



UvA-DARE (Digital Academic Repository)

Molecular metabolism underlying hypertriglyceridemia

From bench to bedside

Surendran, R.P.

Publication date

2019

Document Version

Other version

License

Other

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Surendran, R. P. (2019). *Molecular metabolism underlying hypertriglyceridemia: From bench to bedside*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam].

General rights

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Disclaimer/Complaints regulations

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

APPENDIX

**NEDERLANDSE SAMENVATTING
AUTHORS AND AFFILIATION
PORTFOLIO AND LIST OF PUBLICATIONS
ACKNOWLEDGEMENTS
ABOUT THE AUTHOR**

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Hypertriglyceridemie (HTG), insulin resistentie (IR) en type 2 diabetes (T2DM) zijn via verschillende routes verbonden, die uiteindelijk leiden tot een verhoogd risico op het verkrijgen van hart- en vaatziekten. In dit proefschrift bestuderen wij het moleculaire mechanisme, dat ten grondslag ligt aan het hypertriglyceridemisch phenotype in insulin resistentie en T2DM. In het eerste deel van dit proefschrift, bestuderen wij de rol van GPIHBP1 in LPL-gemedieerde perifere lipolyse. De rol van SULF2 in de opname van TG-rijke lipoproteïnen (TRL) wordt besproken in deel twee van dit proefschrift. De belangrijkste observaties die in dit proefschrift worden gevonden zijn 1) GPIHBP1 eiwit niveaus zijn verlaagd in insuline resistentie wat bijdraagt tot verlaagde werkingscapaciteit van LPL. 2) Een hoge concentratie van verzadigde vetzuren induceert de secretie van SULF2 wat leidt tot een verlaagde klaring van TG-rijke lipoproteïnen in de lever. Beide observaties dragen bij aan het hypertriglyceridemisch fenotype, zoals dat wordt gezien in patiënten met T2DM.

In **Hoofdstuk 2** wordt het belang van TG als risicofactor voor CVD besproken. De TG in TRLs, die ontstaan in de darm (chylomicronen) en de lever (VLDL), worden gelipolyseerd door Lipoproteïne Lipase (LPL) in hart, skeletspier (voor energie), en vetweefsel (voor opslag). GPIHBP1 speelt een essentiële rol omdat GPIHBP1 kan worden gezien als het platform voor LPL op het endothelium, waardoor lipolyse kan plaats vinden. Inderdaad blijken mutaties in *GPIHBP1* die resulteren in een compleet verlies van de functie van het eiwit te leiden tot ernstige hypertriglyceridemia, vergelijkbaar met volledige LPL deficiëntie. In tegenstelling tot LPL deficiëntie, heeft een mutatie in *SULF2* voornamelijk effect op de heparan sulfaat proteoglycanen (HSPG) die onder andere tot expressie komen op het celoppervlak van hepatocyten met als gevolg heeft dat de klaring van TRL wordt verminderd. Dit review belicht ook de mogelijkheden tot het ontwikkelen van nieuwe therapieën door modulatie van selectieve eiwitten in TG metabolisme, zoals GPIHBP1, SULF2, ApoCIII en ANGPTL4.

Mutaties in genen, die betrokken zijn in TG metabolisme, leiden tot hypertiglyceridemie. In **Hoofdstuk 3**, bespreken wij een studie waarin de coderende gebieden van *LPL*, *APOC2*, *APOA5*, *GPIHBP1* en *LMF1* worden afgelezen in het DNA van 86 patiënten met type 1 en type 5 HTG en 327 controles. In 54% van de patiënten werd een zeldzame genetische variant in *LPL*, *GPIHBP1*, *APOC2* of *LMF1* gevonden, terwijl in 26% van de patiënten een 'common' variant in *LPL* of *APOA5* werd gevonden. Deze studie laat nogmaals het belang zien van genetische diagnostiek voor ernstige hypertriglyceridemia.

In **Hoofdstuk 4**, hebben wij GPIHBP1 eiwit niveaus in vetweefsel gemeten van obese mensen, in een diabetisch muizenmodel, als ook in endotheliale cellen onder flow, die gestimuleerd werden met insuline. Wij zagen een verlaagde hoeveelheid GPIHBP1 in de endotheliale cellen. Verder was GPIHBP1 eiwit expressie significant verlaagd in vetweefsel in een diabetisch muizen model gepaard gaande met verlaagde perifere lipolyse capaciteit. Onze belangrijkste bevinding, is echter dat de verlaagde GPIHBP1 concentraties in humaan vetweefsel hetgeen

negatief gecorreleerd bleek met plasma insuline concentraties, wat suggereert dat GPIHBP1 eiwit expressie mogelijk post-translationeel gereguleerd wordt door insuline via een Akt2 afhankelijke route. Gebaseerd op deze bevinding concluderen wij dat een verzwakte lipolyse capaciteit in vetweefsel leidt tot hypertriglyceridemie.

De meeste studies op het gebied van hypertriglyceridemia worden uitgevoerd in een case-control opzet, waarbij meestal de meest extreme patiënten worden geïncubeerd. Om de rol van TG in de pathobiologie van CVD beter te kunnen bestuderen is een studie nodig in de algemene populatie naar de genetische predispositie voor hoog TG op het risico voor CVD. Accumulatie van veel voorkomende genetische varianten in genen die een rol spelen in TG metabolisme verklaren de polygenetische aard van milde hypertriglyceridemia. Deze genetische predispositie kan leiden tot verlaagde activiteit van deze eiwitten in TG metabolisme en leiden tot HTG. In **Hoofdstuk 5** hebben wij gekeken of een TG-gen-risico score (GRS), vanwege de genetische predispositie tot verhoogde TG concentraties, leidt tot een verbeterde risico voorspelling. Wij hebben ook een metabool syndroom risico score (MetRS) meegenomen omdat hiervan bekend is dat er een relatie is met verhoogde TG niveaus en verhoogd risico op CVD is. Drie genetische varianten in *LPL* en *APOA5*, gecombineerd in GRS waren lineair geassocieerd met verhoogde TG waarden (+0.25 mmol/l [95% CI 0.22-0.27] per GRS-score verandering, $p < 0.001$). Ook was het risico op CVD verhoogd met een hazard ratio van 1.35 [95%CI 1.04-1.74] als je de hoogste GRS vergelijkt met de laagste GRS. Vergelijkbare resultaten waarden waargenomen voor de MetS. In conclusie, wij laten zien in het Epic-Norfolk cohort dat zowel GRS en MetRS stapsgewijs en onafhankelijk een associatie laten zien met plasma TG waarden en het risico op CVD.

De rol van Sulfatase 2 (*SULF2*) in lipoproteïnen biologie en T2DM werd ontdekt in een studie waarbij werd gekeken naar genexpressie mbv een microarray om te kijken welke genen betrokken zijn bij HSPG homeostase. *SULF2* knipt de 6-O sulfaat groep van HSPG waardoor een verminderde binding van TRL ontstaat. Inderdaad leidt overexpressie van *SULF2* tot een geremde klaring van TRLs door de lever. In **hoofdstuk 6** hebben wij de genexpressie van *SULF2* in lever biopten van 210 personen en *SULF2* tagSNPs gemeten en gekeken naar de associatie met plasma TG. De resultaten werden gerepliceerd in een onafhankelijk cohort met 1319 obese mensen. In deze studie laten wij zien dat lever mRNA expressie van *SULF2* significant gecorreleerd was met plasma TG concentraties. Bovendien was het G-allel van *SULF2* SNP rs2281279 geassocieerd met een snellere postprandiale klaring. Ons bevindingen impliceren dat *SULF2* kan worden gezien als een nieuw therapeutisch doelwit voor patiënten met obesitas of T2DM.

Een van de belangrijkste bijdragen aan het ontstaan van insuline resistentie, obesitas en T2DM is de consumptie van dierlijk vet en dan met name verzadigd vet zoals palmitaat, mede doordat zij lipotoxiciteit in de lever veroorzaakt. In **Hoofdstuk 7** hebben wij het effect van insuline en palmitaat op de secretie van *SULF2* in gekweekte muis levercellen bestudeerd. Onze belangrijkste bevinding is dat incubatie met palmitaat leidt tot inductie van *SULF2* mRNA

expressie, SULF2 eiwit niveaus in de cel en verhoogde secretie van SULF2 in het medium via de Irs2 route. Dit kan mogelijk bijdragen tot het HTG fenotype in bovengenoemde patiënten groepen.

TOEKOMST PERSPECTIEF

De Internationale Diabetes Federatie heeft een schatting van de prevalentie voor diabetes in de wereld van 8.8% (425 miljoen mensen) en in Nederland van 5.3% (ong. 1 miljoen mensen). (<http://www.diabetesatlas.org/>). Verschillende factoren dragen bij aan het ontstaan van T2DM zoals verstedelijking, zittende levensstijl, obesitas, ongezond dieet en genetische aanleg(1). Naar de oorzaak van het ontstaan van HTG in patiënten met T2DM wordt nog steeds onderzoek gedaan. In het nationale cholesterol programma (NCEP-ATPIII) advies wordt TG als primair behandelingsdoel in T2DM gezien als gevaste plasma TG waarden hoger zijn dan 5.6 mmol/l vanwege het hoge risico op pancreatitis.(2) Zowel de Europese richtlijnen als ook de richtlijnen van de Amerikaanse Diabetes Organisatie doelen op een wenselijk plasma TG niveau van <1.7 mmol/l in T2DM.(3,4)

De huidige aanbevelingen voor therapie omvatten veranderingen in activiteit en eetpatroon en mogelijk farmacotherapie. Veranderingen in activiteiten en eetgewoonten in T2DM patiënten leidt inderdaad tot een verlaging van plasma TG waarden tot ongeveer 25% (5). Echter, in patiënten met T2DM is het niet eenvoudig om deze reductie in plasma TG te verwezenlijken. Zelfs niet met de beschikbare therapeutische middelen. Echter, sinds de diverse klinische trials met geneesmiddelen die plasma TG zouden moeten verlagen, i.e. statine alleen of in combinatie met niacin, fibraat of omega-3 vetzuren, niet tot het beoogde resultaat hebben geleid is er ruimte om nieuwe therapieën te ontwikkelen zoals antisense therapie tegen apoCIII wat wel leidt tot een enorme reductie in plasma TG. De identificatie van nieuwe eiwitten die een rol spelen in TG homeostase, zoals LMF1, GPIHBP1 en SULF2, kan leiden tot nieuwe mogelijkheden om geneesmiddelen te ontwikkelen die helpen om TG metabolisme in T2DM te verbeteren en zo het risico op CVD te verminderen.

AUTHORS AND AFFILIATION

Ailko H. Zwinderman

Department of Biostatistics, Amsterdam University Medical Center, location Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Alinda W.M. Schimmel

Department of Experimental Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center, location AMC, Amsterdam, The Netherlands

An Verrijken

Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism

Bart Staels

University of Lille 2; INSERM U1011; EGID; Institute Pasteur de Lille, France

Bruno Derudas

University of Lille 2; INSERM U1011; EGID; Institute Pasteur de Lille, France

Carlijne Hassing

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Chris T Johansen

Department of Biochemistry and Robarts Research Institute, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Erik S Stroes

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Federico Oldoni

Department of Pediatrics, Section of Molecular Genetics, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands

Francisco Tinahones

Unidad de Gestión Clínica Endocrinología y Nutrición. Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Complejo Hospitalario de Málaga (Virgen de la Victoria)/Universidad de Malaga, Malaga, Spain.

CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CB06/03), Spain.

Geesje M Dallinga-Thie, Co-promoter

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands
Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands.

Giel Nijpels

Department of General Practice and Elderly Care Medicine, VUMC, The Netherlands

Hans L Mooij

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Jacqueline M. Dekker

Department of Epidemiology and Biostatistics, EMGO Institute for Health and Care Research, VU University Medical Center

Jian Wang

Department of Biochemistry and Robarts Research Institute, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Jorge Peter

Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Joep C Defesche

Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

John JP Kastelein

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Jan A Kuivenhoven

Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Kevin Jon Williams

Section of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, Temple University School of Medicine, Philadelphia, PA USA.

Department of Molecular and Clinical Medicine, Sahlgrenska Center for Cardiovascular and Metabolic Research, University of Gothenburg, Sweden

Kay T Khaw

Department of Public Health and Primary Care, University of Cambridge, Cambridge, United Kingdom

Leen M 't Hart

Departments of Molecular Epidemiology and Molecular Cell Biology, Leiden University Medical Center

Luc F. Van Gaal

Department of Endocrinology, Diabetology and Metabolism

Max Nieuwdorp, Promoter

Department of Vascular Medicine, AMC, University of Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands. Wallenberg Laboratory, University of Göteborg, Göteborg, Sweden Diabetes Center, Department of Internal medicine, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands.

ICAR, VU University Medical Center, Amsterdam, The Netherlands.

Maartje E Visser

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Maryam Hosseini

Department of Medicine, David Geffen School of Medicine UCLA, University of California, Los Angeles, CA 90095, USA,

Medical Genetics Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA 90048, USA

Miklós Péterfy

Department of Medicine, David Geffen School of Medicine UCLA, University of California, Los Angeles, CA 90095, USA,

Medical Genetics Institute, Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA 90048, USA

Mercedes Clemente-Postigo

Unidad de Gestión Clínica Endocrinología y Nutrición. Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA), Complejo Hospitalario de Málaga (Virgen de la Victoria)/Universidad de Malaga, Malaga, Spain.

Nick J. Wareham

Medical Research Council Epidemiology Unit, Cambridge, United Kingdom

Rutger Verbeek

Departments of Vascular Medicine and Experimental Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center, location Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Robert A Hegele

Department of Biochemistry and Robarts Research Institute, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

Steffie Heemelaar

Department of Vascular Medicine, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

S Matthijs Boekholdt

Department of Cardiology, Amsterdam University Medical Center, location Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Shanti D. Udayyapan

Department of Experimental Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center, location AMC, Amsterdam, The Netherlands

Stefan R. Havik

Department of Experimental Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center, location AMC, Amsterdam, The Netherlands

Sophie J. Bernelot Moens

Departments of Vascular Medicine, Amsterdam University Medical Center, location AMC, Amsterdam, The Netherlands

Sven M. Francque

Department of Gastroenterology and Hepatology, Antwerp University Hospital, University of Antwerp, Belgium

PhD PORTFOLIO

	Year	ECTS
Courses		
DNA technology	2012-2013	2.1
Mass Spectrometry, Proteomics and Protein Research	2012-2013	2.1
Scientific writing in English for publication	2013-2014	1.5
Oral presentation	2013-2014	0.8
Practical Biostatistics	2013-2014	1.1
Systems Medicine	2014-2015	1.4
Laboratory Animals	2012	3.9
Vascular Biology	2011	1.4
Seminars and Masterclasses		
Weekly Journal club, Dept. Vascular Medicine, AMC	2011-2015	4
Ruysch Lecture, AMC	2011-2015	0.5
Masterclass - Alan Attie	2012	0.2
Masterclass - Helen hobbs	2013	0.2
Masterclass - Peter Tontonoz	2011	0.2
Masterclass - (University of Kiel; Dominik)	2012	0.2
Oral Presentations		
Impaired IRS-2 function in hepatic insulin resistant state increases the secretion of SULF2. Nederland lipoprotein club (NLC) 2013, Leiden, The Netherlands	2013	0.5
Poster presentations		
Effect of insulin resistance in the regulation of GPIHBP1. European atherosclerosis society 2015, Glasgow, United Kingdom (moderated poster)	2015	0.5
Impaired insulin signaling in T2DM lead to decreased expression of GPIHBP1. Keystone symposia 2014, Dublin, Ireland	2014	0.5
(Inter)national Conferences		
European lipoprotein Club, Tutzing, Germany	2011	0.75
European Lipoprotein Club, Tutzing, Germany	2012	0.75
Keystone Symposia, Dublin, Ireland	2014	1
European Atherosclerosis Society, Glassgow, UK	2015	0.75
Rembrant Symposia, Noordwijkerhout, The Netherlands	2013-2014	0.5
Teaching and Mentoring		
Emile Zwering	2011	2
Massih Zobeir Azimi	2012	2

	Year	ECTS
Marc van Eijk	2013	2
Sharon Bakker	2013	2
Esther Manuel	2014	2
Sanne Vos	2014	2
Parameters of Esteem		
Keystone Symposia Scholarship	2014	

LIST OF PUBLICATIONS

1. **Surendran, R. P.**, S. D. Udayyapan, M. Clemente-Postigo, S. R. Havik, A. W. M. Schimmel, F. Tinahones, M. Nieuwdorp and G. M. Dallinga-Thie (2018). "Decreased GPIHBP1 protein levels in visceral adipose tissue partly underlie the hypertriglyceridemic phenotype in insulin resistance." PLoS One **13** (11): e0205858.
2. Hassing, H. C., **R. P. Surendran**, B. Derudas, A. Verrijken, S. M. Francque, H. L. Mooij, S. J. Bernelot Moens, L. M. Hart, G. Nijpels, J. M. Dekker, K. J. Williams, E. S. Stroes, L. F. Van Gaal, B. Staels, M. Nieuwdorp and G. M. Dallinga-Thie (2014). "SULF2 strongly predisposes to fasting and postprandial triglycerides in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus." Obesity (Silver Spring) **22**(5): 1309-1316.
3. Hassing, H. C., **R. P. Surendran**, H. L. Mooij, E. S. Stroes, M. Nieuwdorp and G. M. Dallinga-Thie (2012). "Pathophysiology of hypertriglyceridemia." Biochim Biophys Acta **1821**(5): 826-832.
4. **Surendran, R. P.**, M. E. Visser, S. Heemelaar, J. Wang, J. Peter, J. C. Defesche, J. A. Kuivenhoven, M. Hosseini, M. Peterfy, J. J. Kastelein, C. T. Johansen, R. A. Hegele, E. S. Stroes and G. M. Dallinga-Thie (2012). "Mutations in LPL, APOC2, APOA5, GPIHBP1 and LMF1 in patients with severe hypertriglyceridaemia." J Intern Med **272** (2): 185-196.
5. Wilma van Esse, G., A. H. Westphal, **R. P. Surendran**, C. Albrecht, B. van Veen, J. W. Borst and S. C. de Vries (2011). "Quantification of the brassinosteroid insensitive1 receptor in planta." Plant Physiol **156**(4): 1691-1700.
6. Verbeek R, F. Oldoni, **R. P. Surendran**, A.H. Zwinderman, K.T. Khaw, E. S. G. Stroes, N. J. Wareham, S. M. Boekholdt, G. M. Dallinga-Thie (2019). "A 3-SNP gene risk score and a metabolic risk score both predict hypertriglyceridemia and cardiovascular disease risk." J Clin Lipidol (**accepted**)
7. **Surendran R. P.** , A. W. M. Schimmel, S. R. Havik, M. Nieuwdorp, G. M. Dallinga-Thie. (2019). "Palmitic Acid Induced Insulin Resistance in Mouse Hepatocytes Increased Secretion of Sulfatase 2". (**manuscript in preparation**)

ACKNOWLEDGEMENTS

“Each benefit to those of actions' fruit who rightly deem,
Though small as millet-seed, as palm-tree vast will seem”. **Thirukural 104**

I take this opportunity to thank and show my gratitude to everyone, who made this part of my journey to be cherished for life.

My greatest gratitude to Dr.Geesje Dallinga-Thie. Dear Geesje, you have given the best opportunity in life that sow the seed in me to grow to what I am today. You have transferred the energy in you to me to achieve this. We have faced all the ups and lows together during this time. I feel very thankful to you on teaching me how to reflect on myself and shape me from a restless student to an independent researcher. I understand that those times when you were very tough on me, is to push me further and explore myself. All the conversations, scientific and non-scientific and the train journeys together with you is unforgettable. You are an inspiration to me and I always look upon you to motivate myself.

I am grateful to my promoter, Prof. Dr. M Nieuwdorp. Max, thank you for your support and encouraging words. Your inputs and insights on my thesis and during literature club meetings were very useful. Thank you for helping during animal experiment approval time. Your help was timely and is very important in completing this thesis.

Thank you Prof. Dr. Erik Stroes for your support and discussions in the beginning of my thesis. Your suggestions on the translation part of the project made it very interesting.

I express my gratitude to the committee members Prof. dr. J.A. Kuivenhoven, Prof. dr. N. Zelcer, Prof. dr. A. K. Groen, Prof. dr. E. Lutgens, Prof. dr. G.K. Hovingh and Prof. dr. P.C.N. Rensen and for reading and accepting my thesis.

I would like to sincerely thank **Dutch Heart Association** for their grateful support by funding this project. I am thankful to all the patients for their participation in the studies.

My dear fellow lab mates at EVG G1, thank you very much for all your sparking scientific discussions, coffee room chats, lunch time munches, terrace drinks and non-scientific talks. **Jorge, Alinda and Jeroen**, it was wonderful experience to share the lab with you. My lab time was made fruitful and I am proud that I learned all the lab skills from the masters of the lab. Thank you Jeroen for the nice train talks we have had. **Marisa**, my dear buddy, I enjoyed and happy that we have shared the office space together. I will cherish our stimulating discussion times. We have learned and grew together scientifically and at professional level during that time. Thank you for giving me support and your encouraging words. **Shanthi**, you are more than a friend to me. And you have supported me like your sis. We have great regards for each other and thank you very much for those wonderful food. Special thanks to Wil (you know

why), Lucy, Mahdi, Tom, Han, Hans, Hilde, Anouk, Arnoud, Ad, Steffi, Miranda and Maaïke. Thank you, Stefan and Veronique, for the help during the animal experiments.

I am also grateful to Joyce, Tanja and Agnes for all the administration help, support and procedures linking to finishing my PhD. I must thank all the colleagues at F4 for the great scientific discussions we had during journal club and work meetings.

Dear Emile, Elise, Massih, Esther, Perry, Marc, Sharon and Sanne, it was a real pleasure to supervise you. Mentoring and teaching you was a great opportunity for me to learn myself and I hope that I passed my knowledge on to you.

Thank you to all my Wageningen friends, especially to Shanmugam anna and Sumi akka, Varsha and Dev for being as a family to me. Our Saturday dinners are very special memories that Sarav I keep talking about when we miss the good old Wageningen days. Thank you, Suresh, and Bhuvi for your love. You are the best friends I ever could have. Dear Vincent anna, Karthik anna, Aarthi, Revathy bow bow, Revathy- Kaikaati, Sajith anna, Harthik for all your support and memorable time we had during our Bachelors in SRM. All your encouraging words and help has brought me so far. I am happy to have you as my friends and I treasure our time spent together.

Where would I be without you Amma, Appa, Siddhu and Jaya paati. Thank you for your love and support. If you did not have the trust in me, I could have failed. Amma & Appa, you believe so much in me and I try my best to keep it up. Siddhu my little brother, thank you for all the love you are showing towards me.

Dear Sarav amma, I am very fortunate to be part of your family now and thankful for all your help. It was very nice of you to leave all your stuff and come to Holland to help us when Sarav was in France for his work. I would like to share my happiness with Ramesh anna, Devi akka and Sahana and all other family members. Thank you very much for your love and support that you provided me through moral and emotional support. I am also grateful to my other family members and friends who have supported me along the way.

I am not complete without my darlings, Pattu, Sengkathir and Navira. You are the ones that take the blame. Thank you for your unconditional love and trust. Thank you for bearing with me in times of low and keeping up with me when I am high!! Definitely we are the happy family.

This will never be a complete list. A chapter that will stay incomplete in my thesis will be acknowledgements. If I missed you, I am really sorry, but it is only missed in this list not in my mind. I am very grateful to everyone that helped me.

Swami Vivekananda said, "The world does not worry on how many storms you crossed; only see if you safely reached the shore." I stand at this point to thank you all who helped me cross all the storms to reach here and to go even further.

ABOUT THE AUTHOR

Ramya Preethi Surendran was born on December 25th, 1986 at Chennai, India. In 2004, she started her bachelor's in biotechnology at SRM University, Chennai, India. Her fascination and interest towards Biology gained her Huygen's Scholarship from Dutch Ministry for Education, Culture and Science to pursue Masters in Biotechnology in Wageningen University, The Netherlands (2008-2010). Preethi worked her Master thesis at Department of Biochemistry, Wageningen University, in the Laboratory of Prof. Sacco de Vries on 'Quantification of BRI1 receptor *in planta*', and her internship at the Department of Pathology, Vrij University Medical Center, Amsterdam, under the supervision of dr. Michel Pegtel on 'LMP1 protein in Immunological synapse'. Her growing interest in Biochemistry and Molecular Biology lead her towards her PhD program in Department of Experimental Vascular Medicine, Academic Medical Center, The Netherlands under the supervision of Prof. dr. M. Nieuwdorp and Dr. G. M. Dallinga-Thie. Most of the research performed during this period is presented in this thesis. After PhD, she wishes to pursue research career in Biotechnology - Biochemistry and Molecular biology. She is currently working at Norwegian Research Centre (NORCE) in the Biotechnology group.