



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Exploration of renal space: navigating injury and repair through spatial omics

Rietjens, R.G.J.

Citation

Rietjens, R. G. J. (2026, January 9). *Exploration of renal space: navigating injury and repair through spatial omics*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4286233>

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/1887/4286233>

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

NEDERLANDSE SAMENVATTING

Schade en herstel van weefsels worden in sterke mate bepaald door cellulaire stofwisseling, ook wel metabolisme genoemd. Daarnaast zijn interacties tussen cellen onderling binnen de weefselmicro-omgeving van groot belang. De nier is een orgaan dat bekendstaat om zijn complexe weefselarchitectuur, hoge metabole behoeften, en beperkte capaciteit om zichzelf te herstellen na schade, ook wel regenereren genoemd. Doorbraken in moleculaire beeldvormingstechnieken hebben het mogelijk gemaakt om metabole processen en cellulaire interacties rechtstreeks in de weefselcontext van de nier in kaart te brengen. Het onderzoek beschreven in dit proefschrift richt zich op de ontwikkeling en toepassing van beeldvormende massaspectrometrie (Engels: mass spectrometry imaging, MSI) en een data-analysestrategie gericht op de metabole micro-omgeving, met als doel het verkrijgen van inzicht in de rol van het metabolisme in de moleculaire regulatie van nierbeschadiging en regeneratie.

In **hoofdstuk 2** wordt een overzicht gegeven van de huidige stand van zaken binnen het veld van beeldvormende analyse gericht op het metabolisme in de context van weefselschade en herstel. Het grootste voordeel van MSI ten opzichte van conventionele metabole analysemethoden, is dat essentiële informatie over ruimtelijke heterogeniteit van de weefselarchitectuur behouden blijft. MSI biedt de mogelijkheid om metabolieten direct en zonder aanvullende labels in het weefsel te detecteren. In dit overzichtsartikel worden drie hoofdzaken uitgelicht. Om te beginnen het concept van de metabole moleculaire histologie, waarbij metabolietprofielen dienen als een nieuwe laag van histologische informatie die bestaande en aanvullende toestanden van specifieke celpopulaties aan het licht kan brengen. Vervolgens wordt de dynamiek van het metabolisme besproken, alsmede het belang van het meten van de veranderingen van dit dynamische proces. Niet alleen de aanwezigheid van metabolieten, maar ook de snelheid van de reacties waarbij metabolieten worden geproduceerd levert cruciale informatie over de toestand van een cel. Ten slotte wordt de integratie verschillende moleculaire beeldvormingstechnieken besproken. De combinatie van analyse van het metabooloom, het geheel van gemeten metabolieten, met onder andere het transcriptoom (genexpressie) en het proteoom (eiwitsamenstelling) maakt het mogelijk om metabole netwerken verder te ontrafelen en nieuwe therapeutische aangrijppunten te identificeren.

Na dit conceptuele kader richt **hoofdstuk 3** zich op de toepassing van MSI om vroege veranderingen in de nier te detecteren in patiënten met diabetes. Diabetes mellitus is wereldwijd een van de belangrijkste risicofactoren voor chronische nierziekte en leidt bij bijna de helft van de patiënten tot diabetische nefropathie. De huidige klinische diagnostiek berust grotendeels op markers van glomerulaire functie, zoals albuminurie. Deze markers treden echter pas op wanneer er reeds structurele schade aan de nier aanwezig is. Om in te grijpen voordat onomkeerbare schade optreedt, is kennis nodig van de eerste metabole veranderingen op cellulair niveau. Aan de hand van een muismodel voor diabetes werd in

dit hoofdstuk in kaart gebracht hoe het metabole landschap van de nier verschilt van dat in gezonde dieren. Moleculaire profielen met metabolieten en lipiden (vetstoffen) (ook wel lipiden ik zou hier gewoon zeggen: lipiden (vetstoffen) want zo doe je het in de rest van je verhaal ook) werden geanalyseerd per nefronsegment, waarbij de lipiden werden gebruikt om de verschillende typen niercellen te identificeren. De grootste metabolietveranderingen traden op in het proximale tubulus S3-segment (PT-S3), wat gelegen is in het buitenste niermerg (medulla). Specifiek werden afwijkingen gevonden in de fosfatidylinositol-vetzuursamenstelling, met een verschuiving van lange onverzadigde, naar kortere en meer verzadigde vetzuurketens. Deze veranderingen wijzen op een mogelijk verminderde membraanstabieleiteit en een verhoogde kwetsbaarheid van dit segment. Daarmee wordt PT-S3 zichtbaar als een tot dusver onderbelichte sleutelspeler in de vroege veranderingen van de nier onder invloed van diabetes.

Hoofdstuk 4 beschrijft de verdere ontwikkeling van de MSI-methodologie. Het meten van veranderingen in de dynamiek van het metabolisme was tot voor kort niet mogelijk met MSI. De techniek beperkte zich tot het in kaart brengen van metabolietconcentraties, zonder inzicht te geven in de richting of snelheid van metabole processen. Om hier een oplossing voor te bieden, werd een aanpak ontwikkeld waarin met behulp van MSI metabole isotoopverrijking op weefselniveau wordt bepaald. In deze methode worden weefsels blootgesteld aan isotoopverrijkte nutriënten (bijv. ^{13}C -glucose), die in massa verschillen van hun natuurlijk voorkomende tegenhangers (bijv. ^{12}C -glucose), en daardoor met behulp van MSI te meten en te onderscheiden zijn. Door metabole omzetting van de isotoopverrijkte nutriënten in het weefsel worden ^{13}C -isotopen ingebouwd in endogene metabolieten, die daardoor zwaarder worden dan hun natuurlijke variant. Door de hoeveelheden van deze isotoopverrijkte metabolieten te vergelijken met die van hun natuurlijke vorm, kan worden bepaald hoe snel deze isotopen in verschillende delen van het weefsel worden geproduceerd. Op deze manier wordt de dynamische component van het metabolisme zichtbaar gemaakt. Dit hoofdstuk dient als protocol en beschrijft cruciale experimentele stappen, van het snijden van weefselplakken met een vibratoom tot keuze van MALDI-matrix, die bepalend zijn voor de kwaliteit van het resultaat. Hiermee wordt de basis gelegd voor de beeldvorming van het dynamisch metabolisme.

In **hoofdstuk 5** wordt deze nieuwe aanpak toegepast in de context van nierkanker, specifiek niercelcarcinoom (RCC). Het voornaamste doel van dit hoofdstuk is om de data-analyse horend bij de beeldvorming van het dynamisch metabolisme stap voor stap uit te werken. RCC-cellen staan bekend om het Warburg-effect, een metabole aanpassing waarbij cellen ondanks de aanwezigheid van voldoende zuurstof de voorkeur geven aan glycolyse boven oxidatieve fosforylering, resulterend in een relatief lage activiteit van de citroenzuur (TCA) cyclus en grote ophopingen van lactaat. Met behulp van de beeldvormende analyse van het dynamisch metabolisme werden tumorcellen vergeleken met gezonde cellen van de proximale tubulus, waaruit RCC doorgaans ontstaat, om te achterhalen of dit Warburg-effect aangetoond kon worden. De analyses lieten een

duidelijke afname zien in de isotoopverrijkte intermediairs van de TCA-cyclus, wat wijst op een verminderde mitochondriale activiteit. Opmerkelijk genoeg bleef de verwachte toename in isotoopverrijkt lactaat uit. Mogelijke verklaringen hiervoor zijn onder meer negatieve feedback door lactaataccumulatie, of alternatieve routes zoals histonlactylering, waarbij lactaat fungeert als epigenetische regulator. Ondanks deze complexiteit bevestigde de studie dat RCC-cellen hun energievoorziening veranderen en voorkeur geven aan de glycolyse, en dat de MSI-bepaling van isotoopverrijking krachtige mogelijkheden biedt om dergelijke metabole herprogrammering in situ te visualiseren. Het hoofdstuk biedt een handvat voor het begrijpen en reproduceren van de complexe data-analyse die nodig is voor het interpreteren van deze beeldvormende analyse van het dynamisch metabolisme.

Waar hoofdstuk 5 de metabole afwijkingen bij kanker belicht, richt **hoofdstuk 6** zich op het herstelproces na acute nierbeschadiging (AKI). Een belangrijke factor in de transitie van AKI naar chronische nierziekte is het incorrect herstellen van aangedane proximale tubulus cellen, resulterend in zogenoemde failed repair-cellen van de proximale tubulus (FR-PT). Tot nu toe lag de nadruk vooral op het karakteriseren van deze cellen. In dit hoofdstuk wordt echter juist de omliggende weefselomgeving, ofwel niche, onderzocht met verschillende moleculaire beeldvormingsbenaderingen. In deze studie werden tijdens de MSI-bepaling isotopenverrijkte interne standaarden aangebracht, waardoor signaalsterktes van verschillende metabolieten konden worden gecorrigeerd en de hoeveelheden metabolieten tussen verschillende weefselgebieden met elkaar konden worden vergeleken. Door het toepassen van deze strategie kwam naar voren dat ogenschijnlijk gezonde epitheelcellen een metabole ontregeling vertoonden wanneer ze zich in een niche bevonden met FR-PT en interstitiële cellen. Succinaat en linoleaat waren twee metabolieten die respectievelijk toe- of afnamen in epitheelcellen wanneer ze zich in een omgeving van beschadigd weefsel bevonden. Gegevens uit transcriptoomanalyse bevestigden deze verstoorde regulatie van zowel de oxidatieve fosforylering als het vetzuurmetabolisme. Deze data wijzen erop dat twee weken na AKI blijvend metabool ontregelde niches aanwezig zijn, wat herstel belemmert. Dit pleit voor een paradigmaverschuiving, waarbij niet alleen de FR-PT, maar juist ook hun omliggende niche moet worden gezien als therapeutisch aangrijpingspunt om progressie naar chronische nierschade te voorkomen.

Gezamenlijk tonen de hoofdstukken van dit proefschrift aan dat beeldvormende analyse van het metabolisme een krachtige methode is om de complexiteit van metabole processen in de nier in kaart te brengen, en in combinatie met andere moleculaire beeldvormingsmethoden te helpen de rol van metabolisme in nierschade en herstel beter te begrijpen. De resultaten laten zien dat metabolisme niet slechts een interne eigenschap van cellen is, maar een proces dat zich manifesteert binnen niches in het weefsel. Dit proefschrift draagt bij aan plaatsgebonden inzichten in de rol van het metabolisme in nierschade en regeneratie, en schetst perspectieven om deze kennis te benutten voor het verbeteren van regeneratie en voorkomen van chronisch nierfalen.