

University of Groningen

## Microvillus Inclusion Disease. Lessons about the apical plasma membrane.

Golachowska, Magdalena Renata

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2011

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Golachowska, M. R. (2011). *Microvillus Inclusion Disease. Lessons about the apical plasma membrane.*  
s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, 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), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# NEDERLANDSE SAMENVATTING

---

## Nederlandse samenvatting

---

De apikale plasmamembraan van darmepitheelcellen (ook wel bekend als de borstelzooam vanwege de grote hoeveelheid microvilli) voorziet in een beschermende en tevens selectieve barrière die de opname van voedingsstoffen uit de darm reguleert. Het onvermogen van darmepitheelcellen om een goed werkende apikale plasmamembraan te ontwikkelen, en de consequenties daarvan op het menselijk functioneren, wordt duidelijk in patiënten met microvillusinclusieziekte (afgekort als MVID; OMIM 251850). MVID is een zeldzame en erfelijke aandoening die zich bij pasgeboren kinderen klinisch presenteert door ernstige secretoire diarree en malabsorptie. Op cellulair nivo kenmerkt MVID zich door atrofie van de apikale plasmamembraan en de aanwezigheid van (een aanzienlijke hoeveelheid) lysosomale granules in het cytoplasma. Meest typerend voor MVID is dat de eiwit- en vetbestanddelen van het apikale plasmamembraan van de darmepitheelcellen zich niet op het celoppervlak bevinden maar in het cytoplasma als zogenaamde microvillus inclusies. In tegenstelling tot de apikale plasmamembraan lijkt de rest van het celoppervlak normaal ontwikkeld. Vanwege de specifieke verstoring van het apikale celoppervlak biedt MVID een unieke kans om genetische en moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de vorming van apikale plasmamembranen te bestuderen.

Het doel van de studies zoals beschreven in dit proefschrift is inzicht te verkrijgen in de genetische oorzaak en de pathogenese van MVID alsmede, via deze weg, meer algemeen inzicht te verkrijgen in de moleculaire mechanismen die de vorming en dynamiek van het apikale celoppervlak reguleren.

Een analyse van het genomisch DNA van negen MVID patiënten resulteerde in de identificatie van acht niet eerder beschreven mutaties in het *MYO5B* gen. Het *MYO5B* gen komt tot expressie in de epitheelcellen van bijna alle organen en codeert voor een zogenaamd motoreiwit dat endosomen in de cel over actinefilamenten verplaatst. Endosomen zijn organellen in de cel die de hoeveelheid van specifieke eiwitten en vetten op het celoppervlak reguleren. Myosine Vb controleert op deze wijze de subcellulaire distributie en de daarmee samenhangende functionaliteit van

deze endosomen. We hebben aangetoond dat *MYO5B* mutaties leiden tot een respectievelijk afwijkende expressie en afwijkende intracellulaire lokalisatie van het myosine Vb transcript en eiwit in de darmepiteelcellen van MVID patiënten. We hebben ook aangetoond dat de normaliter door myosine Vb-gecontroleerde subcellulaire distributie van endosomen ernstig is verstoord in de darmepiteelcellen van MVID patiënten. Dit duidt op een verstoorde functie van het myosine Vb eiwit. Deze resultaten suggereren dat myosine Vb-gereguleerde endosomen die mogelijk betrokken zijn bij het reguleren van de hoeveelheid specifieke eiwitten en vetten op het apikale celoppervlak een belangrijke rol spelen in de vorming van een functioneel apikaal epitheelceloppervlak, en tevens een belangrijke bijdrage leveren aan de pathogenese van MVID.

We rapporteerden twee MVID patiënten die naast de kenmerkende darmstoornis ook Fanconisyndroom in de nieren ontwikkelden. Fanconisyndroom wordt gekenmerkt door een verminderde absorptiecapaciteit van het apikale celoppervlak van de epitheelcellen in de proximale tubulus. We hebben daarom in nierbiopten onderzocht of de nierepitheelcellen van MVID patiënten afwijkingen van het apikale celoppervlak vertoonden, vergelijkbaar als die in de darm. Tevens werd onderzocht of de epitheelafwijkingen in de darm op specifieke plaatsen voorkwamen of in al het darmepitheel. De voor MVID kenmerkende afwijkingen werden gevonden in al het onderzochte darmepitheel maar, verrassend, niet in het nierepitheel. Geconcludeerd kon worden dat *MYO5B* mutaties een zeer verschillende uitwerking hebben op darm- en nierepitheel. Dit kan er op duiden dat de afwijkingen van het apikale celoppervlak in de darm van MVID patiënten mede ontstaan door darmspecifieke factoren. De identificatie van deze factoren, mogelijk omgevingsfactoren, kan een aanknopingspunt zijn voor de ontwikkeling van nieuwe therapeutische strategieën.

Eén omgevingsfactor die gedeeld lijkt te worden door darmepiteelcellen in MVID enerzijds en andere pathologische aandoeningen waar apikale inclusies bij gerapporteerd zijn anderzijds, is verzuring. We hebben daarom onderzocht of verzuring van de celomgeving kan bijdragen aan de vorming van apikale

## Nederlandse samenvatting

---

plasmamembraaninclusies. Door levende cellen onder de microscoop te volgen konden we aantonen dat verzuring leidt tot het dunner worden, uitstrekken en uiteindelijk internaliseren van delen van de apikale plasmamembraan, terwijl de rest van het celoppervlak onaangetast leek. Geïnternaliseerde delen van het apikale plasmamembraan fuseerden met elkaar in het cytoplasma wat resulteerde in de vorming van grote apikale plasmamembraaninclusies. Chemische stoffen die erom bekend staan een verstoring effect te hebben op de dynamiek van actinefilamenten toonden een vergelijkbaar effect. De internalisatie van apikale plasmamembraan als gevolg van verzuring bleek afhankelijk van de activiteit van Rho kinase en myosine II. Tezamen kan worden geconcludeerd dat verzuring van de celomgeving kan leiden tot de vorming van apikale plasmamembraaninclusies.

Tenslotte hebben we de effecten van verzuring op de structuur en het functioneren van het Golgi apparaat onderzocht. Het Golgi apparaat speelt een belangrijke rol in de ontwikkeling en het behoud van het apikale celoppervlak. We toonden aan dat verzuring leidt tot het uiteenvallen van het Golgi apparaat. Het door verzuring uiteenvallen van het Golgi apparaat had geen effect op het transport van apikale plasmamembraan-bestanddelen. Deze resultaten tonen aan dat de structuur en de functie van het Golgi apparaat losgekoppeld kunnen worden, en suggereren tevens dat het door verzuring uiteenvallen van het Golgi apparaat waarschijnlijk geen direct verband heeft met de eerder waargenomen vorming van apikale plasmamembraaninclusies.

Concluderend kunnen we stellen dat de genetische oorzaak van MVID opgehelderd is en dat we meer inzicht hebben gekregen in de pathogenese van MVID en, meer algemeen, in de moleculaire mechanismen die de vorming en dynamiek van het apikale plasmamembraan kunnen reguleren.