

Nederlandse samenvatting
List of publications
PhD portfolio
Acknowledgement
(Dankwoord)

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Hart- en vaatziekten is een overkoepelende term voor elk type aandoening die het hart en/of de bloedsomloop beïnvloedt. Ondanks verbeteringen omtrent de kennis en behandelopties in de afgelopen decennia, blijft het een van de belangrijkste oorzaken van overlijden en invaliditeit. De mechanismen variëren naargelang de desbetreffende ziekte. Meestal is er niet één oorzaak voor de ziekte, maar zijn er verschillende risicofactoren betrokken die de kans op ontwikkeling en progressie van de ziekte verhogen. Een aantal van deze risicofactoren kunnen worden vermeden, gecontroleerd, behandeld of zelfs verandert zoals hoog cholesterol, hoge bloeddruk en obesitas. Terwijl anderen, zoals familiegeschiedenis en geslacht, niet vermeden kunnen worden en de nadruk ligt hier dan ook op de controle en behandeling. In dit proefschrift, hebben we aan de hand van verschillende muismodellen onderzocht wat de rol van DNA schade, aderverkalking (atherosclerose) en het renine-angiotensine systeem (RAS) is op de ontwikkeling en progressie van hart- en vaatziekten. Daarnaast hebben we het effect van voedings- en therapeutische interventies onderzocht.

Dit hoofdstuk beschrijft de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift en concludeert elk deel met een aantal suggesties voor toekomstig onderzoek.

Deel I Introductie

Hoofdstuk 2 geeft een overzicht van de algemene structuur en celbiologie van de vaatwand. De vaatwand bestaat uit drie verschillende lagen genaamd: tunica intima, tunica media en tunica adventitia. De belangrijkste componenten van deze lagen zijn endotheelcellen, gladde spiercellen, eiwitten van het cytoskelet en extracellulaire matrix eiwitten. Interactie tussen de componenten van deze verschillende lagen bepaalt de biologische en fysische eigenschappen van het bloedvat. Veranderingen en beschadiging van deze onderdelen en cel bestanddelen draagt bij aan het ontstaan en de progressie van verschillende vaatziekten, evenals aan veroudering van het vaatstelsel.

In **hoofdstuk 3**, wordt de rol van het RAS in de pathogenese van vasculaire ziekte beoordeeld. Activiteit van het RAS beïnvloed factoren die bijdragen aan de ontwikkeling en progressie van vaatziekten; o.a. extracellulaire matrix defecten, atherosclerose en veroudering. Oxidatieve stress lijkt gerelateerd te zijn aan al deze onderdelen, en draagt daarmee bij aan het ontstaan van vaatziekten. Echter, de precieze mechanismen waarmee deze componenten bijdragen aan het induceren van vaatschade is niet geheel duidelijk. RAS-remmende therapieën lijken effectief bij het behandelen van hart- en vaatziekten, maar ze zijn niet 100 procent effectief bij alle patiënten en hebben soms zelfs nadelige neveneffecten zoals hypotensie en hyperkaliëmie (verhoogd kalium gehalte in plasma). Echter, wanneer een angiotensine receptor remmer gelijktijdig wordt gebruikt met neprilysine remming (zogenaamde 'ARNI'), heeft dit een veel sterker positief effect in vergeli-

jking met slechts angiotensine receptor remming, zonder extra bijbehorende negatieve effecten. Echter meer inzicht in het werkingsmechanisme van ARNI is nog steeds nodig. Daarom is het belangrijk dat toekomstig onderzoek zich richt op het vinden van optimale strategieën met betrekking tot (gecombineerde) RAS remming, om zo verdere progressie van vaatziekten te voorkomen of zelfs te stoppen. Bovendien is het heel interessant om de werkzaamheid van gecombineerde RAS/zuurstofradicalen onderdrukkende therapie te testen in diermodellen die leiden aan hart- en vaatziekten, omdat dit misschien additionele gunstige effecten heeft op de vaten.

Deel II Aorta aneurysmata

In deel II, wordt het effect van twee risicofactoren, zijnde atherosclerose en verhoogde RAS signalering, bestudeerd op de ontwikkeling en progressie van aorta aneurysmata. In **hoofdstuk 4** is de relatie tussen atherosclerose en aorta aneurysma vorming onderzocht. Om een representatieve fysiologische toestand te krijgen die wordt waargenomen bij mensen, werden aneurysma gevoelige heterozygote Fibuline-4 deficiënte (Fibuline-4^{+R}) muizen gekruist met een muismodel voor atherosclerose; de ApoE knockout muis. Onze studie toonde aan dat een subtiele afwijkingen in de thoracale aorta wand, zoals verhoogde elastische vezels fragmentatie, een verhoogde vorming van atherosclerotische plaques veroorzaakt en veranderingen in plaque samenstelling teweeg brengt, inclusief verminderde elastine aanwezigheid, in ApoE^{-/-}Fibuline-4^{+R} muizen na 10 weken hoog vet dieet. Bovendien toonde de ApoE^{-/-}Fibuline-4^{+R} al relatief kleine thoracale verwijdingen van de aorta bij blootstelling aan een 20 weken vetarm dieet. Een interessante observatie is dat sommige van deze ApoE^{-/-}Fibuline-4^{+R} muizen tussen de 20 en 30 weken dieet, verlamingsverschijnselen ontwikkelden en zelfs 30% van de muizen vroegtijdig overlijden. Deze resultaten geven aan dat subtiele thoracale aorta wand afwijkingen in combinatie met atherosclerose, de mens vatbaar maken voor de ontwikkeling van aorta verwijdingen en veranderde plaque morfologie. Angiografie van het hele lichaam, zou kunnen helpen om de oorzaak van de verlamming en de waargenomen vroegtijdige dood in de ApoE^{-/-}Fibuline-4^{+R} muizen te achterhalen. Echter, dit zal een uitdaging zijn omdat hun dood heel plotseling en onvoorspelbaar is. Verder suggereert preliminaire muis RNA sequentie data dat er een verschil is in de expressie van genen betrokken bij mitochondriële dysfunctie en het immuunsysteem wanneer atherosclerose en aneurysmavorming worden vergeleken. Humane RNA-expressie analyse toonde vergelijkbare verschillen in immunologische regulering tussen abdominale aneurysmata en aorta occlusie (AAA vs AOD). Verdere analyse van specifieke immune factoren in plasma van zowel muis als mens zou meer kennis kunnen geven over de waargenomen verschillen. Het is duidelijk dat externe factoren zoals dieet een enorme invloed heeft op de aorta verwijdingen, in het bijzonder in de buik. Dit ApoE^{-/-}Fibuline-4^{+R} muismodel helpt ons enerzijds om het effect van hoog-vet en normaal dieet te bestuderen op een gecontroleerde manier, en anderzijds

bij het in beeld brengen van mechanismen, die naast de genetische factoren, een rol spelen in de vorming en progressie van abdominale aorta aneurysmata.

In **hoofdstuk 5** evalueerden we of het behandelen van Fibuline-4^{R/R} muizen met de angiotensine I (AT₁) receptor antagonist losartan beter werkt in het tegengaan van aneurysma progressie dan de renine-inhibitor aliskiren of het effect van de β -blokker propranolol. Hoewel beide typen RAS blokkers (losartan en aliskiren) identiek de bloeddruk verlagen, zien we dat alleen losartan zorgde voor een betere overleving, verminderde aneurysma groei en een verbeterde aortawand flexibiliteit. Bovendien zorgde losartan behandeling voor een toegenomen ejectiefractie, een verkleining in linker ventrikel diameter en een verlaging in TGF- β signalering in het hart, terwijl de andere geneesmiddelen geen effect hadden. Geen van deze geneesmiddelen beïnvloedde de aortawand morfologie. Om het gunstige effect van losartan ten opzichte van aliskiren te verklaren, redeneren wij dat losartan een extra voordeel biedt, mogelijk door stimulatie van de angiotensine II (AT₂) type receptoren en/of activering van de angiotensine-(1-7)/Mas receptor as. Het is nog onduidelijk of remming van het RAS effectief is in het voorkomen of verminderen van aortawortel verwijdingen. De meeste klinische studies hebben een heterogene patiëntenpopulatie waarin zij geen onderscheid maken tussen verschillende onderliggende mutaties, waardoor het moeilijker is om harde conclusies te trekken. Bovendien starten deze klinische studies vaak op verschillende leeftijden met de behandeling van patiënten, zoals kinderen, adolescenten, volwassenen en ouderen. De kracht van onze studie is dat deze muizen dezelfde genetische mutatie hebben, worden behandeld vanaf hetzelfde beginpunt en dat aneurysma progressie over tijd nauwkeurig wordt gevolgd in hetzelfde dier. Daarnaast hebben wij in onze studie de muizen postnataal behandeld, wanneer de vorming van het aneurysma al is ontstaan, zodat het meer klinisch relevant is omdat behandeling van aneurysma patiënten meestal begint als een aneurysma al aanwezig is. Juiste timing van de behandeling, evenals de onderliggende mutatie zijn van groot belang, omdat zij het succes kunnen verklaren, of het gebrek daaraan, van verschillende RAS-blokkers gebruikt in de klinische studies. Toekomstig onderzoek zou daarom dezelfde patiënt en/of dier moeten volgen over tijd, daarbij onderscheid makende tussen de onderliggende mutaties van genen die betrokken zijn bij ziekte.

Deel III Hart- en vaat veroudering

In deel III, onderzochten we het effect van defect DNA herstel en het daaruit voortvloeiende verouderingsproces op de ontwikkeling van cardiovasculaire schade. Eerdere studies hebben aangetoond dat het bekende muismodel voor vroegtijdige veroudering, het *Erccl*^{Δ/-} muismodel, tekenen heeft van versnelde, leeftijdsafhankelijke vaatverwijdende dysfunctie, wat vergezeld wordt door verhoogde bloeddruk, vasculaire stijfheid en vasculaire veroudering. In **hoofdstuk 6** onderzochten we of deze versnelde, leeftijdsafhankelijke vaatverwijdende dysfunctie kan worden voorkomen door hetzij behandeling

van de muizen met chronische AT₁ receptor blokker losartan, (een bekende antihypertensivum) of behandeling met dieet restrictie (DR), bekend voor het induceren van een anti-veroudering response. Onze studie toont aan dat DR een zeer efficiënte interventie is tegen vaatverwijdende dysfunctie die veroorzaakt wordt door genomische instabiliteit. Verbetering van de prostaglandine gemedieerde endotheel-afhankelijke signalering en van vaat-gerelateerde spiercel reacties op NO werden geïdentificeerd als mechanismen. Endotheel dysfunctie was niet omkeerbaar met chronische losartan behandeling. Deze resultaten suggereren dat dit snel verouderende muismodel het RAS blokkade-bestendige gedeelte van leeftijdsgerelateerde vaatziekten vertegenwoordigd. Toekomstig onderzoek zou daarom zulke snel verouderende muismodellen moeten gebruiken om het onderliggende mechanisme dat leidt tot leeftijdsgerelateerde vaatziekten verder te onderzoeken, evenals gebruiken bij het testen van de werkzaamheid van geneesmiddelen gericht tegen vaatziekte, zodat deze geëxtrapoleerd kunnen worden naar de oudere bevolking. Een mogelijke verklaring voor het gebrek aan effect van losartan is dat de vaaddysfunctie bij *Ercc1*^{dl/-} muizen grotendeels ROS onafhankelijk is, terwijl Ang II vaak ROS vorming als nadelige effect heeft. Bovendien vertonen deze *Ercc1*^{dl/-} muizen een opregulatie van anti-oxidant en detox verdedigingsgenen als onderdeel van een zogenaamde overlevingsreactie met als doel het verlengen van de levensduur. Toekomstig onderzoek zou de rol van ROS in leeftijdsgerelateerde vaatziekten moeten ophelderen.

In **hoofdstuk 7**, karakteriseerden we het effect van veroudering op het hart en testen we het gebruik van fluorescente moleculaire markers voor de vroege detectie van hart- en vaatziekte. Met het gebruik van microCT, vonden we dat vroegtijdige verouderende *Ercc1*^{dl/-} muizen van 24 weken oud een verandering in linker ventrikel (LV) geometrie en werking laten zien, zoals vergrootte ventriculaire volumes en een verminderde ejectiefractie. De resultaten waren vergelijkbaar met een functionele analyse door middel van echocardiografie. Daarnaast lieten we zien dat specifiek verlies van *Ercc1* in hartspiercellen, vergelijkbare remodelering van het hart vertoonde met een verslechterde hartfunctie, wat de directe betrokkenheid van *Ercc1* in het hart suggereert. Bovendien toonden we aan dat combinatie van microCT en optische beeldvorming gelijktijdige analyse van moleculaire en functionele veranderingen mogelijk maakt in muismodellen voor versnelde veroudering. Onze studie laat zien dat een tijdelijke verhoging van matrix metalloproteinase activiteit en apoptose gevolgd wordt door functionele achteruitgang van het hart in deze snel verouderende *Ercc1*^{dl/-} muizen. Het is interessant om te onderzoeken of deze verhoging van matrix metalloproteinase activiteit afkomstig is van senescent cellen. Daarnaast heeft deze studie niet het direct causale effect van DNA-schade op de ontwikkeling van hartfalen onderzocht; daarom zou toekomstig onderzoek gericht moeten zijn op het ophelderen van deze vraag, bijvoorbeeld door het meten van DNA-schade markers in het hart van de (cardiospecifieke) *Ercc1* muizen, evenals het induceren van DNA schade door straling

en het onderzoeken van het effect op de hartfunctie. Uitgebreide analyse van mutaties in DNA-schade en herstel genen die leiden tot hart- en vaatziekten is bovendien nodig om te begrijpen hoe DNA-beschadigende factoren de gevoeligheid op het ontstaan van cardiovasculaire gebeurtenissen vergroten.

Deel IV Het renine-angiotensine systeem

In deel IV, onderzochten we de rol van het RAS. In **hoofdstuk 8** evalueerden we het gebruik van de NIRF probe ReninSense680™ om *in vivo* renine activiteit te bestuderen en daarnaast onderzochten we de renine activiteit in muizen met een vroegtijdige, leeftijdsgebonden nier pathologie als gevolg van een defect in het nucleotide excisie herstel mechanisme (*Ercci*^{dl/-} muizen). Als eerste hebben we bevestigd dat de nieren van de vroegtijdige verouderende *Ercci*^{dl/-} muizen ernstige tubulaire degeneratie vertonen met uitgesproken anisokaryosis, zoals eerder werd aangetoond. Daarnaast lieten we zien dat niet-invasieve beeldvorming met behulp van de NIRF probe ReninSense680™, beeldvorming van veranderde renine activiteit in de nieren in de tijd mogelijk maakt. De verhoogde intrarenale activiteit gedetecteerd met de ReninSense680™ probe na losartan behandeling, is in volledige overeenstemming met de literatuur, en valideert niet alleen de specificiteit van deze probe maar ondersteunt ook het gebruik ervan voor longitudinale beeldvorming van veranderde RAS signalering tijdens veroudering. Bovendien toonden onze observaties in het vroegtijdig verouderende *Ercci*^{dl/-} muismodel dat intrarenale renine activiteit niet noodzakelijkerwijs parallel loopt met het circulerende renine. Deze waarneming werd ook gedaan in diermodellen van vroege diabetische nefropathie en patiënten met diabetes mellitus. Het is dus interessant om het verband tussen veroudering en diabetes mellitus verder te onderzoeken met betrekking op de ontwikkeling van nierschade alswel de gevolgen voor de toekomstige therapieën; moeten we streven naar het lokaal verlagen van het intrarenale RAS in deze modellen? Bovendien werd er in een van de diabetische dierstudies gesuggereerd dat veranderde renine afgifte uit de nier verantwoordelijk is voor de lage circulerende renine niveaus, en niet de verminderde productie (besproken in Price et al., 1999). Toekomstig onderzoek zou dan ook de afgifte en de productie van renine en andere RAS componenten in verouderende muismodellen moeten onderzoeken.

Onze studie, in **hoofdstuk 9**, heronderzocht of (pro) renine zich in de hersenen bevindt, omdat het concept van een brein RAS altijd al controversieel is geweest en momenteel nog steeds heerst. Onze studie toonde aan dat buffer perfusie het muizen hersenrenine met ongeveer 60% verminderde en dat hoewel renine-afhankelijk gegenereerde-Ang I activiteit (AGA) in vrijwel alle regio's kon worden gedetecteerd, plasma renine altijd nog 40-800 keer hoger was dan hersenrenine. Verder, zagen wij dat deoxycorticosteronacetaat (DOCA) zout, zoals Ang II, circulerende renine verminderde, en, in tegenstelling tot onze verwachtingen niet leidde tot verhoging van hersenprorenine. In feite, zowel DOCA-zout en Ang II verlaagde hersenrenine parallel aan plasma-renine. Aliskiren-geremde AGA was

geheel afwezig in de hersenen van Renin^{-/-} muizen, wat de validiteit van onze hersen-renine meting ondersteunt. Onze data biedt dus geen ondersteuning aan het concept van lokaal gesynthetiseerd, nier-onafhankelijke renine aanwezigheid in de hersenen, en we concluderen dan ook dat hersen-renine, eigenlijk renine vertegenwoordigd dat wordt opgenomen uit het bloed. Bovendien suggereert het ontbreken van Ang I in hersenweefsel buiten het bloedcompartiment, dat er geen lokale Ang I productie is in de hersenen, en het lijkt er dus op dat hersen-Ang II afkomstig is van het bloedcompartiment. Het is interessant om te onderzoeken hoe deze Ang II de bloed-hersenbarrière passeert, bijvoorbeeld door binding aan de hersen-angiotensine type-receptoren buiten de bloed-hersenbarrière of door het binnentreden van de hersenen op plaatsen waar de bloed-hersenbarrière permeabiliteit is aangetast. De ReninSense probe biedt daarnaast de mogelijkheid renine activiteit in weefsels te lokaliseren en detecteren, en toekomstige studies zouden de mogelijkheid moeten onderzoeken of renine-activiteit kan worden beoordeeld in andere weefsels dan de nieren.

In **hoofdstuk 10** werd het gebruik van VTP-27999, een nieuwe renine-remmer (zonder belangrijke bijwerkingen bij hoge doses) onderzocht bij de vaststelling van het maximale effect van renine-remming in de nier. Het effect van VTP-27999 werd vergeleken met de veelgebruikte renine-inhibitor aliskiren in 22 gezonde vrijwilligers op een zoutarm dieet. Een maximaal effect van renine remming op de renale plasmastroom (RPF) en de glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) werd gevonden bij VTP-27999 doses van 300 mg en hoger, terwijl dit maximale effect niet bereikt werd met aliskiren in een dosis van 300 mg. Het maximale effect van VTP-27999 was ongeveer 30% groter dan het effect van aliskiren bij dezelfde dosis. Het maximale effect zoals gezien bij VTP-27999 kan waarschijnlijk worden bereikt met 600 mg aliskiren, echter zijn zulke hoge doses aliskiren klinisch niet aanbevolen vanwege de bijwerkingen. Met deze studie, konden we vaststellen dat de maximale RPF verhogingen niet kan worden vastgesteld met klinisch relevante doseringen van aliskiren. Aangezien onze studie alleen uit gezonde patiënten bestaat, is het noodzakelijk dat deze resultaten worden bevestigd in patiënten met diabetes, hoge bloeddruk en/of nierfalen omdat het gebruik van RAS blokkers de kans op bijwerkingen in deze populatie verhoogt, waaronder hyperkaliëmie. Bovendien zou het interessant zijn om het effect van VTP-27999 te testen in een snel verouderend muismodel, aangezien deze muizen mogelijk een veranderde RAS activiteit hebben die resulteert in een andere respons. Ook hebben we in deze studie geen onderscheid gemaakt tussen mannen en vrouwen, en zou verder onderzoek dit onderscheid wel moeten maken om te bepalen of het effect vergelijkbaar is in beide geslachten.

CURRICULUM VITAE

Personal details

Full Name: Bibi Sherise van Thiel
 Date of birth: September 21st 1986
 Place of birth: Rotterdam, The Netherlands
 Nationality: Dutch

Research experience

2012 - 2017 PhD Student
 Erasmus Medical Centre – Rotterdam, The Netherlands
 Department of Vascular Surgery, Molecular Genetics, and Internal
 Medicine, division of Pharmacology and Vascular Medicine
 ‘Multimodality ImAging of Cardiovascular Dysfunction; risk factors,
 diagnostics and treatment options’

2011 Major Research Internship
 Erasmus Medical Centre – Rotterdam, The Netherlands
 Thoraxcenter, Department of Biomedical Engineering
 ‘In vivo imaging of plaque composition and vulnerability in an athero-
 sclerotic mouse model’

2010 Minor Research Internship
 VU medical centre Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands
 ICaR-VU, Department of Physiology and Lung disease
 ‘Right ventricular hypoxia is related to ¹⁸FAZA uptake and HIF-1 α stain-
 ing in pulmonary hypertensive hearts’

2008 - 2009 Bachelor internship
 VU medical center Amsterdam – Amsterdam, The Netherlands
 Cancer Center Amsterdam (CCA), Department of Pathology, Epstein-
 Barr Virus Group
 ‘Development of a physiological co-culture system to study internaliza-
 tion of secreted exosomes by recipient cells in real-time’

Education

2012-2017 Doctor of Philosophy (PhD), Cardiovascular Research School (COEUR)
 Doctor of Philosophy (PhD), Medical-Genetics Centre (MGC)
 Erasmus Medical Centre Rotterdam

2009-2012 MSc Top Master Cardiovascular Research
 VU Medical Centre Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

2006-2010 BSc Biomedical Sciences
 Vrije Universiteit van Amsterdam, Amsterdam, The Netherlands

LIST OF PUBLICATIONS

- **van Thiel BS**, Ridwan Y, Garrelds IM, Vermeij M, Claahsen-van Groningen MC, Quadri F, Alenina N, Bader M, Danser AHJ, Essers J, van der Pluijm I. *In vivo* renin activity imaging in the kidney of progeroid *Ercc1* mutant mice. *In preparation*.
- **van Thiel BS**, Ridwan Y, de Boer M, de Kleijnen MGJ, van Vliet N, van Heijningen PM, Vermeij WP, Danser AHJ, Kanaar R, Duncker DJ, van der Pluijm I, Essers J. Hybrid Optical and CT Imaging reveals increased matrix metalloprotease activity and apoptosis preceding cardiac failure in progeroid *Ercc1* mice. *In preparation*.
- **van Thiel BS***, Ramnath NWM*, Van der Heiden K*, Speelman L, Ridwan Y, Heijningen PM, Vermeij M, Rouwet EV, Kanaar R, van der Pluijm I, Essers J. Fibulin-4 Deficiency induces Thoracic and Abdominal Aortic Wall Dilation and Altered Plaque Morphology in Apolipoprotein E Deficient Mice. * Equal contributors. *In preparation*.
- **van Thiel BS***, Wu H*, Bautista Niño P, Reiling E, Durik M, Leijten FPJ, Ridwan Y, Brandt RMC, van Steeg H, Dollé MET, Vermeij WP, Hoeijmakers JH, Essers J, van der Pluijm I, Danser AHJ, Roks AJM. Dietary restriction but not angiotensin II type 1 receptor blockade improves DNA damage-related vasodilator dysfunction.* Equal contributors. *Submitted*.
- **van Thiel BS**, Martini AG, te Riet L, Severs D, Uijl E, Garrelds IM, Leijten FPJ, van der Pluijm I, Essers J, Qadri F, Alenina N, Bader M, Paulis L, Rajkovicova R, Domenig O, Poglitsch M, Danser AHJ. Brain renin-angiotensin system: does it exist? *Hypertension* 2017 Jun;69:1136-1144.
- te Riet L, van Deel ED, **van Thiel BS**, Moltzer E, van Vliet N, Ridwan Y, van Veghel R, van Heijningen PM, Robertus JL, Garrelds IM, Vermeij M, Ingrid van der Pluijm I, Danser AHJ., Essers J. AT1-receptor blockade, but not renin inhibition, reduces aneurysm growth and cardiac failure in fibulin-4 mice. *J Hypertens*. 2016 Apr;34(4):654-65.
- Barkoudah E, **van Thiel BS**, Fisher NDL, Gregg RA, Danser AHJ, Moukarbel GV, Hollenberg NK. Maximum renal responses to renin inhibition in healthy subjects: VTP-27999 versus aliskiren. *J Hypertens*. 2016 May;34(5):935-41.
- **van Thiel BS**, van der Pluijm I, te Riet L, Essers J, Danser AHJ. The renin-angiotensin system and its involvement in vascular disease. *Eur J Pharmacol*. 2015 Sep 15;763(Pt A):3-14.
- **van Thiel BS**, van der Pluijm I, Kanaar R, Danser AHJ, Essers J. (2017) ESC Textbook of Vascular Biology. Oxford. Oxford University Press.
Chapter 1: Structure and cell biology of the vascular wall.

Publications on other topics

- van der Pluijm I, van Vliet N, von der Thusen JH, Robertus JL, Ridwan Y, van Heijningen PM, **van Thiel BS**, Vermeij M, Hoeks SE, Buijs-Offerman RM, Verhagen HJ, Kanaar R,

Bertoli-Avella AM, Essers J. Defective Connective Tissue Remodeling in Smad3 Mice Leads to Accelerated Aneurysmal Growth Through Disturbed Downstream TGF- β Signaling. *EBioMedicine*. 2016 Sep 10. pii: S2352-3964(16)30413-3.

- Ramnath NW, van de Luijtgaarden KM, van der Pluijm I, van Nimwegen M, van Heijningen PM, Swagemakers SM, **van Thiel BS**, Ridwan RY, van Vliet N, Vermeij M, Hawinkels LJ, de Munck A, Dzyubachyk O, Meijering E, van der Spek P, Rottier R, Yanagisawa H, Hendriks RW, Kanaar R, Rouwet EV, Kleinjan A, Essers J. Extracellular matrix defects in aneurysmal Fibulin-4 mice predispose to lung emphysema. *PLoS One*. 2014 Sep 25;9(9):e106054.
- Winkel LCJ, Groen HC, **van Thiel BS**, Muller C, van der Steen AFW, Wentzel JJ, de Jong M, Van der Heiden K. Folate receptor-targeted SPECT/CT to detect activated macrophages in atherosclerosis; can it distinguish vulnerable from stable atherosclerotic plaques? *Mol Imaging*. 2014;13.

PHD PORTFOLIO

Summary of PhD training and teaching

Name PhD Student:	Bibi S. van Thiel
Erasmus MC Department:	Vascular surgery Molecular Genetics, Internal medicine, division of Pharmacology and Vascular Medicine
Research School:	Cardiovascular Research School (COEUR) and Medical Genetics Center (MGC)
Promotor:	Prof.dr. R. Kanaar and Prof.dr. A.H.J. Danser
Copromotor:	Dr. J. Essers and Dr. I. van der Pluijm
PhD period:	2012-2017

1. PhD training

General academic skills (2.5 ECTS)	Year
<ul style="list-style-type: none"> • Safe Laboratory Techniques – MGC • Technology Facilities-Imaging – Boerhaave CME (LUMC) 	2012 2013
In-depth courses (17.5 ECTS)	Year
<ul style="list-style-type: none"> • Cell and Developmental Biology – MGC • Genetics – MGC • Biochemistry and Biophysics – MGC • Vascular Biology – Dutch Heart Foundation (DHF) • Vascular Clinical Epidemiology – Coeur • Cardiovascular Pharmacology – Coeur • Translational Imaging Workshop by AMIE: 	2012 2012 2012 2012 2012 2013 2013
From mouse to man – MolMed	
<ul style="list-style-type: none"> • CPO, Patient Orientated Research – Erasmus MC • Basiscursus Regelgeving en Organisatie voor Klinisch Onderzoekers (BROK) – Erasmus MC 	2015 2015
Research Seminars and lectures (3.5 ECTS)	Year
Various – COEUR, MGC and Biomedical Science cluster	2012-2017

Symposia and conferences (22 ECTS)	Year
<i>Oral Presentations</i>	
• Coeur PhD Day NAI, Rotterdam, the Netherlands	2013
• Wetenschapsdag Vascular Surgery, Rotterdam, the Netherlands	2014
• Wetenschapsdagen Internal Medicine, Antwerp, Belgium	2015
• ESH 25th European Meeting – Hypertension and Cardiovascular Protection, Milan, Italy	2015
• FIGON Dutch medicines days 2015, Ede, The Netherlands	2015
• North American Vascular Biology Organization (NAVBO) – Vascular Biology 2015; Hyannis, Massachusetts, USA	2015
• DNA Repair Group Meeting, Rotterdam, The Netherlands	2015
• Coeur PhD Day NAI, Rotterdam, The Netherlands	2016
• Sector meetings, work discussions and journal clubs	2012-2017
<i>Poster Presentations</i>	
• 7 th European Society of Molecular Imaging Winter Conference TOPIIM – Imaging the hallmarks of cancer, Les Houches, France	2013
• Wetenschapsdagen Internal Medicine, Antwerp, Belgium	2013
• 20 th MGC PhD Workshop, Luxembourg, Luxembourg	2013
• Wetenschapsdagen Internal Medicine, Antwerp, Belgium	2014
• NVF Spring Meeting – (Epi)Genetics in Pharmacology, Nijmegen, The Netherlands	2015
• Gordon research conference and seminar – Angiotensin (2 posters) Lucca (Barga), Italy	2016
<i>Attendance</i>	
• Coeur PhD Day NAI, Rotterdam, The Netherlands	2012
• 19 th MGC PhD Workshop, Dusseldorf, Germany	2012
• 22 nd , 23 rd and 24 th MGC Symposium, Leiden/Rotterdam, The Netherlands	2012-2014
• Perkin Elmer Preclinical Imaging User Group Meeting	2014
<i>Grants & prizes</i>	
• 3 RD prize PhD student competition, FIGON Dutch Medicines Days	2015
• Accommodation grant, 25 th ESH meeting	2015
• Trustfonds Travel grant, NAVBO meeting	2015
• Travel award, NAVBO meeting	2015
• Poster prize, Gordon research conference	2016

2. Teaching activities

Teaching (0.5 ECTS)	Year
Bsc Nanobiology - PCR practicum	2013
MSc Molecular Medicine - Keuze onderwijs: 'Ever thought of doing research?'	2014

Supervision students (0.5 ECTS)	Year
Partial supervision of master student	2013
Partial supervision of bachelor student	2013-2014

Total 2012-2017 (46.5 ECTS)

ACKNOWLEDGEMENT (DANKWOORD)

Het is zover, mijn proefschrift is klaar!

Met het schrijven van dit dankwoord sluit ik een hele belangrijke fase in mijn leven af. In deze periode heb ik veel geleerd, niet alleen op onderzoeksgebied maar ook op persoonlijk vlak. Graag wil ik een ieder (en dit is in geheel willekeurige volgorde) bedanken die heeft bijgedragen aan deze mooie, inspirerende maar toch zeker ook pittige periode.

Allereerst mijn copromotor, Dr. Jeroen Essers. Beste Jeroen, bedankt voor jouw vertrouwen in mij en de kans die je mij geboden hebt om deel uit te mogen maken van de Fibuline-4 groep. Jouw enthousiasme, kennis en altijd aanwezige optimisme waren voor mij van grote waarde. Mijn promotietraject ging gepaard met enkele hobbels, ik wil je graag bedanken voor alle steun en motivatie die je mij geboden hebt tijdens deze periode. Jouw supervisie en sturing hebben mij geholpen dit proefschrift te maken tot wat het nu is.

Dr. Ingrid van de Pluijm, beste Ingrid, bedankt voor jouw intensieve en onmisbare begeleiding, motivatie en wijsheden. Wanneer ik de kritische kant soms iets teveel toeliet, bleef jij optimistisch, dank voor alle suggesties en inzet bij het samenstellen van de artikelen! Daarnaast wil ik je graag ook nog even bedanken voor jouw onmisbare input in de hoeveelheid vrouwvriendelijke figuren in dit boekje en mocht zich de gelegenheid ooit eens voordoen, dan ben ik graag een keer je tegenstander met sumo worstelen.

Mijn promotoren, prof. dr. Jan Danser en prof. dr. Roland Kanaar. Graag wil ik jullie bedanken voor de fijne begeleiding en discussie in de afgelopen jaren. Bedankt dat jullie beide, ondanks jullie drukke tijdschema, eigenlijk altijd binnen een dag, soms zelfs enkele uren, mijn manuscripten hebben voorzien van commentaar. Beste Jan, jij hebt altijd oog voor zowel de grote lijnen als de details. Bedankt voor je kritische kijk op mijn artikelen, dit heeft mij zeker geholpen de resultaten beter te begrijpen en onder woorden te brengen. Beste Roland, bedankt voor het vertrouwen en de prettige samenwerking. Jouw input tijdens de werkbijeenkomsten en bij het nakijken van mijn manuscripten zorgde ervoor dat het niveau stukken hoger werd en de relevantie significant duidelijker. Ik wil jullie beiden bedanken dat deur altijd open stond.

Graag bedank ik ook de leden van de grote en kleine commissie: prof.dr. Verhagen, prof.dr. Duncker, prof.dr. Schalkwijk, prof.dr. Hoeijmakers, prof.dr. Roos-Hesselink en Dr. Merkus, voor het kritisch beoordelen van mijn proefschrift en hun bereidheid zitting te nemen in mijn promotiecommissie.

Plezier hebben in je werk is niet alleen afhankelijk van de werkzaamheden op het lab maar wordt zeker ook bepaald door de sfeer op de afdeling. Lieve collega's, dank voor de leuke tijd op het lab, de vele gezellige borrels en wetenschappelijke discussies.

Beste Fibuline-4 groep, bedankt voor al jullie hulp op het lab, achter de barriere en in het Amie! Ik heb altijd veel gehad aan jullie input tijdens de werkdiscussies en heb vooral ook veel lol met jullie gehad tijdens het werk en daarbuiten. Nicole, als ik ooit nog eens hulp nodig heb bij het verzinnen van Sinterklaas rijmpjes, pas dan maar op, dan kom ik je namelijk stalken. Natuurlijk zorg ik dan voor de chocolade! Joyce, ik vind het ongelofelijk fijn hoe wij samen kunnen sparren over werk maar ook prive dingen. Heel veel succes met je promotieonderzoek! En ik wil jullie toch nog even meegeven dat als er ooit nog een (amateurs)inzending nodig is voor het songfestival, dan geef ik ons op! Paula, ladiesrun, ikea tripjes, hardlopen in het Kralingse bos, lachen, huilen, noem maar op. Bedankt dat ik zowel plezier als leed met je kan delen, snel maar weer eens een bakkie doen! Nathalie, ik wil je heel veel succes wensen met je PhD, laat je niet gek maken! Luuk en Natasja, jullie zijn al even weg, maar ik waardeer jullie hulp tijdens mijn projecten en daarna ook bij het zoeken van een nieuwe baan. Ik wens jullie veel succes en geluk in jullie verdere carrière. Yanto, jij komt verderop nog aan bod.

Lieve Nathalie en Kishan, bedankt voor alle goede gesprekken en de mogelijkheid die jullie mij gaven om mijn blijheden maar zeker ook frustraties eruit te gooien. Beide heel veel succes met jullie verdere carrière en ik hopelijk komen we elkaar nog weer eens tegen!

All other (former) colleagues from the Molecular Genetics department: Inger, Cecile, Nicole, Anja, Hanny, Titia, Whenhao, Julie, Charlie, Alex, Claire, Joao, Dejan, Gosia, Maarten, Arshdeep, Marcel, Koos, Dik, Joyce L, Laura, Giorgia en Natasa. I really enjoyed the cocktail parties, poker parties, karaoke nights and all other borrels. Ook lab 734-738 met name Sander, Renata, Wilbert, Yvette, Yvonne en Peter, bedankt. Bedankt voor alle hulp, de gezellige tijd in het kleine muizenlabje en de borrels op vrijdag(avond).

Daarnaast wil ik graag mijn collega's en oud-collega's van de Farmacologie afdeling bedanken. Beste Richard, Ingrid, Jeanette, Usha, Frank, Birgitte, Antoinette, Ton, Lodi, Madhi, Arthur, Katie, Khatera, Kristian, Alejandro, Eliana, Eric (Xifeng), Bruno, Koen, Joep, Wendy, Kayi, Matej, Charles, Sieneke, Edith, Alexandre, Haiyan en Paula, bedankt voor de aangename samenwerking, gezellige congressen, heerlijke sushi avonden, borrels en praatjes. Anton, bedankt voor fijne en leerzame samenwerking. David, Estrellita, Langeza en Dominique, bedankt voor de plezierige samenwerking, de etentjes en ontzettend gezellige uitgaans/dansavonden.

Natuurlijk gaat mijn dank ook uit naar alle co-auteurs. Mede door jullie bijdrage en fijne samenwerking zijn er mooie publicaties tot stand gekomen. Lieve Biomedical Engineering

groep (Kim, Lambert, Kim(metje), Jolanda, Frank, Ali, Jelle, Ruoyu, Merih, Marianna, Leah, en Bahar) bedankt voor de leerzame en fijne stage maar ook de overige gezellige lunch en koffie momentjes tijdens de afgelopen 6 jaar. Ook de samenwerking met de cardiologie afdeling, Martine en Marion, stel ik zeer op prijs. Bedankt voor de samenwerking, ik denk dat met trots kunnen zeggen dat er straks mooie publicaties uit voort zullen komen.

Lieve Paranimfen, ik voel mij gesterkt wetende dat jullie tijdens mijn verdediging naast mij staan!

Stephanie, vanaf het begin wist ik eigenlijk meteen al dat ik jou als paranimf wilde vragen, no questions asked. Je was niet alleen mijn collega bij de farmacologie, maar ik ben heel blij jou al ruim 11 jaar als vriendin te mogen hebben. Bedankt dat je mij altijd hebt bijgestaan en gesteund, ook op momenten waarbij ik zelf te eigenwijs was en dacht dat ik geen hulp nodig had, stond je voor mij klaar. Ik heb je de afgelopen maanden veel te weinig gezien, dus ik vind dat we samen snel maar eens die vaak besproken citytrip moeten gaan boeken. We gaan zeker nog veel mooie momenten samen meemaken.

Yanto, toen ik als PhD student meteen onder jouw vleugels werd meegenomen in de wereld van het imaging, heb ik eerst even moeten wennen aan je ochttenritueel tijdens onze vooral vroege maar ook lange imaging dagen (lees: eindeloze stiltes met ontelbaar veel koppen koffie, en zo hier en dan een winegum om je blij te maken). Maar meteen merkte ik al dat jouw soort humor en kijk op het leven niet alleen zorgde voor een ontspannen werksfeer, maar jou tot een waardevolle vriend voor het leven maakt. Bedankt voor jouw enorme inzet tijdens de afgelopen jaren, dit boekje was er zonder jou daadwerkelijk niet geweest. Snel weer een keertje aan de mezcal!

Lieve familie Commijs, Karin, Ronald, Laura, Ferdi en natuurlijk Erwin & Roef. Bedankt voor alle liefde, betrokkenheid, geduld en steun tijdens een belangrijk deel van mijn leven. Ook de andere leden van de familie Commijs, Beuker en Stoffer, hartelijk dank voor de gezellige momenten.

Lieve familie, ouders, broertjes, opa en oma's. Alhoewel het voor jullie niet altijd duidelijk was wat mijn onderzoek allemaal inhield en er tijdens deze drukke periodes vaak wat minder contact was, hadden jullie altijd interesse in mijn werk en boden jullie een luisterend oor voor mijn verhalen. Ik weet niet of ik altijd goed heb kunnen uitleggen waar ik eigenlijk mee bezig was, maar dit is in ieder geval het eindresultaat. En tijdens de afgelopen jaren heb ik leren waarderen dat jullie trots op mij zijn. Familie Roobol, veel dank voor de steun en tips tijdens de laatste fase van mijn proefschrift.

Lieve Stefan, heel veel dank voor je liefde, vertrouwen, steun maar zo nu en dan ook die schop onder mijn achterwerk! Onze reis is eigenlijk nog maar net begonnen maar ik kan niet wachten om met jou, en Ony, nieuwe avonturen tegemoet te gaan. Ik zie u graag!

Heel belangrijk in mijn leven zijn mijn ontzettend leuke en lieve vrienden. Vrienden die gedurende de jaren steeds maar weer enthousiast bleven vragen naar de vorderingen van mijn proefschrift. Mijn lieve RSG granny's, OBL vrienden, VU consortium met aanhang, Power Girls, Rotterdamse all together groep en alle kleine donderstenen, ik durf niemand bij naam te noemen, veel te bang dat ik iemand vergeet (en het zijn er gewoonweg teveel). Bedankt voor alle mooie tripjes, reizen, borrels, filmavonden, theetjes, dansjes, bootcamp en yoga lessen, slap geouwehoer, biernees, shop uitjes, sushi avonden en alle andere plezierigheden. De afgelopen tijd heb ik het ontzettend druk gehad en hebben we elkaar niet zo veel gezien, daarom hoop ik vanaf nu weer volop met jullie te genieten van alle leuke en mooie dingen die het leven te bieden heeft.

Ook wil ik een ieder bedanken die ik eventueel vergeten ben. Zoals velen voor mij al schreven; een proefschrift schrijven doe je niet alleen, wat ik zeker kan beamen. Tot slot:

'I'm glad that I did it, certainly because it was well worth it, but chiefly because I shall never have to do it again.'

(adapted from Mark Twain)