



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The role of microRNA alterations in post-ischemic neovascularization

Kwast, R.V.C.T. van der

Citation

Kwast, R. V. C. T. van der. (2020, October 15). *The role of microRNA alterations in post-ischemic neovascularization*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/137728>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/137728>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden

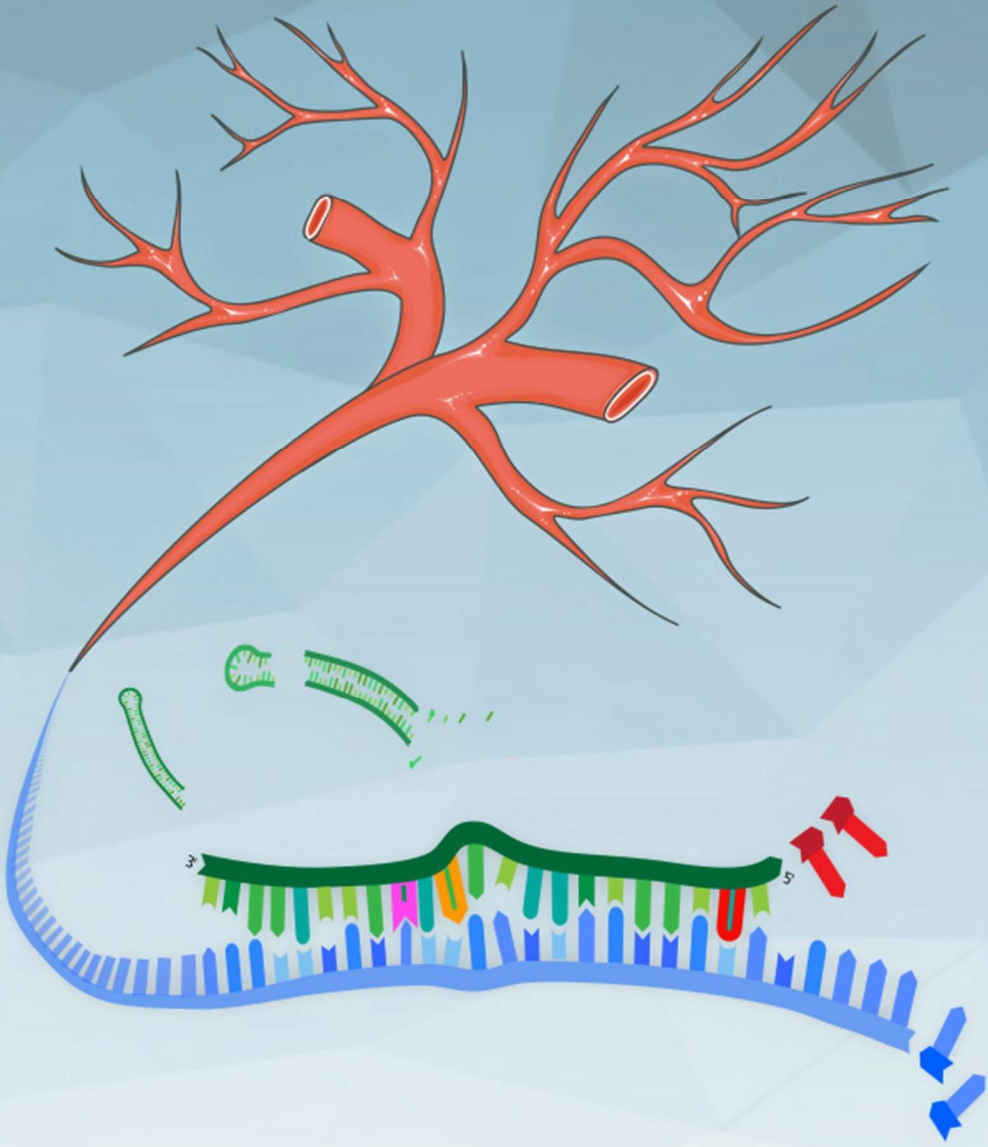


The handle <http://hdl.handle.net/1887/137728> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Kwast, R.V.C.T. van der

Title: The role of microRNA alterations in post-ischemic neovascularization

Issue Date: 2020-10-15



APPENDIX

Nederlandse Samenvatting

Curriculum Vitae

List of Publications

Acknowledgements

Nederlandse Samenvatting

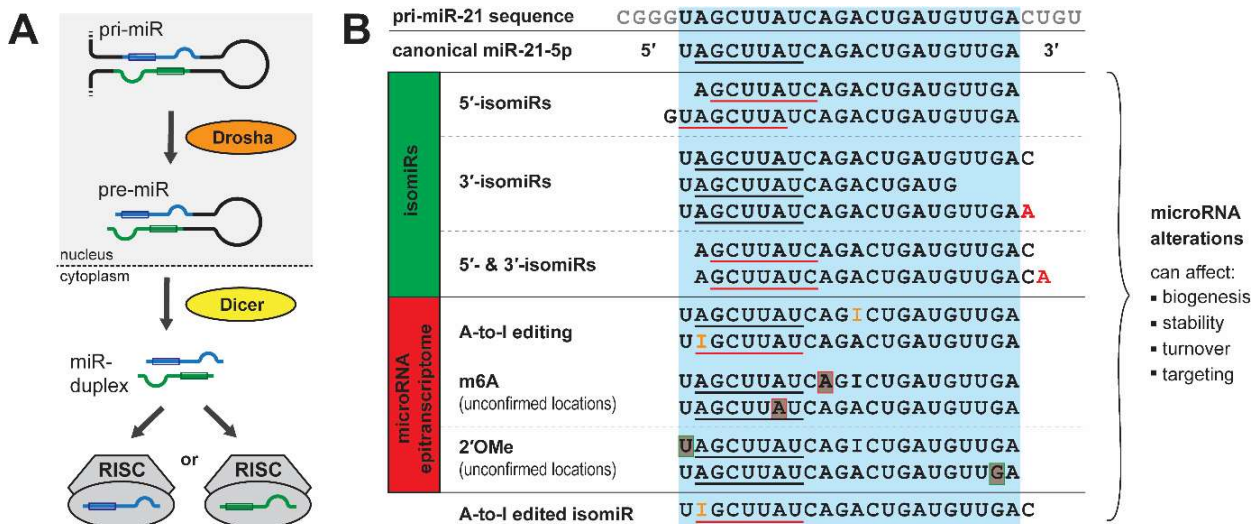
INTRODUCTIE

Het hart en de bloedvaten vormen samen het cardiovasculaire systeem, dat zorgdraagt voor de bloedcirculatie in het lichaam. Hart- en vaatziekten (HVZ) zijn wereldwijd de meest voorkomende doodsoorzaak. Hoewel de huidige behandelingen de levensduur en het welzijn van patiënten aanzienlijk hebben verbeterd, wordt geschat dat ze voor 30% van de patiënten ongeschikt of onvoldoende zijn. Om deze reden is er een dringende behoefte aan nieuwe innovatieve, therapeutische behandelingen voor HVZ.

Hoewel HVZ diverse en complexe pathologieën hebben, resulteren ze over het algemeen in ischemie, oftewel lokale tekorten in de bloedtoevoer. Het lichaam heeft een aangeboren reactiemechanisme dat het herstel van de bloedtoevoer naar ischemische weefsels stimuleert, i.e. neovascularisatie. Neovascularisatie bestaat uit angiogenese, de groei van nieuwe bloedvaten, en arteriogenese, de maturatie van de kleine bloedvaten die grotere slagaders verbinden.

In het afgelopen decennium is aangetoond dat een specifiek type van kleine regulerende moleculen, de microRNAs, belangrijke regulatoren zijn van neovascularisatie. Een uitkomst die aangeeft dat deze microRNAs mogelijk zouden kunnen dienen als therapeutisch doelwit voor ischemische HVZ. MicroRNAs zijn kleine RNA-moleculen die eiwitexpressie reguleren. Dit doen ze door zich te binden aan eiwit-coderende RNAs met een complementaire sequentie. Het gevolg hiervan is dat deze RNAs niet meer kunnen dienen als blauwdruk voor eiwitsynthese, waardoor de aanmaak van specifieke eiwitten wordt verminderd.

Net als andere RNAs hebben microRNAs twee unieke uiteinden: een 5'-uiteinde en een 3'-uiteinde. Het 5'-uiteinde van een microRNA is extra belangrijk, omdat dit deel de herkenningssequentie bevat die de bindingskeuze van een microRNA grotendeels bepaald. Deze herkenningssequentie bestaat uit de 2^{de} tot en met 8^{ste} nucleotiden aan het 5'-uiteinde van een microRNA. Deze nucleotiden van een microRNA bepalen dus welke groep eiwitcoderende genen door hem gereguleerd wordt, oftewel het



Figuur 1: microRNA biogenese (A) en veranderingen (B). Veranderingen van microRNA-21 (miR-21) zijn gebruikt om verschillende soorten microRNA-veranderingen te illustreren. De herkenningssequentie van elke microRNA-versie bestaat uit de onderstreepte nucleotiden.

‘targetome’ van het microRNA. De targetome van een enkel microRNA kan tientallen tot honderden verschillende eiwit-coderende RNAs bevatten, waardoor microRNAs complexe processen kunnen reguleren, waaronder neovascularisatie.

De biogenese van microRNAs begint met de transcriptie van het microRNA-bevattende gen, wat een primair microRNA (pri-miR) oplevert. Pri-miR's worden sequentieel geknipt door ribonucleasen DROSHA en DICER, waarna het volwassen microRNA wordt opgenomen in het RNA-geïnduceerde uitschakelings-complex (RISC) om functioneel te worden (Figuur 1A).

MICRORNA VERANDERINGEN

MicroRNAs worden over het algemeen gedefinieerd als een enkele sequentie van RNA-nucleotiden. Recente studies hebben echter aangetoond dat de ‘standaard’ microRNA-sequentie tijdens microRNA biogenese vaak op een aantal manieren wordt veranderd. Deze microRNA-veranderingen kunnen de expressie en zelfs de werking van het aangepaste microRNA veranderen. Tot nu toe was echter onduidelijk of microRNA-veranderingen een functionele rol kunnen spelen bij HVZ.

In dit proefschrift is onderzocht of veranderingen van microRNAs met een vasculaire functie een direct effect kunnen hebben op de expressie en de functie van het microRNA, en of dit mogelijk het neovascularisatie-proces kan beïnvloeden.

Daartoe hebben we een subset van prominente microRNA-veranderingen bestudeerd en ontdekten dat ze inderdaad aanwezig zijn in vasculaire microRNAs. Verder bleken de onderzochte microRNA-veranderingen dynamisch te worden gereguleerd tijdens de lichamelijke respons op ischemie, vaak resulterend in functionele veranderingen die de angiogenese beïnvloeden.

In **hoofdstuk 2** vatten we de bestaande kennis over microRNA-veranderingen samen. Ook worden de wetenschappelijke bevindingen besproken, die suggereren dat microRNA-veranderingen een rol spelen bij neovascularisatie.

In dit hoofdstuk geven we bovendien aan dat microRNA-veranderingen in twee verschillende typen kunnen worden gegroepeerd: isomiRs en RNA-nucleotide-modificaties (RNMs) (Figuur 1B).

IsomiR's zijn varianten van microRNA-sequenties waaraan een of meer nucleotiden zijn toegevoegd of verwijderd aan hun 5'- en/of 3'-uiteinden in vergelijking met de standaard microRNA-sequentie. IsomiRs komen veel voor en studies hebben aangetoond dat over het algemeen 50% van de totale microRNA-transcripten in cellen en weefsel isomiRs zijn. Bovendien kunnen isomiR-expressieprofielen verschillen per celtype en kunnen ze veranderen tijdens de cellulaire reacties. IsomiR's met veranderde 3'-uiteinden, 3'-isomiR's, komen meer voor dan 5'-isomiRs en hebben vaak een gewijzigde microRNA-stabiliteit en -omzet. Toch hebben 5'-isomiRs vaak een groter effect op de functie van het microRNA doordat 5'-isomiRs een gemuteerde herkenningssequentie heeft en daardoor een gewijzigd targetome. Hoewel de rollen en functies van individuele isomiRs nog grotendeels onbekend zijn, is het toch waarschijnlijk dat isomiRs in het algemeen een belangrijke rol spelen in veel processen doordat ze veel voor komen, gereguleerd worden en tot functionele verschillen leiden.

RNM's zijn biochemische modificaties van de standaard RNA-nucleotiden, die veroorzaakt worden door 'schrijver'-enzymen. Deze RNA-modificerende enzymen zijn aanwezig in alle levende organismen. Er bestaan veel verschillende RNM's, die elk hun eigen unieke eigenschappen hebben. Studies hebben aangetoond dat deze RNA-modificaties een functionele, regulerende rol hebben en het zogenaamde 'epitranscriptome' vormen. Hoewel recente studies de aanwezigheid van talrijke RNMs in microRNAs hebben aangetoond, zijn er slechts twee bekend die de microRNA-functie beïnvloeden: adenosine-naar-inosine modificatie (A-naar-I modificatie) en N6-

adenosine-methylatie (m6A). We bespreken ook de uitkomsten van studies die aangeven dat ten minste 5 andere RNMs waarschijnlijk een rol spelen bij het reguleren van de functie van microRNAs. Desalniettemin is er weinig bekend over de directe invloed van RNMs op vasculaire microRNAs en de mogelijke gevolgen neovascularisatie.

IsomiRs beïnvloeden de adaptieve reacties op ischemie

In **hoofdstuk 3** onderzoeken we of isomiRs een direct effect kunnen hebben op de werking van vasculaire microRNAs, door de expressie van een 5'-isomiR van het vasculaire microRNA miR-411 te bestuderen onder ischemische omstandigheden. We ontdekken dat de expressie van het isomiR weefsel specifiek is. In vaatcellen en vasculair weefsel is de expressie van het isomiR-411 zelfs hoger dan het standaard miR-411. Bovendien ontdekken we dat de isomiR-expressie afneemt ten opzichte van de standaard miR-411-expressie na acute ischemie in zowel humane vasculaire cellen als in een muismodel voor bovenbeen-ischemie. In chronisch ischemische bloedvaten van patiënten daarentegen, is de isomiR-expressie verhoogd. Voor zover wij weten, hebben wij hiermee het eerste bewijs gevonden dat aantoont dat de expressie van een microRNA en zijn isomiR onafhankelijk kan worden gereguleerd in reactie op pathofysiologische veranderingen zoals ischemie.

Door de verschillende stadia van isomiR-411 en standaard miR-411 biogenese te bestuderen, kunnen we aantonen dat het isomiR gevormd wordt door een verschuiving van DROSHA's pri-miR-411 knippositie. Dit resulteert in twee verschillende pre-miR-411-versies met verschillende 5'-uiteinden: een isomiR pre-miR en een standaard pre-miR. Verder kunnen we aantonen dat de veranderingen in relatieve isomiR-expressie niet worden veroorzaakt door veranderingen in de knip- efficiëntie van DROSHA, maar juist door veranderingen in de maturatie-snelheden van het isomiR pre-miR vergeleken met het standaard pre-miR. Hoewel de exacte factoren die deze veranderingen te weeg brengen nog niet zijn gevonden, laten onze bevindingen zien dat isomiR-specifieke maturatie-efficiëntie een verandering van isomiR expressie te weeg kan brengen.

Ten slotte tonen we aan dat isomiR-411 ook een verschillend fysiologisch effect heeft dan het standaard miR-411. Met behulp van verschillende methodes wordt

aangetoond dat het isomiR de expressie van grotendeels andere groep eiwit-coderende genen dan het standaard miR-411 remt, doordat het isomiR een verschoven herkenningssequentie heeft. Daarnaast valideren we dat alleen de standaard miR-411 de TGFB2-eiwitproductie (transformerend groeifactor beta 2) vermindert, terwijl het isomiR alleen de secretie van het pro-angiogene ANGPT1-eiwit (angiopoietine 1) vermindert. Tot slot tonen we aan dat het isomiR de migratiesnelheid van cellen verlaagt in vergelijking met standaard miR-411, wat inderdaad suggereert dat alleen het isomiR anti-angiogene eigenschappen heeft.

Tezamen bieden de bovenstaande bevindingen nieuwe inzichten in de rol van miR-411 en zijn isomiR in de adaptieve reacties op ischemie. Sterker nog, ons onderzoek toont aan dat isomiR-vorming in het algemeen een functioneel fenomeen is, dat actief wordt gereguleerd tijdens ischemie en neovascularisatie kan beïnvloeden. Zoals vermeld in een recensie van ons werk door Dr. Imo Hofer van het UMC Utrecht, kunnen deze inzichten nieuw licht werpen op eerder werk over microRNA-expressieprofielen en regulatie van eiwit-coderende genen door microRNAs, doordat deze studies meestal nog geen rekening hebben gehouden met de mogelijke aanwezigheid en regulatie van isomiR. Tot slot duidt ons onderzoek aan dat isomiR formatie als een onderschatte manier van microRNA regulatie functioneert die nieuwe therapeutische opties zou kunnen opleveren voor HVZ en andere pathologieën.

MicroRNA A-naar-I modificaties stimuleren angiogenese na ischemie

Adenosine-naar-Inosine (A-naar-I) modificaties zijn de biochemische modificatie van adenosine nucleotiden naar inosines. In tegenstelling tot adenosine, bindt inosine bij voorkeur aan cytidine en wordt daarom over het algemeen als guanosine geïnterpreteerd tijdens cellulaire processen. Deze vorm van RNA-bewerking is van levensbelang in zoogdieren en wordt uitgevoerd door ADAR1 of ADAR2 (adenosine-deaminase die werkt op RNA 1 of 2). ADARs modificeren over het algemeen langere transcripten, waaronder pri-miRs. A-naar-I modificatie van pri-miRs beïnvloedt vaak de maturatie van het transcript en kan zelfs het targetome van het microRNA compleet veranderen wanneer bewerking plaatsvindt in de herkenningssequentie van het microRNA. Het is echter niet bekend of microRNA A-naar-I modificaties een functionele rol in de cardiovasculaire biologie en de adaptieve reacties op ischemie.

In een vorige studie heeft onze groep aangetoond dat 4 microRNAs van een microRNA-gencluster, gelokaliseerd op chromosoom 14 in de mens (het 14q32-cluster), het herstel van de bloedstroom na ischemie bij muizen direct beïnvloeden. Een van deze microRNA's, miR-487b, heeft opvallend klein voorspeld targetome vergeleken met andere microRNAs. Desondanks is miR-487b nog steeds sterk geconserveerd in zoogdieren en kan het tegelijkertijd zowel angiogenese als arteriogenese reguleren. Daarom veronderstelden we dat de herkenningssequentie van miR-487b A-naar-I modificatie onder ischemische omstandigheden ondergaat, wat resulteert in een uitbreiding van het targetome.

In **hoofdstuk 4** bewijzen we dat het eerste nucleotide van de herkenningssequentie van miR-487b inderdaad wordt gemodificeerd van een Adenosine naar een Inosine in muizen en mensen weefsels, wat resulteert in een nieuw microRNA, ED-miR-487b. De snelheid van de miR-487b-modificatie neemt toe in een muismodel voor effectieve neovascularisatie na ischemie. Een extra interessante vinding is dat de regulatie van miR-487b-modificatie in het weefsel waar angiogenese na ischemie plaatsvindt, een ander patroon heeft dan in het weefsel waar arteriogenese plaatsvindt. Onze studie toont hiermee voor het eerst aan dat microRNA-modificaties dynamisch gereguleerd kunnen worden, en dat dit gebeurt tijdens de adaptieve reacties op ischemie.

Experimenten die het mechanisme achter de microRNA modificatie bekeken tonen aan dat miR-487b zowel door ADAR1 als ADAR2 gemodificeerd kan worden. De gemeten expressie van ADAR1 en ADAR2 lijkt echter niet direct gecorreleerd te zijn aan de mate van miR-487b-modificatie na ischemie. Deze bevindingen suggereren dat er extra factoren zijn die ook invloed hebben op de mate van A-naar-I modificatie. Voorgaande studies opperden dat 2'-O-methylatie, een andere stabiliserende RNM, adenosines kan beschermen tegen modificatie door ADARs. In onze studie laten we zien dat de adenosine van miR-487b die gemodificeerd kan worden naar een inosine, ook 2'-O-gemethyleerd kan worden. We ontdekken echter dat 2'-O-methylatie van miR-487b, net als de A-naar-I modificatie, toeneemt na ischemie. Aanvullende experimenten tonen ook aan dat 2'-O-methylatie miR-487b niet beschermt tegen A-naar-I modificatie. In plaats daarvan ontdekken we dat er een negatieve correlatie bestaat tussen de expressie van de 'schrijver'-enzymen die verantwoordelijk is voor de

A-naar-I modificatie en 2'-O-methylatie van onder andere miR-487b. Deze nieuwe bevindingen zouden een mogelijke verklaring kunnen vormen voor de negatieve correlatie tussen A-naar-I modificaties en 2'-O-methylatie die in eerdere studies werd gerapporteerd.

De herkenningssequentie van ED-miR-487b is anders dan die van alle andere tot nu toe bekende microRNAs in mensen en muizen. Dit betekent de A-naar-I modificatie een geheel nieuw microRNA met een nieuw targetome creëert. Met verschillende methodes kunnen we bevestigen dat ED-miR-487b inderdaad de expressie van een compleet verschillende set van eiwit-coderende genen dan het standaard miR-487b remt. Verder vinden we dat de expressie van deze ED-miR-487b 'targetgenen' ook sterker geremd wordt in achterbeenweefsels van muizen na ischemie, dan de targetgenen van de ongemodificeerde miR-487b.

Tot slot onderzoeken we of A-naar-I modificatie van miR-487b een effect op neovascularisatie heeft met behulp van verschillende tests van angiogene eigenschappen. In tegenstelling tot het ongemodificeerde miR-487b, bevordert ED-miR-487b celmigratie en de groei van nieuwe bloedvaten. Deze bevindingen tonen aan dat A-naar-I modificaties de functie van microRNAs actief kunnen veranderen tijdens ischemie, wat neovascularisatie kan bevorderen.

Welke andere vasculaire microRNAs naast miR-487b ook A-naar-I modificaties bevatten is echter nog onbekend. Daarom hebben we in **hoofdstuk 5** van de studie geprobeerd andere vasculaire microRNAs die gemodificeerd worden te identificeren, en vervolgens bekeken of deze modificaties mogelijk ook angiogenese beïnvloeden na ischemie. Door gebruik te maken van openbare datasets van zogenaamde *RNA-sequencing*-experimenten kunnen we 35 microRNAs identificeren die mogelijk een rol spelen in HVZ én in verschillende weefsels signalen van A-naar-I modificaties vertonen. We ontdekken dat de pri-miRs van 10 van deze microRNAs inderdaad A-naar-I modificaties bevatten in humane vasculaire fibroblasten en endotheelcellen. Additionele experimenten tonen aan dat de vasculaire pri-miR modificaties over het algemeen worden uitgevoerd door ADAR1 of ADAR2, afhankelijk van het microRNA. Net als bij de A-naar-I modificatie van miR-487b, neemt de hoeveelheid gemodificeerde pri-miRs consequent toe na ischemie, wat een wijdverspreid fenomeen aanduidt .

Vervolgens hebben we ons gericht op de 4 meest voorkomende vasculaire microRNAs die worden gemodificeerd, miR-376a, miR-376c, miR-381 en ook miR-411. Alle vier volwassen microRNAs werden A-naar-I gemodificeerd in hun herkenningssequentie en we tonen aan dat de hoeveelheid gemodificeerde microRNAs ook consequent toeneemt na ischemie in zowel humane cellen als muismodellen voor perifeer vaatlijden. Bovendien ontdekken we dat deze gemodificeerde microRNAs ook sterk verhoogd aanwezig zijn in aderen van patiënten met chronische ischemie als gevolg van perifeer vaatlijden. Hiermee levert onze studie het eerste bewijs dat microRNA modificaties actief worden gereguleerd tijdens HVZ.

De herkenningssequentie van elk van de gemodificeerde vasculaire microRNAs is uniek vergeleken met alle ongemodificeerde microRNAs. Dit betekent dat deze A-naar-I modificaties een geheel nieuw microRNA creëren met een nieuw targetome. Met behulp van verschillende methodes bevestigen we dat de A-naar-I modificaties van miR-376a, miR-376c, miR-381 en miR-411 inderdaad complete verandering van targetgenen veroorzaken.

Bovendien tonen we aan dat de gemodificeerde microRNAs waarschijnlijk ook een functionele impact hebben. De verhoogde expressie van gemodificeerde microRNAs na ischemie in het muismodel gaat namelijk gepaard met een verlaagde expressie van de targetgenen van gemodificeerde microRNAs, terwijl de targetgen-expressie van de ongemodificeerde microRNAs daarentegen onveranderd blijft na ischemie. Ten slotte ontdekken we dat de A-naar-I gemodificeerde microRNAs, net als bij miR-487b, consequent pro-angiogene eigenschappen stimuleren vergeleken met de ongemodificeerde microRNAs.

Tezamen tonen de nieuwe inzichten van deze studies aan dat A-naar-I modificaties van vasculaire microRNAs een wijdverspreid fenomeen is, en wordt geïnduceerd door ischemie. Deze modificaties resulteren vaak in een nieuw microRNA met een unieke herkenningssequentie en dus een uniek targetome, hetgeen in het algemeen leidt tot bevordering van angiogenese. Hiermee tonen wij aan dat microRNA-modificaties een directe rol spelen bij hart- en vaatziekten en dat verhoging van A-naar-I modificaties in vasculaire microRNAs een veelbelovende therapeutische strategie kan zijn om neovascularisatie na ischemie te stimuleren.

N6-adenosine methylering van microRNAs neemt tijdens hypoxie toe

N6-methyladenosine (m6A) is een van de meest voorkomende RNA-nucleotide-modificaties in cellen en weefsels. Deze RNM wordt geïnstalleerd door het m6A 'writer' enzym METTL3. Niet-essentiële cofactoren zoals WTAP (Wilms' tumor 1-geassocieerd proteïne) helpen het methyleringscomplex naar bepaalde methyleringslocaties te brengen. m6A-sites kunnen ook worden gedemethyleerd door 'eraser' enzym ALKBH5 (alkB-homoloog 5) en FTO (vetmassa en obesitas-geassocieerd eiwit). Hierdoor wordt m6A-methylering dynamischer gereguleerd dan de meeste andere RNA-modificaties. m6A-methylering wordt onder andere verhoogd door de hypoxie die harten en vaatziekten veroorzaakt.

m6A-methylering is van vitaal belang en beïnvloedt allerlei processen die de functie en de omzet van RNAs bepalen. Onlangs hebben studies aangetoond dat m6A ook de biogenese en het functioneren van microRNA kan beïnvloeden. m6A-methylering van pri-miRs kan de maturatie van deze transcripten bevorderen, terwijl m6A in het volwassen microRNA de remmingsefficiëntie van het microRNA kan veranderen door de sterkte van de mRNA-microRNA interactie te beïnvloeden.

Recent onderzoek van Berulava et al. toonde aan dat verschillende vasculair actieve microRNAs worden gemethyleerd in HEK293-cellen, een menselijke embryonale niercellijn. Het is echter nog niet bekend of deze volwassen vasoactieve microRNAs ook m6A-gemethyleerd zijn in andere celtypen. Bovendien is het ook nog onduidelijk of microRNA m6A-methylering dynamisch gereguleerd wordt tijdens hypoxie, zoals dat al wel aangetoond is bij m6A-methylering van mRNAs.

In **hoofdstuk 6** onderzoeken we of een groep vasculaire microRNAs gemethyleerd zijn in vasculaire fibroblasten en in een fibroblastcellijn. Dit type cellen was gekozen vanwege hun relatief hoge expressie van microRNAs. Door selectief de microRNAs die m6A bevatten te isoleren, tonen we aan dat 16 van de 19 onderzochte vasculaire microRNAs gemethyleerd zijn in beide soorten fibroblasten. Verder is de methyleringsstatus in fibroblasten van minimaal 7 van de 19 microRNAs verschillend vergeleken met de eerdere studie met HEK293-cellen. Dit geeft aan dat, net als de microRNA-expressie zelf, microRNA m6A-methylering celtypespecifiek kan zijn. Bovendien ontdekken we dat volwassen microRNA m6A toenam tijdens hypoxische condities. Daarom laten onze gegevens voor het eerst zien dat microRNA m6A-

methylatie ook verhoogd wordt tijdens hypoxie en dus ook dynamisch gereguleerd wordt.

Aanvullende metingen tonen aan dat de hypoxie geïnduceerde toename van microRNA m6A-methylering waarschijnlijk niet wordt veroorzaakt door veranderingen in de expressie van met m6A-gerelateerde eiwitten METTL3, WTAP en ALKBH5. Recente studies hebben echter aangetoond dat m6A-niveaus ook kunnen veranderen zonder verschil in m6A-gerelateerde eiwitten, door bijvoorbeeld de methylatie-efficiëntie of maturatie van m6A-bevattende RNAs te beïnvloeden. Hieruit blijkt dat de mechanismen die verantwoordelijk zijn voor de dynamische regulatie van m6A-niveaus complexer zijn dan eerder gedacht en nog beter onderzocht moeten worden.

Ten slotte hebben we onderzocht of ALKBH5, WTAP en METTL3 een rol spelen tijdens de biogenese van microRNAs in fibroblasten. Verrassend genoeg beïnvloedt de knockdown van deze eiwitten slechts sporadisch de expressie van de onderzochte microRNAs. Hoewel deze bevindingen moeten worden bevestigd, suggereren deze gevolgtrekkingen dat m6A een kleinere rol speelt in de biogenese van microRNAs dan eerder werd gedacht.

Samengenomen toont deze studie aan dat microRNA m6A-methylatie dynamisch wordt gereguleerd op een celtype-specifieke manier. Hoewel het nog onduidelijk is hoe microRNA m6A-methylatie gereguleerd wordt, ontdekken we dat vasculaire microRNA m6A toeneemt tijdens hypoxie. Deze dynamische regulatie van microRNA m6A kan invloed hebben op de transcriptionele regulatie van microRNAs, omdat m6A de remmingsefficiëntie van het microRNA kan veranderen.

CONCLUSIE

In dit proefschrift hebben we aangetoond dat verschillende microRNA-veranderingen worden gereguleerd als reactie op ischemie en een direct effect of neovascularisatie kunnen hebben. Deze bevindingen duiden aan dat microRNA-veranderingen een onderschatte manier van microRNA-regulatie is die tot nieuwe therapeutische mogelijkheden kan leiden om HVZ en andere microRNA-gerelateerde pathologieën te bestrijden.

