



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Diversity of microglia

*Their contribution to multiple sclerosis lesion formation*

van der Poel, M.

#### Publication date

2020

#### Document Version

Other version

#### License

Other

[Link to publication](#)

#### Citation for published version (APA):

van der Poel, M. (2020). *Diversity of microglia: Their contribution to multiple sclerosis lesion formation*. [Thesis, externally prepared, 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.



# Appendices



## Nederlandse samenvatting

Multiple sclerosis (MS) is een chronische aandoening van het centrale zenuwstelsel waarbij de bescherm- en isolatielaag rondom zenuwcellen (de myeline) verdwijnt. Dit leidt tot celschade en uiteindelijk resulteert dit in de vorming van littekens, zogenoemde laesies. Het grotendeel van de patiënten krijgt de diagnose MS in de leeftijd van 20-40 jaar, en de meeste patiënten (85%) krijgen de diagnose 'relapsing-remitting' MS, gekenmerkt door aanvallen die van tijdelijke duur zijn en ook wel relapses worden genoemd. De aanvallen kenmerken zich door onder andere vermoeidheid, problemen met zicht of lopen. Het merendeel van de patiënten met relapsing-remitting MS ontwikkelt na ongeveer 20 jaar de secundair progressieve vorm van MS, waarbij er geleidelijk achteruitgang optreedt zonder perioden van herstel. Ongeveer 15% van de patiënten met MS krijgt de diagnose primair progressief, wat betekent dat ze gelijk in de progressieve fase komen en geen tijdelijke aanvallen krijgen. De meeste therapieën die ontwikkeld zijn voor MS zijn alleen (deels) effectief in het verminderen van de symptomen bij de relapsing-remitting vorm van MS. Voor de progressieve vorm van MS zijn helaas nog geen effectieve therapieën beschikbaar die de ziekte kunnen afremmen of zelfs stoppen.

Bij MS spelen de cellen van het afweersysteem, zoals T cellen, B cellen en macrofagen (waaronder microglia), een belangrijke rol in het ontstaan van laesies. Microglia spelen een belangrijke rol in het gezonde brein, namelijk bij de ontwikkeling van zenuwcellen, de vorming van myeline rondom zenuwcellen en het opruimen van afvalstoffen. Hiernaast kunnen microglia een belangrijke bijdrage leveren aan ontstekingsreacties. In MS laesies is met immunohistochemische kleuringen (zie foto's in **Figuur 1**) aangetoond dat microglia betrokken zijn bij de opname van myeline en dat ze dan veranderen in grote ronde cellen vol met myeline, die 'foam cellen' worden genoemd. Naast microglia kunnen macrofagen afkomstig uit het bloed ook het brein binnendringen en bijdragen aan de vorming van MS laesies. Deze macrofagen lijken qua uiterlijk en eiwit/RNA profiel op microglia en zijn dus moeilijk van deze te onderscheiden. Recent is aangetoond dat microglia bepaalde eiwitten tot expressie brengen die niet aanwezig zijn op de macrofagen afkomstig uit het bloed. Met behulp van deze eiwitten kunnen microglia dus worden onderscheiden van macrofagen die infiltreren in het brein, waardoor de specifieke bijdrage van microglia in de vorming van MS laesies kan worden onderzocht.

Naast laesies bevat het brein van MS patiënten ook veel gebieden die er normaal uit lijken te zien, en deze gebieden worden daarom het normaal-ogende hersenweefsel genoemd. Dit weefsel wordt gekenmerkt door intacte myeline en afwezigheid van grote ronde 'foamy' microglia, zichtbaar gemaakt doormiddel van immunohistochemische kleuringen. Maar dit weefsel kan al eerste tekenen van MS pathologie vertonen, daarom is het interessant om de microglia in dit weefsel te bestuderen. De veranderingen die microglia in dit normaal-ogende weefsel laten zien kunnen het begin zijn van het ontstaan van een MS laesie.

Ondanks dat de rol van microglia in MS in vele onderzoeken al is bestudeerd, is de exacte bijdrage van microglia aan het ontstaan en de verdere ontwikkeling van MS laesies, voornamelijk bij de progressieve vorm van MS, nog niet bekend. Verder is ook nog onbekend hoe microglia precies worden geactiveerd. Microglia kunnen een bijdrage leveren aan het ontstekingsproces in MS, maar ze kunnen ook de beschadigde zenuwcellen repareren. Hierdoor zijn microglia een interessante target

voor MS therapie; door ze op de juiste manier te activeren kan mogelijk de vorming van MS laesies worden gestopt. Voor het onderzoek in dit proefschrift hebben we gebruik gemaakt van post-mortem hersenweefsel van donoren die hun hersenen aan de Nederlandse Hersenbank hebben gedoneerd. Dit heeft ons de unieke mogelijkheid geboden om de rol van microglia in het ontstaan en de verdere ontwikkeling van MS laesies te bestuderen. Voor de isolatie van microglia uit post-mortem humaan hersenweefsel is het belangrijk om te weten of de geïsoleerde microglia ook echt veranderingen laten zien die gerelateerd zijn aan de neuropathologische veranderingen in MS. In **hoofdstuk 2 en 3** laten we zien dat verschillende variabelen, zoals leeftijd, zuurgraad van de hersenen en tijd tussen overlijden-uitname van de hersenen geen effect hebben op het profiel van microglia. We konden zo aantonen dat de veranderingen die we in microglia geïsoleerd uit post-mortem humaan hersenweefsel zagen direct kunnen worden gerelateerd aan MS pathologie. In dit proefschrift hebben we microglia geïsoleerd uit post-mortem humaan hersenweefsel om te onderzoeken wat hun rol is in het ontstaan van MS laesies.

In de laatste jaren zijn er veel studies die het genexpressie profiel van macrofagen, waaronder microglia, in kaart hebben gebracht. In **hoofdstuk 4** maken we gebruik van deze datasets en tonen we aan dat de fagocyterende receptor BAI1, in tegenstelling tot wat is beweerd in eerdere studies, niet tot expressie komt op macrofagen, waaronder microglia.

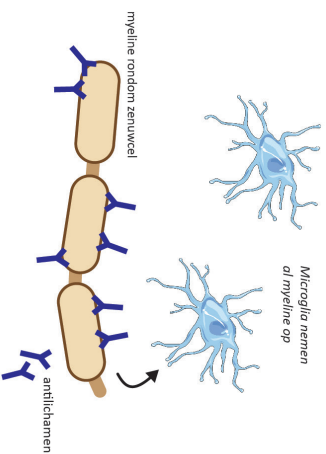
In dit proefschrift hebben we onderzocht welke rol microglia spelen in het ontstaan van laesies in progressieve MS (**hoofdstuk 5 en 6; Figuur 1**). Hiervoor hebben we gebruik gemaakt van grijze en witte stof hersengebieden van controle en MS donoren. Grijze stof hersenweefsel bevat voornamelijk cellen van zenuwcellen en witte stof bevat voornamelijk de uitlopers van zenuwcellen met daaromheen myeline en een hogere dichtheid microglia dan in grijze stof gebieden. In **hoofdstuk 5** tonen we aan dat het gen expressie profiel van microglia erg verschillend is tussen grijze en witte stof gebieden, met name genen betrokken bij een ontstekingsreactie komen verschillend tot expressie in microglia uit witte en grijze stof gebieden. Dit suggereert dat microglia een verschillende rol kunnen spelen in het ontstaan van MS laesies in grijze of in witte hersenstofgebieden. Verder laten microglia in MS normaal-ogend hersenweefsel al eerste tekenen van MS pathologie zien, maar ze produceren nog geen ontstekingsfactoren. Dit geeft aan dat microglia al in een vroeg stadium betrokken zijn bij de vorming van MS laesies, nog voordat er een ontstekingsreactie ontstaat. In **hoofdstuk 6** zoomen we in op clusters van microglia (een ophoping van minimaal 4 microglia cellen), in het normaal-ogende MS hersenweefsel. We laten zien dat een aantal van deze microglia clusters al eerste tekenen laten zien van myeline opname en dat er rondom deze clusters antilichamen en T en B afweercellen aanwezig zijn, waarvan een gedeelte geactiveerd is. We tonen aan dat een groter aantal MS laesies aanwezig is als er microglia clusters bij MS patiënten worden aangetroffen, dit in tegenstelling tot MS patiënten die deze clusters niet vertonen waarbij ook een kleiner aantal MS laesies is aangetroffen. Dit duidt op een rol van microglia clusters in de vorming van MS laesies. Concluderend bevindt een deel van de microglia clusters zich in een inflammatoire omgeving en spelen deze clusters, die aanwezig zijn in MS normaal-ogend hersenweefsel, een mogelijke rol in het ontstaan van MS laesies.

Verder hebben we ook onderzocht welke stimuli microglia nodig hebben om geactiveerd te

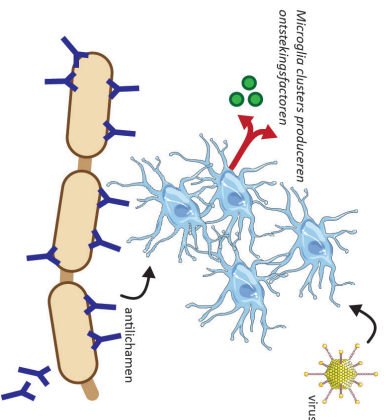
raken en zo een bijdrage kunnen leveren aan het ontstekingsproces bij de vorming van een MS laesie (**hoofdstuk 7; Figuur 1**). We laten zien dat microglia tolerant zijn voor één immuun stimulus, bijvoorbeeld als een virus aanwezig is, en geen ontstekingsfactoren produceren. Echter, met twee stimuli, waarbij naast een virale stimulus ook antilichamen aanwezig zijn, raken microglia geactiveerd. Verder tonen we aan dat antilichamen aanwezig zijn op myeline van MS donoren en niet op de myeline van gezonde, controle donoren. Concluderend laten we zien dat de antilichamen die aanwezig zijn in het brein van MS donoren de microglia kunnen activeren, die hierdoor ontstekingsfactoren gaan produceren en een bijdrage kunnen leveren aan een ontstekingsreactie. In **hoofdstuk 8** vergelijken we het gen expressie profiel tussen actieve en inactieve MS laesies, waarbij we kijken naar alle cellen die aanwezig zijn in deze laesies. We zien dat rondom actieve MS laesies al tekenen van myeline opname te vinden zijn wat erop duidt dat deze laesies aan het uitbreiden zijn, waarbij 'scavenger receptoren', een categorie van receptoren die betrokken zijn bij opname van afvalstoffen, een belangrijke rol spelen in de verwijdering van myeline. In het laatste experimentele hoofdstuk van dit proefschrift (**hoofdstuk 9; Figuur 1**) is het eiwitprofiel van microglia onderzocht, waarbij microglia uit actieve MS laesies werden vergeleken met microglia uit normaal-ogend MS hersenweefsel. Een deel van de microglia in actieve MS laesies is geactiveerd en betrokken bij het opruimen van myeline, maar ze produceren geen ontstekingsfactoren. Met behulp van microglia specifieke markers hebben we aangetoond dat MS laesies geen infiltrerende macrofagen afkomstig het bloed bevatten, wat erop duidt dat alleen microglia een rol spelen in het opruimen van myeline in actieve MS laesies.

Er is tot nu toe nog geen effectieve therapie beschikbaar voor de progressieve vorm van MS. In dit proefschrift is aangetoond dat microglia al in een vroeg stadium betrokken zijn bij de vorming van MS laesies doormiddel van het verwijderen van myeline in normaal-ogend hersenweefsel, maar ze hebben twee stimuli nodig om volledig geactiveerd te raken en daarbij ontstekingsfactoren uit kunnen scheiden. Een belangrijke stimulus voor de activatie van microglia zijn antilichamen, die zich bevinden in normaal-ogend MS hersenweefsel waarin microglia clusters zich bevinden. Deze clusters kunnen het startpunt zijn voor het ontstaan van MS laesies en kunnen als target voor therapie dienen. Therapieën gericht op microglia kunnen de ontwikkeling van MS laesies mogelijk blokkeren, waarbij het belangrijk is om de activatie (en productie van ontstekingsfactoren) van microglia te remmen en de bijdrage van microglia aan de reparatie van zenuwcellen te bevorderen. Verder is het interessant om te kijken of de interactie tussen microglia en andere afweercellen in normaal-ogend MS hersenweefsel kan worden geblokkeerd om op deze manier de ontstekingsreactie en daarmee MS te remmen.

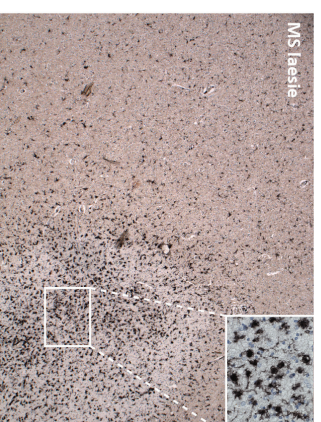
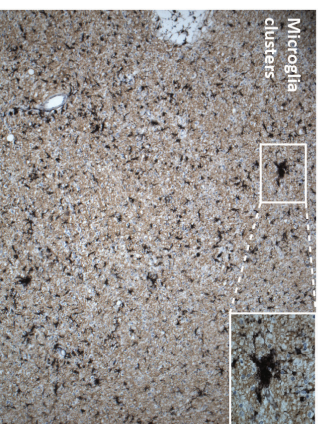
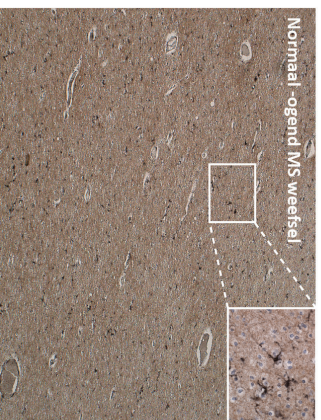
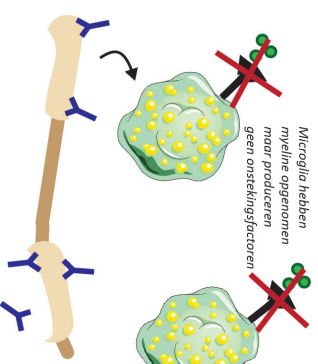
### Rustende microglia



### Geactiveerde microglia



### 'Foamy' microglia



**Figuur 1: Samenvatting van de bevindingen uit dit proefschrift.** Rustende microglia in normaal-ogend MS hersenweefsel nemen af myeline op, maar zijn nog niet geactiveerd. Na twee stimuli; mogelijk een virus en antilichamen aanwezig op myeline, kunnen microglia geactiveerd raken en ontstekingsfactoren uitscheiden. Mogelijk gebeurt dit in microglia die clusters vormen in normaal-ogend MS hersenweefsel. In actieve MS laesies bevinden zich grote ronde, 'foamy' microglia die myeline opnemen maar geen ontstekingsfactoren produceren. Microglia clusters kunnen het startpunt zijn van MS laesie vorming en kunnen als mogelijke target voor therapie dienen.







## List of publications

Mizee M.R., Miedema S.S.M.\*, **van der Poel M.\***, Adelia, Schuurman K.G., van Strien M.E., Melief J., Smolders J., Hendrickx D.A.E., Heutinck K.M., Hamann J. and Huitinga I. Isolation of primary microglia from the human post-mortem brain: Effects of ante- and post-mortem variables. *Acta Neuropathologica Communications* 5, 16 (2017). doi: 10.1186/s40478-017-0418-8

Hendrickxs D.A.E., van Scheppingen J., **van der Poel M.**, Bossers K., Schuurman K.G., van Eden C.G., Hol E.M., Hamann J.\* and Huitinga I.\* Gene expression profiling of multiple sclerosis pathology identifies early patterns of demyelination surrounding chronic active lesions. *Frontiers in Immunology* 8, 1810 (2017). doi: 10.3389/fimmu.2017.01810

Mizee M.R., **van der Poel M.** and Huitinga I. Purification of cells from fresh human brain tissue: primary human glial cells. *Handbook Clinical Neurology: Chapter 19* 150, 273-283 (2018). doi: 10.1016/B978-0-444-63639-3.00019-0

**van der Poel M.\***, Ulas T.\*, Mizee M.R., Hsiao C-C., Miedema S.S.M., Schuurman K.G., Helder B., Tas S.W., Schultze J.L., Hamann J.\* and Huitinga I.\* Transcriptional profiling of human microglia reveals grey–white matter heterogeneity and multiple sclerosis-associated changes. *Nature Communications* 10, 1139 (2019). doi: 10.1038/s41467-019-08976-7

Hsiao C-C., **van der Poel M.**, van Ham T.J. and Hamann J. Macrophages do not express the phagocytic receptor BAI1/ADGRB1. *Frontiers in Immunology* 10, 962 (2019). doi: 10.3389/fimmu.2019.00962

Fransen N.L., Hsiao C-C., **van der Poel M.**, Engelenburg H.J., Verdaasdonk K., Vincenten M.C.J., Remmerswaal E.B.M., Kuhlmann T., Mason M.R.J., Hamann J.\*, Smolders J.\* and Huitinga I.\* Tissue-resident memory T cells invade the brain parenchyma in multiple sclerosis white matter lesions. *Brain* 143, 1714-1730 (2020). doi: 10.1093/brain/awaa117

Böttcher C.\*, **van der Poel M.\***, Fernández-Zapata C.\*, Schlickeiser S., Leman J.K.H., Hsiao C-C., Mizee M.R., Adelia, Vincenten M.C.J., Kunkel D., Huitinga I.\*, Hamann J.\* and Priller J.\* Single-cell mass cytometry reveals complex myeloid cell composition in active lesions of progressive multiple sclerosis. *Acta Neuropathologica Communications* 8, 136 (2020). doi.org/10.1186/s40478-020-01010-8

**van der Poel M.**, Hoepel W., Hamann J.\*, Huitinga I.\* and den Dunnen J\*. IgG immune complexes break immune tolerance of human microglia. Provisionally accepted for publication.

**van der Poel M.**, van den Bosch A.M.R., Fransen N.L., Vincenten M.C.J., Bobeldijk A., Hamann J. and Huitinga I. Heterogeneity of microglial nodules in MS: possible implications for lesion formation. Submitted for publication.

\*Authors contributed equally



## Curriculum Vitae

Marlijn was born on September 3th 1989 in Gouda and grew up in Oudewater. After finishing pre-university education at the Minkema in Woerden in 2007 she started the bachelor Bio-Pharmaceutical Sciences at Leiden University. After obtaining her propaedeuse she moved to Antwerp to study Bio-Medical Sciences, but after 1 year she moved back to the Netherlands to complete the bachelor Bio-Medical Sciences at the University of Amsterdam. In 2012 she enrolled in the master Neuroscience and Cognition at the University of Utrecht. During her master she finished two internships, focussing on neuronal development and protein interactions in the synapse. She wrote her thesis describing the role of microglia and macrophages in multiple sclerosis and became highly interested in the role that microglia play in this disease. In 2016 she started as a PhD candidate at the Netherlands Institute for Neuroscience in Amsterdam, in the neuroimmunology group under supervision of prof. Inge Huitinga and dr. Jörg Hamann. Her project focussed on the contribution of microglia to multiple sclerosis lesion initiation and development. She presented her work at several (inter)national conferences, started collaborations with research groups in Berlin and Bonn, supervised bachelor and master students and organized conferences for the graduate school. Marlijn is currently working as a teacher at the University of Amsterdam, bachelor Psychobiology.



## Dankwoord

Na een avontuur van ruim 4 jaar, waarbij ik voor nieuwe uitdagingen stond, veel heb geleerd op persoonlijk en academisch vlak en vooral een leuke tijd heb gehad is mijn proefschrift nu af! Ik wil mijn promotor Inge en co-promotor Jörg heel erg bedanken voor de kans die ze mij gegeven hebben om een promotietraject te starten in de neuroimmunologie groep. Wat een toeval dat dit project over microglia in multiple sclerose beschikbaar kwam op het moment dat ik jullie benaderde, precies het project dat ik zocht! Inge, bedankt voor het delen van jouw kennis, een luisterend oor en voor je eindeloze enthousiasme, het was altijd heel leuk om nieuwe resultaten te laten zien. Wanneer ik weer eens achter de microscoop zat kwam je graag langs om naar de kleuringen te kijken. Ook heel leuk dat je nu professor bent en mijn promotor kan zijn. Jörg, bedankt voor de vele tips, alle kennis die je gedeeld hebt over macrofagen en immunologie en voor jouw kritische blik en oog voor detail. Bij het doornemen van de manuscripten wist je altijd nog een fout te ontdekken, ook al had ik die al meerdere keren doorgenomen en dacht ik alle fouten er al uit te hebben gehaald.

Ik wil de hoogleraren uit mijn promotiecommissie bedanken voor het lezen en goedkeuren van mijn proefschrift.

De neuroimmunologie groep: Adelia, Aletta, Andy, Corbert, Jackelien, Joost, Lianne, Manon, Mark, Nina en Rory, bedankt voor de fijne tijd die ik heb gehad met jullie als collega's in en rondom het lab! En goed om te horen dat 'vrijdag snackdag' nog in ere wordt gehouden nu ik niet meer in de groep zit. Adelia, thanks for your company in the lab during all the isolations we performed, I believe we isolated microglia from over more than 200 brain donors! I will miss the 90's music in the lab, good luck in Canada! Aletta, wat leuk dat ik je heb begeleid als student en dat je nu mijn project over mag nemen, heel veel succes en ik weet zeker dat er mooie artikelen zullen verschijnen. Andy, thank you for all your help with flow cytometry and all your knowledge regarding GPCRs. Manon, wat hebben we veel tijd doorgebracht achter de LDM microscoop, bedankt voor al je hulp en gezelligheid in het lab. Lianne en Rory, we moesten soms even plek maken op onze kamer als jullie op vrijdag aanwezig waren op het NIN, maar dat maakte het ook erg gezellig. Mark, bedankt voor jouw kennis en alle hulp bij het schrijven van manuscripten, we hebben toch maar mooi 3 artikelen gepubliceerd! Suzan, bedankt voor het opstarten van het RNA-sequencing project, hier kon ik gelijk mee aan de slag toen ik begon. Nina, wat leuk dat jij mijn paranime bent, nadat we ruim 4 jaar tegelijkertijd in ons promotietraject zaten vind ik het heel leuk dat je nu ook bij de afsluiting van mijn promotie aanwezig bent. Veel succes met het afronden van jouw promotietraject en je opleiding tot patholoog!

Ik wil ook de studenten die ik heb begeleid: Katerina, Micha, Aletta, Athena en Anneleen bedanken voor hun bijdrage aan de experimentele hoofdstukken die in dit proefschrift staan. Het was erg leuk om jullie te begeleiden en om te zien hoe enthousiast jullie waren!

Verder wil ik de Hersenbank heel erg bedanken, met speciale dank aan Michiel en Ling voor al hun hulp bij het aanvragen van hersenweefsel en het beantwoorden van mijn vragen! Natuurlijk wil ik ook alle hersendonoren bedanken, zonder hun was dit onderzoek niet mogelijk geweest.

Joop en Joris, bij jullie kon ik altijd terecht met mijn vragen over de microscopen, bedankt hiervoor.

Berend, wat fijn dat ik gebruik kon maken van de flow cytometers in het AMC, bedankt voor je begeleiding.

Thomas and Joachim, thank you for the pleasant collaboration, you've helped me a lot with the RNA-sequencing data analysis and together we wrote a great paper that got published in Nature Communications!

Chotima, Camilla and Josef, thank you for the pleasant collaboration, great that we have recently published the CyTOF data!

Jeroen en Willianne, door het combineren van jullie kennis over Fc-gamma receptoren en onze kennis over microglia hebben we een mooi artikel kunnen schrijven! Bedankt voor alle tips en hulp bij het opzetten van de proeven en het schrijfproces.

Ook wil ik mijn vrienden bedanken, het was heel fijn om met jullie af te kunnen spreken! Die afleiding had ik soms wel even nodig en zorgde er ook voor dat ik met nieuwe energie door kon gaan met mijn promotietraject. Oud-studiegenootjes van BFW: last but not least, ik ben nu ook gepromoveerd! Ook al heb ik maar 1 jaar in Leiden gestudeerd, ik heb een super leuke tijd gehad en ben erg blij dat we nog steeds contact hebben en weekendjes weggaan!

Manon, ik ben heel blij dat jij mijn paranmf wilt zijn! We hebben na onze studietijd in Leiden nog steeds veel contact gehouden en heel fijn dat ik je altijd kon contacten over de gebruikelijke PhD struggles.

Ook wil ik mijn studiegenootjes van de UvA bedanken: 'UvA superkids' Annabel, Marleen en Jesminne bedankt voor de leuke studietijd in Amsterdam en heel fijn dat we nu nog zo'n goed contact hebben!

Mijn vriendinnen van de middelbare school, Brenda en Rianne, ook al zien we elkaar niet heel vaak, het voelt altijd weer als vanouds als we elkaar zien en laten we nog vaak afspreken om te fietsen, koken of te borrelen.

Studiegenootjes van de masteropleiding in Utrecht, laten we nog vaak uit eten gaan of dat super-weekend wat we hadden bedacht in Utrecht gaan plannen met z'n allen.

Caro en Fem, we hebben een hele leuke tijd gehad als huisgenootjes in ons studentenhuis in Leiden en ik ben heel blij dat we nog steeds veel dingen ondernemen, ik hoop nog vele concertjes met jullie te kunnen bezoeken!

Soraya, wat een mooie voorkant heb jij ontworpen, ik ben er erg blij mee, bedankt hiervoor!

Lieve opa's en oma, bedankt voor jullie steun de afgelopen jaren, ik zal dit boekje met trots aan jullie overhandigen! Helaas is oma Schoonderwoerd er niet meer om dit boekje in ontvangst te nemen, maar ik zal niet vergeten hoe trots u op mij was.

Bedankt lieve familie en schoonfamilie voor jullie interesse in mijn PhD project, het was ook leerzaam voor mij om mijn onderzoek aan jullie uit te leggen.

Lieve Chris en Mel, wat fijn dat jullie altijd voor mij klaar staan, wat ben ik blij met zo'n broer en schoonzus en ik ben trots dat ik dit jaar tante ben geworden van Noah!

Lieve pap en mam, bedankt voor jullie onvoorwaardelijke steun bij alle beslissingen die ik heb genomen in mijn leven! Ook al zat er iets tegen, jullie zeiden dat ik het nooit op moest geven. Bedankt voor de interesse die jullie altijd toonden in mijn PhD project, het boekje is nu echt af en ik weet dat jullie met veel trots dit boekje aan iedereen willen laten zien.

Lieve Oscar, wat ben ik blij dat jij al tien jaar deel uitmaakt van mijn leven. Bedankt voor je rust, liefde en humor en alle momenten dat jij mijn verhalen aan wilde horen over mijn PhD project! Jij was de beste steun in de afgelopen 4 jaar!



