven aan verminderde IL-8 secretie, wat leidt tot inactivatie van de VEGFR-2 downstream signalering route in CAC. Verrassenderwijs, verhoogde M-CSF niet de VEGF-gedreven angiogenese door VEGFR-2 expressie te verhogen, maar vermeerde het aantal CAC tijdens differentiatie uit MNC door inductie van cel proliferatie *in vitro*. Hydrocortison, daarentegen remde gedeeltelijk cel proliferatie. Wanneer gelijke aantallen cellen waren toegevoegd, hadden M-CSF-afgeleide CAC gelijke stimulerende effecten op endotheelcel buisvorming vergeleken met CAC gegroeid in de afwezigheid van M-CSF.

Naast CAC zijn monocyt/macrofagen ook belangrijke effectoren van arteriogenese. In **hoofdstuk 6**, hebben we het mechanisme bestudeerd waardoor humane galectine-2 zijn anti-arteriogene effect uitoefent op zowel monocyt en macrofagen door de veranderingen in hun fenotype en fysiologie *in vitro* en *in vivo* te onderzoeken. We hebben aangetoond dat galectine-2 bindt aan monocyt door CD14. Galectine-2 is een koolhydraat-bindend eiwit, wat suggereert dat binding aan CD14 koolhydraat-afhankelijk is. Echter, de binding van galectine-2 op monocyt werd niet beïnvloed door verschillende koolhydraten toe te voegen, wat aangeeft dat de interactie met CD14 een eiwit-eiwit interactie is. Bovendien, was galectine-2 binding hoger in monocyt subtypes met CD14hoog expressie (klassieke en intermediaire) dan de CD14laag subtype (niet-klassieke). Galectine-2 induceerde pro-

inflammatoire cytokinen in monocyten door CD14/TLR4 in een koolhydraat-onafhankelijke manier. Galectin-2 verminderde monocyten migratie, en expressie van pro-arteriogene factoren door monocyten. Bovendien, bond galectine-2 ook macrofagen en induceerde een M1-achtige fenotype in twee verschillende macrofaag subtypen, wat gekenmerkt wordt door een uitgerekte cel vorm, expressie van actine filamenten (een belangrijk cytoskelet eiwit), verminderde motiliteit, verhoogde expressie van pro-inflammatoire cytokinen en costimulatorische molecuul CD40, en verminderde expressie van de anti-inflammatoire molecuul mannose receptor (CD206). Galectin-2 modificeerde gedifferentieerde M2 macrofagen gedeeltelijk naar M1 macrofagen, aangezien persistente expressie van sommige M2 markers werd gevonden in M2 macrofagen. Dit kan te wijten zijn aan de verschillen in CD14 expressie levels tussen de verschillende macrofaag subtypen, die de galectine-2 binding kunnen beïnvloeden. M2 macrofagen brengen lagere hoeveelheden van CD14 eiwit tot expressie vergeleken met M1 macrofagen, wat veroorzaakt wordt door IL-4. In een muis achterpoot model van arteriogenese, lieten we zien dat het anti-arteriogene effect van galectine-2 gepaard gaat met verhoogde aantallen pro-inflammatoire CD40-positieve (M1) en verminderd aantal anti-inflammatoire CD206-positieve (M2) macrofagen rond collaterale slagaders.

Conclusies en toekomstperspectieven

Grote vooruitgang in onderzoek is geboekt in het afgelopen decennium bij de preventie en behandeling van ischemische hartziekten. Veel onderzoek is gericht op de rol van ontsteking en het immuunsysteem in de pathogenese van ischemische hartziekten. De studies beschreven in dit proefschrift hebben geleid tot nieuwe targets en strategieën in beenmerg-afgeleide cellen zoals monocyten/macrofagen en CAC om ischemische hartziekten te voorkomen en/of te behandelen, die de mate van hart schade kunnen beperken en de hartfunctie kunnen verbeteren. In dit proefschrift worden een aantal immuun modulerende moleculen in beenmerg-afgeleide cellen gepresenteerd, die gebruikt kunnen worden om atherosclerose progressie te voorkomen en ter verbetering van hun vasculaire reparatie eigenschappen.

Ten eerste, hebben we een nieuwe HIF-1 α -afhankelijk niet-canonieke TLR4 activatie route in circulerende leukocyten van AMI patiënten ontdekt wat leidt tot verhoogde IL-18R expressie die correleerde met de omvang van het ischemische hart gebied. Bij langdurige hart ischemie neemt de productie van de pro-inflammatoire, atherogene, anti-angiogene IL-18 cytokine in het ischemische hart gebied toe, waarop de leukocyten reageren. Als gevolg hiervan, migreren de leukocyten, met name de monocyten hier naar toe en scheiden pro-inflammatoire cytokinen uit die de hartfunctie kunnen beschadigen. Deze kennis kan een diagnostische en prognostische waarde hebben voor patiënten met een myocardinfarct. Een mogelijk target ter verbetering van de hartfunctie tijdens AMI zou IL-18 kunnen zijn door

neutralisatie van de circulerende levels met behulp van een IL-18-bindend eiwit (IL-18BP) of een IL-18 blokkerende antilichaam. Dit kan alleen worden gerealiseerd bij AMI patiënten met langere periodes van hart ischemie en dus hoge IL-18 levels. In diermodellen is dit strategie al succesvol gebleken. Echter, de veiligheid en werkzaamheid van recombinante humane IL-18BP en een blokkerend gehumaniseerd monoklonale IL-18 antilichaam is nog in de eerste fasen van klinische onderzoek voor psoriasis en reumatoïde artritis en diabetes type 2.

Ten tweede, hebben we aangetoond dat de IFN- β -geïnduceerde vermindering van het aantal *in vitro* gedifferentieerde CAC is gebaseerd op activatie van calpain 1, wat resulteert in een verminderde hechting en verspreiding op ECM eiwit fibronectine via VLA-5. *In vivo* zou dit kunnen leiden tot remming van neovascularisatie als gevolg van vermindering van de ter plaatse aangetrokken CAC aantallen en hun paracrine pro-angiogene factoren. Verdere dierlijke experimentele studies zijn nodig om het *in vivo* effect van calpain 1 activiteit in gedifferentieerde CAC met betrekking tot neovascularisatie te kunnen begrijpen. Daarvoor is het noodzakelijk om gedifferentieerde CAC *in vivo* te kunnen karakteriseren. Echter, de focus van onderzoek ligt nu nog steeds op het begrijpen van de immunofenotypische kenmerken van CAC. Calpain 1 remming kan de aantallen van gedifferentieerde CAC in het neovascularisatie gebied *in vivo* verbeteren, maar het zal niet de invloed van IFN- β op CAC functie herstellen. Therapeutisch effect van calpain remmers is bewezen in de vermindering van ischemie/reperfusie schade, atherosclerose en myocard infarct *in vivo*. Echter, celtypen- en isovorm-specifieke targeting van calpain is essentieel om ernstige bijwerkingen te voorkomen, wat een belangrijk aspect van toekomstig onderzoek vormt. Kortom, calpains kunnen in de toekomst als kandidaat moleculaire targets worden beschouwd voor patiënten die lijden aan ischemische hartziekten.

Ten derde, is p66Shc een potentiële therapeutisch target voor de behandeling van cardiovasculaire complicaties bij diabetes patiënten, sinds dit enzym betrokken is bij atherosclerose ontwikkeling en angiogenese remming *in vivo*. In lijn met de laatste studie, hebben we aangetoond dat blootstelling van humane CAC aan een diabetisch conditie zoals hoge concentratie palmitinezuur *in vitro* leidt tot verhoging van oxidatieve stress dat gepaard gaat met een verhoogde expressie van oxidant adapter enzym p66Shc, die een negatieve invloed zou kunnen hebben op de mobilisatie, homing en angiogene capaciteit van CAC door inductie van TNF- α en VEGF-A expressie. Om dit meer op te helderen, zou het interessant zijn om te onderzoeken of migratie, pro-vascularisatie receptoren/factoren, en angiogenese ontregeld worden door hoge TNF- α en VEGF-A levels *in vitro*, die kan worden gerealiseerd door overexpressie van p66Shc en hoge TNF- α en VEGF-A levels in CAC te neutraliseren. Resveratrol zou palmitinezuur-geïnduceerde CAC dysfunctie kunnen terugdraaien, mogelijk door het modifieren van de cellen naar een anti-oxidant status via remming van de p66Shc-onafhankelijke inductie van oxidatieve stress en door remming van p66Shc-afhankelijke route. Echter, het mechanisme hoe resveratrol p66Shc expressie

en activatie *in vitro* aantast in CAC blootgesteld aan hoge concentratie palmitinezuur is onbekend. Verschillende moleculaire mechanismen zijn beschreven die p66Shc expressie en activatie kunnen regelen, waaronder 1) p53 acetylering, 2) PKC- β II fosforylering, 3) MEK-ERK activatie, 4) serine 36 fosforylering, en 5) pin1 activatie. Een andere bevinding was dat CAC van diabetes patiënten ook verhoogde oxidatieve stress vertoonden, zelfs na 7 dagen van *in vitro* kweek, die kan worden toegeschreven aan metabole geheugen door p66Shc. Het is echter onbekend of diabetische CAC p66Shc eiwit expressie en activatie vertonen *in vitro*, en wat het effect is op mitochondriaal-gegenereerd oxidatieve stress.

Ten vierde, hebben we een nieuwe *ex vivo* strategie geïdentificeerd om humane CAC voor therapeutische neovascularisatie *in vivo* te optimaliseren op het gebied van ischemische hartziekten. We hebben aangetoond dat hydrocortison en M-CSF behandeling een angiogene fenotype in CAC bevorderen. Hydrocortison induceert Tie2 expressie met name, terwijl M-CSF VEGFR-2 expressie induceert en de CAC aantallen vermeerdert. Echter, VEGFR-2 op CAC zou niet functioneel kunnen zijn tijdens neovascularisatie *in vivo*, die kan worden toegeschreven aan verminderde IL-8 expressie levels. Verhoogde Tie2 expressie zou een potentieel hebben bij het verbeteren van neovascularisatie door CAC *in vivo*. Tie2 ligand, angiopoietine-2 is verhoogd in het ischemisch gebied en zou als een chemo-attractant kunnen fungeren voor Tie2-expresserende CAC en hun angiogene activiteit *in vivo* kunnen verbeteren. Kortom, *ex vivo* behandeling van monocytten met hydrocortison en M-CSF vormt een groot potentieel voor klinische toepassing bij het verbeteren van neovascularisatie van ischemische weefsels.

Tot slot, hebben we het mechanisme geïdentificeerd waarmee galectine-2 arteriogenese in patiënten met coronaire hartziekte kan schaden. We hebben aangetoond dat humane galectine-2 een endogene ligand is voor CD14, wat leidt tot de inductie van een pro-inflammatoire fenotype in monocytten en macrofagen door TLR4 signalering route te activeren. Remming van de galectine-2/TLR4-gemedieerde ontstekingsreactie of onderdrukking van de verhoogde galectine-2 gen expressie in monocytten/macrofagen van patiënten met coronaire hartziekte met een verminderde arteriogene respons is een veelbelovende toekomst strategie voor de stimulering van arteriogenese.

Samengevat, hebben we een aantal nieuwe immuun modulerende targets en strategieën in beenmerg-afgeleide cellen beschreven, die gebruikt kunnen worden om de progressie van atherosclerose te voorkomen en neovascularisatie te verbeteren bij patiënten met ischemische hartziekten. Er zijn echter verdere studies vereist voordat deze targets en strategieën kunnen worden toegepast in de kliniek.