

# Forschungskolloquium 2019

der Medizinischen Fakultät

**Es laden ein:**

**Dekan**

Professor Dr. med. Ingo B. Autenrieth

**Prodekan**

Professor Dr. med. Diethelm Wallwiener

**Prodekan Forschung**

Professor Dr. med. Thomas Gasser

Professor Dr. med. Martin Röcken, Koordinator,  
Erweiterte Forschungskommission - Bereich Fortüne -

Professor Dr. med. Christian F. Poets, Koordinator,  
Erweiterte Forschungskommission - Bereich AKF –

Professor Dr. med. Peter Rosenberger, Koordinator,  
Junior Academy

**Dekanat der Medizinischen Fakultät**

**Geschäftsführung:**

Dr. rer. nat. Annette Klepper

**Bereich Forschung:**

Leitung: Dr. rer. nat. Sabine Garbrecht-Büttner

Dr. rer. nat. Otto Müller

André Kalmbach / Karin Schmid

Geissweg 5/1

72076 Tübingen

Tel.: 07071/29-7 52 05

Fax: 07071/29-57 84

## Vorwort

Liebe Kolleginnen und Kollegen,

die Medizinische Fakultät begrüßt Sie herzlich beim diesjährigen Forschungskolloquium 2019!

Das Forschungskolloquium wird zum 24. Mal in Folge veranstaltet und bietet allen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern der Fakultät, vor allem dem Nachwuchs, eine Plattform für den interdisziplinären Austausch und wechselnde wissenschaftliche oder wissenschaftspolitische Vorträge.

Turnusgemäß präsentieren alle Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die aktuell durch die internen Förderprogramme der Fakultät unterstützt werden, ihre Projekte mit Postern.

Herausragende Poster, das „Paper of the Year“ sowie außergewöhnliche Leistungen in der Promotion werden mit Preisen honoriert.

Die Universität Tübingen hat sich im Jahr 2018 sehr erfolgreich mit 3 geförderten Clustern im Rahmen der Exzellenzstrategie in Deutschland positionieren können.

Wir konnten die Sprecher der Cluster (oder ihre Vertreter) gewinnen, Ihnen die Clusteranträge vorzustellen.

Wir wünschen Ihnen einen interessanten Nachmittag und freuen uns auf ein erfolgreiches Forschungskolloquium 2019!

Der Fakultätsvorstand



**Forschungskolloquium 2019**  
**Donnerstag, den 25. Januar 2019**  
Im Hörsaal 210, Ebene B04, CRONA

- 13.00 Uhr**            **Begehung der Poster und Diskussion mit den  
Autoren**  
*(Imbiss)*
- 14.15 Uhr**            **Begrüßung und Eröffnung des Kolloquiums:  
Professor Dr. I.B. Autenrieth**
- 14.30 Uhr**            **Professor Dr. P. Berens**  
**Exzellenzcluster Machine Learning**
- 15.00 Uhr**            **Begehung der Poster und Diskussion mit den  
Autoren**  
*(Kaffee-Pause)*
- 16.00 Uhr**            **Professor Dr. A. Peschel**  
**Exzellenzcluster Controlling Microbes to Fight  
Infections (CMFI)**
- 16.30 Uhr**            **Professor H.-G. Rammensee**  
**Exzellenzcluster Image-Guided and Functionally  
Instructed Tumor Therapies (iFIT)**
- 17.00 Uhr**            **Carl-Liebermeister- Preise**  
**Paper of the Year**  
**Posterpreise**
- 17.30 Uhr**            **Ende**  
*(Imbiss)*

**Poster Diabetes / Vaskuläre Medizin / Kardiologie  
(1 - 3)**

- 1 Ruhe-Aktivitäts-Muster und kardio-metabolische Risikomarker bei Jugendlichen**  
Dr. Mirja Quante, Abteilung für Neonatologie, Kinderheilkunde IV  
Elizabeth M. Cespedes Felicianoc Sheryl L. Rifas-Shiman, Sara Mariani, Emily R. Kaplan,  
Michael Rueschman, Emily Oken, Elsie M. Taveras, Susan Redline,  
(2398-0-0)
  
- 2 Increased mitochondrial respiration of adipocytes from metabolically unhealthy obese compared to healthy obese individuals**  
A. Böhm<sup>1,2,3</sup>, A. Frankó<sup>1,2,4</sup>, H.-U. Häring<sup>1,2,3,5</sup>, M. Hrabě de Angelis<sup>2,4,6</sup> and H. Staiger<sup>2,3,4,5,7</sup>  
<sup>1</sup>Department of Internal Medicine IV, University Hospital Tübingen, Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany,  
<sup>2</sup>German Center for Diabetes Research (Deutsches Zentrum für Diabetesforschung, DZD), Neuherberg, Germany,  
<sup>3</sup>Institute for Diabetes Research and Metabolic Diseases of the Helmholtz Center Munich at the Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany,  
<sup>4</sup>Institute of Experimental Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany,  
<sup>5</sup>Interfaculty Centre for Pharmacogenomics and Pharma Research at the Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany  
<sup>6</sup>Chair of Experimental Genetics, Technical University München, Freising-Weihenstephan, Germany  
<sup>7</sup>Institute of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacy and Biochemistry, Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany  
(Clinician Scientist 369-0-0)
  
- 3 Bestimmung der „Tissue Transit Time“ (TTT) in der MAG3-Tc99 Diuresis-Nierenzintigraphie zur Risikostratifizierung von Säuglingen mit Ureterabgangsstenose**  
Tobias Luthle<sup>1</sup>, Florian Obermayr<sup>2</sup>, Helmut Dittmann<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Hoppe-Seyler-Str. 3, 72076 Tübingen  
<sup>2</sup>Abteilung für Kinderchirurgie, Universitätsklinikum Giessen Marburg, Standort Marburg, Baldingerstraße, 35043 Marburg  
<sup>3</sup>Klinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Otfried-Müller-Str. 14, 72076 Tübingen  
(AKF 377-0-0)

**Poster Infektiologie  
(4)**

- 4 Tocilizumab for the Treatment of Familial Mediterranean Fever – A randomized, doubleblind, phase II proof of concept study - TOFFIFE**  
Jörg Henes<sup>1</sup>, Hendrik Schulze-Koops<sup>2</sup>, Eugen Feist<sup>3</sup>  
<sup>1</sup>Zentrum für interdisziplinäre klinische Immunologie, Rheumatologie und Autoinflammatorische Erkrankungen INDIR und Medizinische Klinik II, Universitätsklinikum Tübingen  
<sup>2</sup>Rheumaeinheit; Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, München  
<sup>3</sup>Charité Campus Mitte; Abteilung für Rheumatologie und klinische Immunologie, Berlin  
(AKF 383-0-0)

**Poster Medizintechnik  
(5 - 6)**

- 5 Diagnostik bei Patienten mit idiopathischen Normaldruckhydrocephalus**  
Engel DC, Adib SD, Schweizer M, Nasi-Kordishti I, Schuhmann MS  
Neurochirurgie  
(2396-0-0)
- 6 Automatic radiotherapy treatment planning using Particle Swarm Optimization**  
L.A. Künzel<sup>1</sup>, S. Leibfarth<sup>1</sup>, O.S. Dohm<sup>2</sup>, A.C. Müller<sup>3</sup>, D. Zips<sup>3</sup>, D. Thorwarth<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology Section for Biomedical Physics  
<sup>2</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology Division of Medical Physics  
<sup>3</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology  
(2414-0-0)

**Poster Neurowissenschaften  
(7 - 16)**

- 7 Unravelling the brain networks driving spike-wave discharges in genetic generalized epilepsy—common patterns and individual differences**  
Silke Klamer<sup>1</sup>, Thomas Ethofer<sup>2,3,5</sup>, Franziska Torner<sup>1</sup>, Ashish Kaul Sahib<sup>1,2,5</sup>, Adham Elshahabi<sup>1,4,5</sup>, Justus Marquetand<sup>1</sup>, Pascal Martin<sup>1</sup>, Holger Lerche<sup>1,5</sup>, Michael Erb<sup>2</sup>, Niels K. Focke<sup>1,5</sup>  
<sup>1</sup> Department of Neurology and Epileptology, Hertie-Institute for Clinical Brain Research, University of Tübingen, Tübingen, Germany  
<sup>2</sup> Department of Biomedical Magnetic Resonance, University of Tübingen, Tübingen, Germany  
<sup>3</sup> Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Tübingen, Tübingen, Germany  
<sup>4</sup> MEG Center, University of Tübingen, Tübingen, Germany  
<sup>5</sup> Werner Reichardt Centre for Integrative Neuroscience, Tübingen, Germany  
(2343-0-0)
- 8 Yes, I can - Einfluss positiver Selbstinstruktion auf den Umgang mit (negativer) sozialer Evaluation.**  
H. Fandel<sup>1</sup>, M. L. Kogler<sup>2</sup>, M. Byrne<sup>1</sup>, J. Hornung<sup>1</sup>, J. Reichenberger<sup>3</sup>, J. Blechert<sup>3</sup>, M. Erb<sup>4</sup>, B. Derntl<sup>1</sup>, L. Kogler<sup>1</sup>  
1 Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, AG Innovative Hirnfunktionelle Verfahren, Universitätsklinikum Tübingen; 2 Institut für Psychosomatik und Verhaltenstherapie, Graz; 3 Center for Cognitive Neuroscience, Universität Salzburg; 4 Klinik für Radiologie, Biomedizinische Magnetresonanz, Universitätsklinikum Tübingen  
(2393-0-0)
- 9 Psychobiologie gastroenterologischer Erkrankungen**  
Dr. J. Schwille-Kiuntke, Abteilung für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie, UKT (TÜFF 2399-0-0)
- 10 Dopaminergic dysfunction in a rat model for DYT6 dystonia**  
Fubo Cheng<sup>1,2</sup>, Paola Bonisi<sup>3</sup>, Nicolas Casadei<sup>1</sup>, Libo Yu-Täger<sup>1</sup>, Olaf Riess<sup>1</sup>, Thomas Ott<sup>1</sup>, Kathrin Grundmann<sup>1</sup>, Huu Phuc Nguyen<sup>1\*</sup>  
1: Institute of Medical Genetics and applied genomics, University of Tuebingen, Germany  
2: Department of Neurology, the First Hospital of Jilin University, Changchun, PR. China  
3: IRCCS Fondazione Santa Lucia, Rome, Italy  
(2407-0-0)

- 11 Neural interfaces to induce and investigate functional motor neuroplasticity and sleep**  
 Dr. Ander Ramos-Murguialday  
 Institute of Medical Psychology and Behavioral Neurobiology  
 Silcherstrasse 5, 72076 Tübingen  
 (2452-0-0)
- 12 Going with your gut: Vagal nerve stimulation as a modulator of effort**  
 N.B. Kroemer, V. Teckentrup, C. Burrasch  
 Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Abteilung Allgemeine Psychiatrie und  
 Psychotherapie mit Poliklinik  
 (2453-0-0)
- 13 Evaluation of functional properties of microglia in mice infected with *Trypanosoma brucei***  
 Katherine Figarella, Nestor L. Uzcategui, Sena Güçer, Olga Garaschuk  
 Department of Neurophysiology, Institute of Physiology, University of Tuebingen  
 (2465-0-0)
- 14 Exploiting different brain signatures of movement to improve neuro-rehabilitation (SIMON)**  
 E. López-Larraz, C. Bibián, A. Sarasola-Sanz, N. Irastorza-Landa, A. M. Ray, A. Insausti-  
 Delgado, N. Birbaumer and A. Ramos-Murguialday  
 Institute of Medical Psychology and Behavioral Neurobiology  
 (2422-0-1)
- 15 HeMiLa – eine monozentrische offene Pilot-Studie zur prophylaktischen Behandlung der hemiplegischen Migräne mit Lamotrigin (EudraCT-Nr. 2016-003223-30)**  
 V. Schubert<sup>1</sup>, S. Wolking<sup>1</sup>, E. Auffenberg<sup>2</sup>, H. Lerche<sup>1</sup>, T. Freilinger<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt Epileptologie,  
 Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung (HIH), Hoppe-Seyler-Str. 3, 72076 Tübingen  
<sup>2</sup>Zentrum für Altersmedizin und Entwicklungsstörungen, kbo-Isar-Amper Klinikum,  
 Akademisches Lehrkrankenhaus der LMU München, Vockestr. 72, 85540, Haar  
<sup>3</sup>Klinik für Neurologie, Klinikum Passau, Innstraße 76, 94032 Passau  
 (AKF 339-0-0)
- 16 Das modulare Tübinger Physiotherapiekonzept für hereditäre spastischer Spinalparalyse (HSP) - eine randomisiert-kontrollierte Design- und Validierungsstudie**  
 Tim W. Rattay, Inga Liepelt, Holger Hengel, Marion Himmelbach, Susanne Koch, Ludger  
 Schöls, Rebecca Schüle  
 Zentrum für Neurologie, Abteilung für neurodegenerative Erkrankungen  
 (AKF 354-1-0)

**Poster Onkologie und Immunologie  
 (17 - 21)**

- 17 Impaired Dendritic Cell Differentiation in Multiple Myeloma**  
 Jennifer R. Richardson<sup>1</sup>, Manina Günter<sup>1</sup>, Katja Weisel<sup>1</sup>, Hans-Jörg Bühring<sup>1</sup>, Katharina  
 Landwehr<sup>2</sup>, Helmut R. Salih<sup>1,3</sup> and Stella E. Autenrieth<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Internal Medicine II, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany  
<sup>2</sup>Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Johann-Wolfgang-Goethe  
 Universität Frankfurt, Germany  
<sup>3</sup>Clinical Collaboration Unit Translational Immunology (DKTK and DKFZ), Tuebingen,  
 Germany  
 (2421-0-0)

- 18 Radiogenomics, Tumorheterogenität und zirkulierende zellfreie DNA bei Kopf-Hals Tumorpatienten**  
K. Zwirner<sup>1</sup>, F.J. Hilke<sup>2</sup>, S. Ossowski<sup>2</sup>, S. Welz<sup>1</sup>, C. Schroeder<sup>2</sup>, O. Rieß<sup>2</sup>, D. Zips<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Universitätsklinik für Radioonkologie, Medizinische Fakultät, Eberhard Karls Universität Tübingen  
<sup>2</sup> Institut für Medizinische Genetik und Angewandte Genomik, Medizinische Fakultät, Eberhard Karls Universität Tübingen  
(2447-0-0)
- 19 CRISPR/Cas9 mediated Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy for Metachromatic Leukodystrophy (MLD)**  
Justin S. Antony<sup>1,2</sup>, Merve Kaftancioglu<sup>1</sup>, Judith Böhringer<sup>1,3</sup>, Andres Lamsfus- Calle<sup>1</sup>, Alberto Daniel-Moreno<sup>1</sup>, Maksim Klimiankou<sup>2</sup>, Ingoberg Krageloh-Mann<sup>3</sup>, Julia Skokowa<sup>2</sup>, Rupert Handgretinger<sup>1</sup> and Markus Mezger<sup>1</sup>.  
<sup>1</sup> Department of Hematology and Oncology Abt-I, University Children's Hospital, University of Tübingen, Germany.  
<sup>2</sup> Department of Hematology, Oncology, Clinical Immunology, University of Tübingen, Germany.  
<sup>3</sup> Department of Pediatric Neurology, University Children's Hospital Tübingen, Tübingen, Germany.  
(2485-0-0)
- 20 Next-generation sequencing reveals significant differences in the genome of cutaneous, mucosal, acral and uveal melanoma**  
Andrea Forschner<sup>1</sup>, Franz Hilke<sup>2</sup>, Stephan Ossowski<sup>2</sup>, Olaf Riess<sup>2</sup>, Irina Bonzheim<sup>3</sup>, Tobias Sinnberg<sup>1</sup>, Heike Niessner<sup>1</sup>, Claus Garbe<sup>1</sup>, Christopher Schroeder<sup>2</sup>  
1. Center for Dermatooncology, Department of Dermatology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany; 2. Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany; 3. Institute of Pathology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany.  
(TÜFF 2521-0-0)
- 21 Radioonkologie 4.0 - Können Patienten-Apps und Biosensoren die Patientenversorgung verbessern?**  
C.Gani, F. Hauth, V. Bizu, R. App, H. Lautenbacher, M. Bitzer, N. Malek, D. Zips  
(AKF 363-0-0)

**Poster Weitere Themengebiete**  
**(22 - 24)**

- 22 Annexin A7: A novel regulator of embryo implantation and fertility**  
Alauddin M<sup>1</sup>, Lang F<sup>2</sup>, Wallwiener D<sup>1</sup>, Brucker SY<sup>1</sup> & Salker MS<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Department of Women's Health, Research Centre for Women's Health, University Women's Hospital, Eberhard-Karls University Tuebingen, Calwerstrasse 7/6, 72076 Tuebingen, Germany.  
<sup>2</sup>Department of Internal Medicine III, Eberhard-Karls University Tuebingen, Gmelinstrasse 5, D- 72076 Tuebingen, Germany  
(2426-0-0)
- 23 Ist bei Reifgeborenen im Kreißsaal die Maskenbeatmung mit einer neuen Saugmaske effektiver im Vergleich zu einer konventionellen Beatmungsmaske? Eine randomisierte kontrollierte Studie**  
Lorenz L<sup>1,2</sup>, Rügger CM<sup>1,3</sup>, O'Curraín E<sup>1,4</sup>, Dawson JA<sup>1,5</sup>, Thio M<sup>1,5</sup>, Owen LS<sup>1,5</sup>, Donath SM<sup>5</sup>, Davis PG<sup>1,5</sup>, Kamlin COF<sup>1,5</sup>  
1 Newborn Research Centre, The Royal Women's Hospital, Melbourne, Australien,  
2 Neonatologie, Uniklinikum Tübingen, Deutschland,  
3 Newborn Research, Neonatologie, Uniklinikum Zürich, Schweiz,  
4 University College Dublin, Irland,  
5 Murdoch Children's Research Institute, Melbourne, Australien  
(2459-0-0)
- 24 Dissecting the role of Lebercilin in cilia disassembly**  
Karsten Boldt, Md Moniruzzaman, Tobias Leonhard, Sylvia Bolz, Franziska Klose, Katrin Junger, Adem Cakar, Wadood Hag, Tina Beyer, Marius Ueffing  
Institute for Ophthalmic Research, University of Tübingen, Tübingen, Germany  
(2445-1-0)

**Poster IZKF Promotionskolleg  
(25 - 53)**

- 25 Establishment of defensin-derived peptides as novel antivirals to treat human cytomegalovirus infection.**  
Rebecca Böffert<sup>1</sup>, Ramona Businger<sup>1</sup>, Dirk Ehmann<sup>2</sup>, Hannes Preiss<sup>3</sup>, Patrick Müller<sup>3</sup>, Jan Wehkamp<sup>2</sup>, Michael Schindler<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Institute of Medical Virology and Epidemiology, University Hospital Tübingen, Germany  
<sup>2</sup> Department for Internal Medicine I, University Hospital Tübingen, Germany  
<sup>3</sup> Friedrich Miescher Laboratory of the Max Planck Society, Tübingen, Germany  
(2017-2-01)
- 26 Der „non functional P2X7-Rezeptor“ in kindlichen soliden Tumoren**  
A. Hein, J. Gesche, M. Stagno, J. Fuchs, S. Warmann, E. Schmid  
Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen  
(2017-2-05)
- 27 Antikancerogene Wirkung des Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase Inhibitors Istaroxime beim Rhabdomyosarkom und Rhabdoid Tumoren**  
H. Weil, M. Stagno, J. Fuchs, C. Stournaras, S. Warmann, E. Schmid  
Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen  
(2017-2-05)
- 28 Virotherapie neuroendokriner Tumoren**  
Linus D. Kloker, Susanne Berchtold, Ulrich M. Lauer  
AG Virotherapie, Abteilung Innere Medizin VIII, Medizinische Universitätsklinik, Universitätsklinikum Tübingen  
(2017-2-07)
- 29 Nicht visuelle Effekte einer spektral modulierten Raumbelichtung auf Bewohner und Personal in Pflegeheimen**  
cand. med. Luisa Hoemann, cand. med. Johanna Brunner, cand. med. Louisa Silberkuhl, Prof. Dr. Udo Weimar, Dr. Alexander Haensch, Dipl. Ing. Thomas Heine (Institut für Physikalische Chemie), Prof. Dr. Gerhard Eschweiler, Jun.-Prof. Dr. Vanessa Nieratschker, Dr. Mihovil Mladinov (Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie), Prof. Dr. Barbara Steiner, Gabriele Hönes, Thomas Stäbler, Susanne Aeckerle (BruderhausDiakonie), Dr. Tobias Peters, Dr. Nadine Kahle, Prof. Dr. Barbara Wilhelm (Department für Augenheilkunde) Arbeitsgruppe Pupillenforschung am Department für Augenheilkunde Tübingen und die NivIL-Forschungsgruppe  
(2017-2-08)
- 30 Mutationsanalyse als unterstützende Methode für die Unterscheidung des Subtyps des diffus großzelligen B-Zell Lymphoms anhand der Ursprungszelle**  
A. Mayer, J. Steinhilber, L. Quintanilla-Martinez, I. Bonzheim, F. Fend  
Institut für Pathologie und Neuropathologie, Abteilung Allgemeine und Molekulare Pathologie und Pathologische Anatomie  
(2017-2-10)

- 31 Genetic evolution of clonally related in situ follicular neoplasia to diffuse large B-cell lymphoma of germinal center subtype**  
 Antonio Vogelsberg<sup>1</sup>, Julia Steinhilber<sup>1</sup>, Irina Bonzheim<sup>1</sup>, Janine Schmidt<sup>1</sup>, Barbara Mankel<sup>1</sup>, Birgit Federmann<sup>1</sup>, Maria Rodriguez-Pinilla<sup>2</sup>, Miguel A. Piris<sup>2</sup>, German Ott<sup>3</sup>, Leticia Quintanilla-Martinez<sup>1</sup>, Falko Fend<sup>1</sup>  
 1Institute of Pathology and Neuropathology, University Hospital and Comprehensive Cancer Center Tuebingen, Tuebingen, Germany  
 2Department of Pathology, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain  
 3Department of Clinical Pathology, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart, Germany.  
 (2017-2-12)
- 32 Characterization of the role of LIN9 in acute leukemia**  
 Sara Dreher, Lara Haeusser, Lothar Kanz, Marcus Schittenhelm, Kerstin Kampa-Schittenhelm  
 Abteilung für Innere Medizin II  
 (2017-2-13)
- 33 The impact of antibiotic pressure on the phenotypic evolution of clinical antibiotic resistant - Pseudomonas aeruginosa in a Morbidostat device**  
 B. Jentzsch, M. Javed, M. Willmann  
 Institute of Medical Microbiology and Hygiene, Tübingen, Germany  
 German Center for Infection Research (DZIF), partner site Tübingen, Tübingen, Germany  
 (2017-2-15)
- 34 Invariant natural killer T cells from donor lymphocyte infusions (DLI-iNKTs) contribute to anti-tumor immunity after allogeneic hematopoietic cell transplantation**  
Simona Jahnke<sup>1</sup>, Hannes Schmid<sup>1</sup>, Kathy-Ann Secker<sup>1</sup>, Silke Dürr-Störzer<sup>1</sup>, Hildegard Keppeler<sup>1</sup>, Rebecca Baur<sup>2</sup>, Michael Schumm<sup>3</sup>, Wolfgang Bethge<sup>1</sup>, Corina Schneidawind<sup>1</sup>, Dominik Schneidawind<sup>1</sup>  
 1) Department of Hematology and Oncology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany  
 2) Department of Hematology and Oncology, University of Erlangen-Nuremberg, Erlangen, Germany  
 3) Department of Hematology and Oncology, Children's University Hospital, Tuebingen, Germany  
 (2017-2-17)
- 35 Characterization of tumour radiation sensitivity in Glioblastoma multiforme tumourids and corresponding Glioblastoma stem cell culture**  
 Riedel A.<sup>1</sup>, Klumpp L.<sup>1</sup>, De-Colle C.<sup>1</sup>, Schittenhelm J<sup>2</sup>, Huber S.<sup>1</sup>, Zips D.<sup>1</sup>  
 1 Universitätsklinik für Radioonkologie Tübingen  
 2 Institut für Pathologie und Neuropathologie  
 (2017-2-18)
- 36 Die Rolle von Prostin bei der Regulation des epithelialen Natriumkanals (ENaC) unter physiologischen Bedingungen und beim nephrotischen Syndrom der Maus**  
 D. Essigke; B. N. Bohnert; M. Xiao; A. Janessa; R. Szabo<sup>1</sup>; T. H. Bugge<sup>1</sup>; F. Artunc  
 Sektion Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Tübingen, DEUTSCHLAND;  
<sup>1</sup> Proteases and Tissue Remodeling Section, Oral and Pharyngeal Cancer Branch, NIH NIDCR, Bethesda, MD, USA;  
 (2017-2-22)
- 37 Evaluation of Novel Tumor Senescence-specific PET Tracers**  
 Nils Trautwein  
 (2017-2-24)

- 38 Bedeutung verschiedener Ursprungszellen und Fusionspartner für die Entstehung von MLL-translozierten Leukämien**  
Lukas Bruns<sup>1</sup>, Kathy-Ann Secker<sup>1</sup>, Hildegard Keppeler<sup>1</sup>, Barbara Mankel<sup>2</sup>, Dominik Schneidawind<sup>1</sup>, Corina Schneidawind<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Innere Medizin II, Universitätsklinik Tübingen, Eberhard-Karls Universität Tübingen  
<sup>2</sup>Institut für Pathologie und Neuropathologie, Universitätsklinik Tübingen, Eberhard-Karls Universität Tübingen  
(2018-1-08)
- 39 Etablierung einer neuen Methode zur nadellosen Injektion von Myoblasten in den Harnröhren-Verschlussapparat am Großtiermodell der Blaseninkontinenz**  
Vera Rothfuß  
Zentrum für Medizinische Forschung, Universitätsklinik für Urologie  
(2018-1-04)
- 40 B-Zell-vermittelte Immunregulation – Mechanismen zur Toleranzentwicklung durch den Pathobionten E. coli**  
C. Trostel, J. Maerz, A. Schäfer und J. Frick  
Abteilung Mukosale Immunität und Mikrobiom, AG Frick, Interfakultäres Institut für Mikrobiologie und Hygiene Tübingen  
(2018-1-05)
- 41 Evaluierung der kontaktlosen Raman-Mikrospektroskopie für das Monitoring und die Bestimmung der funktionellen Gewebepenetrationstiefe der Behandlung mit physikalischem Niedertemperaturplasma basierend auf primärem und patientenspezifischem Gewebematerial**  
T. Wenzel, D. Carvajal Berrio, K. Schenke-Layland, M. Weiss  
Department für Frauengesundheit, AG Schenke-Layland, Tübingen  
(2018-1-06)
- 42 Molekulare und funktionelle Charakterisierung humaner alloreaktiver memory T-Zellen in Stammzelltransplantaten**  
Patrick Kastelein er, Hisayoshi Hashimoto und Karin Schilbach  
Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, Abteilung für Hämatologie und Onkologie  
(2018-1-08)
- 43 Stopping Tumor Cell Proliferation at a Novel Target Point: RPA (Replication Protein A)**  
Maximilian Härtel  
AG Zender, Innere Medizin VIII & Physiologie I, Universitätsklinikum Tübingen  
(2018-1-10)
- 44 Characterization of the humoral immune response following vaccination with irradiated Plasmodium falciparum sporozoites in malaria naive volunteers**  
F.-R. Lorenz, MAVACHE study team, P.G. Kremsner, R. Fendel, B. Mordmüller  
Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen  
(2018-1-11)
- 45 CAFF- Commonly Available Fitting Facemask  
Does the commonly available facemask appropriately fit late preterm and term infants?**  
Dr Bianca Haase, Dr Laila Lorenz, Prof. Christian Poets, Ana-Maria Badinska  
Neonatologie, Universitätsklinikum Tübingen  
(2018-1-13)

- 46 Osteogene Differenzierung von Ad-MSC auf vier modifizierten Scaffolds auf Cryogelbasis im Vergleich zur 2D Kultur**  
S. Deninger<sup>1</sup>, V. Häussling<sup>1</sup>, M. Ruoß<sup>1</sup>, Andreas K. Nüssler<sup>1</sup>, S. Ehnert<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Siegfried-Weller Institut für unfallmedizinische Forschung der BG Klinik Tübingen  
(2018-1-14)
- 47 Analyse von potentiellen Biomarker in der SCA3**  
Patrik Pelz, Dr. Jeannette Hübener-Schmid, Prof. Dr. Olaf Riess  
Institut für medizinische Genetik und angewandte Genomik, Tübingen  
(2018-1-15)
- 48 Von der Mutter zum Kind – die Rolle von myeloiden Suppressorzellen aus der Muttermilch für die Immunantwort Neugeborener**  
L. Flaig, S. Dietz, J. Schwarz, C. Schoetensack, B. Spring, Ch. Gille, Ch. Poets, N. Köstlin  
Abt. f. Neonatologie, Kinderklinik IV, Universitätsklinikum Tübingen  
(2018-1-17)
- 49 Untersuchung der endothelialen Dysfunktion bei ECLS/ECMO-Patienten**  
F. Traub, A. Neumann, H. P. Wendel  
Universitätsklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie  
(2018-1-28)
- 50 Bestimmung der individuellen Fraktionierungsempfindlichkeit von Prostatakarzinomen**  
C. Dieter<sup>1</sup>, F. Hauth<sup>1</sup>, C. De Colle<sup>1</sup>, D. Zips<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universitätsklinik für Radioonkologie, Tübingen  
(2018-1-29)
- 51 Onkolytische Virotherapie des Hepatozellulären Karzinoms**  
Daniel Fischer  
Universitätsklinikum Tübingen, Abt. Innere Medizin VIII – Klinische Tumorbologie  
(2018-1-30)
- 52 Targeting the glioma associated microenvironment in experimental glioma**  
Hannes Becker<sup>1\*</sup>, Justyna Przystal<sup>1, 2\*</sup>, Denis Canjuga<sup>1</sup>, Jens Schittenhelm<sup>3</sup>, Ghazaleh Tabatabai<sup>1, 2</sup>  
1 Interdisciplinary Division of Neurooncology, Departments of Vascular Neurology & Neurosurgery, Hertie Institute for Clinical Brain Research, University Hospital of Tuebingen, Eberhard Karls University of Tuebingen, Tuebingen, Germany  
2 German Consortium for Translational Cancer Research (DKTK), DKFZ partner site Tuebingen, Tuebingen, Germany.  
3 Department of Neuropathology, Institute of Pathology and Neuropathology, University Hospital of Tuebingen, Eberhard Karls University of Tuebingen, Tuebingen, Germany.  
(2018-1-30)
- 53 Focal degeneration in association with gesture imitation deficits in genetically confirmed FTD**  
Dominik Wabersich<sup>1, 2</sup>, Marc Himmelbach<sup>1</sup> und Matthis Synofzik<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Sektion Neuropsychologie und  
<sup>2</sup>Abteilung für Neurodegenerative Erkrankungen, Hertie-Institut für klinische Hirnforschung  
(2018-1-31)

**Zusammenfassungen  
der Poster**

Poster im Themenbereich

**Diabetes / Vaskuläre Medizin / Kardiologie**

1 - 3

## **Ruhe-Aktivitäts-Muster und kardio-metabolische Risikomarker bei Jugendlichen**

**Dr. Mirja Quante, Abteilung für Neonatologie, Kinderheilkunde IV**

**Elizabeth M. Cespedes Feliciano, Sheryl L. Rifas-Shiman, Sara Mariani, Emily R.**

**Kaplan, Michael Rueschman, Emily Oken, Elsie M. Taveras, Susan Redline**

Verschiedene Aspekte der Energiebilanz zeigen eine ausgeprägte zirkadiane Rhythmik. Eine Störung dieser Rhythmik ist mit chronischen Erkrankungen wie z.B. einer Adipositas oder Bluthochdruck assoziiert. Das Ruhe-Aktivitäts-Muster lässt sich mittels Aktigraphie im Feld messen und dient als Indikator für den zirkadianen Rhythmus. Ziel dieser Studie war es, mögliche Assoziationen des Ruhe-Aktivitäts-Musters mit kardiometabolischen Risikomarkern zu beschreiben. Insgesamt haben 778 Jugendliche der Bostoner Geburtskohorte Projekt Viva ein Aktigraphie-Gerät für 7 Tage und Nächte am Handgelenk getragen. Das Ruhe-Aktivitäts-Muster wurde anschließend mittels „Non-parametric Circadian Rhythm Analysis“ berechnet. Die relative Amplitude (RA) entspricht hierbei der normalisierten Differenz der 10 Stunden mit der höchsten Aktivität und der 5 Stunden mit der niedrigsten Aktivität. Ein höherer RA-Wert findet sich typischerweise bei mehr Aktivität am Tage und/oder einer besseren Schlafqualität. Die abhängigen Variablen waren der Body-Mass-Index-z-Score, der Hüftumfang, die Hautfaltendicke und die prozentuale Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)-Fettmasse, sowie ein Risikoscore für kardiometabolische Erkrankungen. Die Jugendlichen waren im Mittel 13,2 ( $\pm 0,9$ ) Jahre alt und überwiegend weißer Ethnizität. Kovariaten waren das Alter, die ethnische Herkunft, sozioökonomische Faktoren, der Pubertätsstatus, die Jahreszeit zur Datenerhebung, das Sportverhalten, die durchschnittliche Schlafdauer und der tägliche Fernsehkonsum. Für die Analysen wurden lineare gemischte Modelle verwendet. Eine höhere RA war mit einem günstigeren kardiometabolischen Profil assoziiert (z.B. ein um  $0.35 \text{ kg/m}^2$  niedrigerer BMI pro 0.04 Einheiten höherer RA; 95% CI: -0.60, -0.09). Zusammenfassend könnte die mittels Aktigraphie gemessene RA als Biomarker für zukünftige zirkadiane Interventionsstudien zur Adipositas-Prävention auf Populationsebene etabliert werden.

## Increased mitochondrial respiration of adipocytes from metabolically unhealthy obese compared to healthy obese individuals

A. Böhm<sup>1,2,3</sup>, A. Frankó<sup>1,2,4</sup>, H.-U. Häring<sup>1,2,3,5</sup>, M. Hrabě de Angelis<sup>2,4,6</sup> and H. Staiger<sup>2,3,4,5,7</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine IV, University Hospital Tübingen, Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany,

<sup>2</sup>German Center for Diabetes Research (Deutsches Zentrum für Diabetesforschung, DZD), Neuherberg, Germany,

<sup>3</sup>Institute for Diabetes Research and Metabolic Diseases of the Helmholtz Center Munich at the Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany,

<sup>4</sup>Institute of Experimental Genetics, Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Neuherberg, Germany,

<sup>5</sup>Interfaculty Centre for Pharmacogenomics and Pharma Research at the Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>6</sup>Chair of Experimental Genetics, Technical University München, Freising-Weihenstephan, Germany

<sup>7</sup>Institute of Pharmaceutical Sciences, Department of Pharmacy and Biochemistry, Eberhard Karls University Tübingen, Tübingen, Germany

### Aims

Among obese subjects, metabolically healthy (MHO) and unhealthy obese (MUHO) subjects exist, the latter being characterized by whole-body insulin resistance, hepatic steatosis, and subclinical inflammation. Insulin resistance and obesity are known to associate with alterations in mitochondrial density, morphology, and function. Therefore we assessed mitochondrial function in human subcutaneous preadipocytes as well as in differentiated adipocytes derived from well-matched donors.

### Methods

Primary subcutaneous preadipocytes from 4 insulin-resistant (MUHO) vs. 4 insulin-sensitive (MHO), non-diabetic, morbidly obese Caucasians (BMI >40kg/m<sup>2</sup>), matched for sex, age, BMI, and percentage of body fat, were differentiated in vitro to adipocytes. Real-time cellular respiration was measured using an XF24 Extracellular Flux Analyzer. Lipolysis was stimulated by forskolin (FSK) treatment.

### Results

Mitochondrial respiration was 4-fold higher in adipocytes vs. preadipocytes. No difference in respiration was found between MUHO and MHO preadipocytes. In adipocytes, a negative correlation of mitochondrial respiration with donors' insulin sensitivity was shown. Correspondingly, in adipocytes of MUHO subjects, an increased basal respiration, higher proton leak, elevated ATP production, increased maximal respiration, and higher spare respiratory capacity were found, compared to MHO. After stimulation with FSK, the differences in ATP production, maximal respiration and spare respiratory capacity were blunted. The differences between MUHO/MHO were not due to altered mitochondrial content, fuel switch, or lipid metabolism.

### Conclusion

Despite the insulin resistance of MUHO, we could clearly show an elevated mitochondrial respiration of MUHO adipocytes. We suggest that the higher mitochondrial respiration reflects a compensatory mechanism to cope with insulin resistance and its consequences. Preserving this state of compensation might be an attractive goal for preventing or delaying the transition from insulin resistance to overt diabetes.

**3****Bestimmung der „Tissue Transit Time“ (TTT) in der MAG3-Tc99 Diurese-Nierenszintigraphie zur Risikostratifizierung von Säuglingen mit Ureterabgangsstenose**Tobias Luithle<sup>1</sup>, Florian Obermayr<sup>2</sup>, Helmut Dittmann<sup>3</sup><sup>1</sup>Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Hoppe-Seyler-Str. 3, 72076 Tübingen<sup>2</sup>Abteilung für Kinderchirurgie, Universitätsklinikum Giessen Marburg, Standort Marburg, Baldingerstraße, 35043 Marburg<sup>3</sup>Klinik für Nuklearmedizin, Universitätsklinikum Tübingen, Otfried-Müller-Str. 14, 72076 Tübingen

Die in aktuellen Leitlinien festgelegten Kriterien, die zu einer frühzeitigen Operation von Neugeborenen und Säuglingen mit angeborener Ureterabgangsstenose führen und welche mittels Ultraschall und Nierenfunktionsszintigraphie erhoben werden, werden heute in der Literatur zunehmend kritisch diskutiert.

Das Ziel der prospektiven, multizentrischen Beobachtungsstudie ist es, die prognostische Wertigkeit der TTT in der MAG3-Tc99 Diurese-Nierenszintigraphie in Hinblick auf die Entwicklung der Nierenfunktion zu evaluieren. Hieraus soll eine Verbesserung der Risiko-Stratifizierung dieser Patientengruppe erreicht werden. Anhand der gewonnenen Informationen sollen Patienten identifiziert werden, die von einer frühen chirurgischen Intervention profitieren, bzw. die ohne Risiko für die Nierenfunktion konservativ nachgesorgt werden können.

Bei allen Neugeborenen und Säuglingen, bei denen eine Hydronephrose  $\geq$  Grad III (SFU) vorliegt und keine weiteren urologischen Vorerkrankungen oder eine Frühgeburtlichkeit vorliegen, wird im Alter von 4 - 12 Wochen eine <sup>99m</sup>Tc-MAG3 Diurese-Szintigraphie durchgeführt. Diese wird nach 3 - 6 Monaten wiederholt. Dieses Vorgehen weicht nicht vom üblichen diagnostischen oder therapeutischen Vorgehen bei dieser Patientengruppe oder von den Leitlinien für die Diagnostik und Therapie für die angeborene Ureterabgangsstenose ab.

Das primäre Ziel der Studie ist es zu zeigen, inwieweit sich eine Verzögerung der TTT eignet die Entwicklung der Nierenfunktion bei Patienten mit kongenitaler Ureterabgangsstenose vorauszusagen und damit zur Risikostratifizierung dieser Patientengruppe herangezogen werden kann. Sekundär soll prospektiv beurteilt werden inwieweit die anderen erhobenen Parameter mit einer verzögerten TTT korrelieren, bzw. die Sensitivität und Spezifität der unterschiedlichen Parameter bezüglich der Nierenfunktionsverschlechterung im Verlauf verglichen werden können.

Für die Teilnahme und Mitarbeit an der Studie konnten die kinderchirurgischen / kinderurologischen Zentren in Augsburg, Bremen, Dortmund, Karlsruhe, Luzern, Mannheim, Marburg und Nürnberg gewonnen werden.

Als Studiendauer für die Patientenakquise sind 2 Jahre angesetzt (entsprechend ca. 3 Jahre Beobachtungszeitraum). Pro teilnehmendes Zentrum war in der Fallzahlschätzung von 8 - 9 Patienten pro Jahr ausgegangen worden, um die nach Studienprotokoll notwendige Patientenzahl von 154 zu erreichen.

Poster im Themenbereich

## **Infektiologie**

4

## **Tocilizumab for the Treatment of Familial Mediterranean Fever – A randomized, doubleblind, phase II proof of concept study - TOFFIFE**

Jörg Henes<sup>1</sup>, Hendrik Schulze-Koops<sup>2</sup>, Eugen Feist<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zentrum für interdisziplinäre klinische Immunologie, Rheumatologie und Autoinflammatorische Erkrankungen INDIR und Medizinische Klinik II, Universitätsklinikum Tübingen

<sup>2</sup>Rheumaeinheit; Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, München

<sup>3</sup>Charité Campus Mitte; Abteilung für Rheumatologie und klinische Immunologie, Berlin

Das Familiäre Mittelmeerfieber (FMF) gehört zu den monogenetischen Autoinflammatorischen Erkrankungen und ist gekennzeichnet durch wiederkehrende Fieberschübe zusammen mit Serositiden mit Bauch- oder Thoraxschmerzen, Hauterscheinungen und Gelenksbeschwerden. Laborchemisch fallen die Patienten mit hohen Entzündungszeichen im Schub auf. Zwischen den Schüben sind die meisten Patienten beschwerdefrei. Unbehandelt kann die Erkrankung zu schweren Organschädigungen durch Amyloidose führen. Einzige Therapie mit nachgewiesenem Effekt auf die Amyloidoseverhinderung ist Colchizin, welches lebenslang eingenommen werden muss. Neu seit diesem Jahr zugelassen zur Behandlung, jedoch bisher ohne Langzeiterfahrungen, ist der Interleukin (IL)-1 Antikörper Canakinumab. Etwa 10-20% der Patienten vertragen Colchizin nicht oder sprechen nicht ausreichend auf die Therapie an.

Tocilizumab ist ein humanisierte IL-6 Rezeptor Antikörper, welcher bereits zur Behandlung der Rheumatoiden Arthritis, der systemischen juvenilen Arthritis und der Riesenzellarthritis zugelassen ist.

Methodik: Es handelt sich um eine Plazebokontrollierte, multizentrische, doppelblinde Phase II Studie welche an 5 deutschen Zentren (Tübingen, Berlin, Hamburg, Köln und München) durchgeführt wird. Die Patienten müssen unter einem FMF mit Nachweis einer typischen Mutationen des Marenostrom Genes leiden und eine aktive Erkrankung mit mindestens einem Schub in den letzten 12 Wochen und erhöhte Werte für CRP oder BSG oder Serum Amyloid A (SAA) aufweisen, um eingeschlossen werden zu können. Andere Biologika Therapien dürfen nicht parallel durchgeführt werden. Colchizin darf fortgesetzt werden, ebenso Nicht steroidale Antirheumatika (NSAR) bei Bedarf. Die Patienten erhalten monatlich eine Infusion mit Tocilizumab mit 8mg/kg Körpergewicht oder Plazebo. Zu Woche 16, vor der 4. Gabe, erfolgt eine klinisch-laborchemische Zwischenbewertung der Effektivität. Bei unzureichendem Ansprechen und anhaltend erhöhten Entzündungszeichen kann eine Rescuetherapie mit open-label TCZ erfolgen. Studienende ist nach Woche 24. Die Effektivitätsbeurteilung erfolgt anhand des Physician global Assessment Scores (PGA); hierbei wird mit Hilfe eines Patiententagebuchs das Ansprechen durch den Arzt beurteilt.

Primärer Endpunkt ist die Anzahl der Patienten mit einem adäquaten Ansprechen auf die Therapie zu Woche 16. Sekundäre Ziele sind eine Reduktion der NSAR Einnahme, Aspekte der Sicherheit und Verbesserung der Lebensqualität und der Fatigue.

Geplant sind 30 Patienten welche 1:1 randomisiert werden. First Patient in war am 01.06.2028. Aktueller Stand: 3 Patienten sind randomisiert, alle in Tübingen. Die Patientenrekrutierung gestaltet sich erstaunlich schwierig. Die Patienten sind extrem Studienskeptisch trotz fehlender guter Alternativtherapieoptionen.

Poster im Themenbereich

## **Medizintechnik**

**5 + 6**

## **Diagnostik bei Patienten mit idiopathischen Normaldruckhydrocephalus**

Engel DC, Adib SD, Schweizer M, Nasi-Kordishti I, Schuhmann MS  
Neurochirurgie

### Einleitung:

Die Diagnostik bei Verdacht auf idiopathischen Normaldruckhydrocephalus (iNPH), auch Altershydrocephalus genannt, hat sich seit Dezennien nicht geändert. Der Goldstandard ist weiterhin das Ablassen von Hirnwasser und die Observation ob hinterher eine Verbesserung des Gehens auftritt. Wie viel % eine Verbesserung genannt werden kann, oder das sogar eine subjektive Verbesserung ausreicht steht in keine Richtlinie. Aus diesem Grund haben wir sowohl prospektiv als retrospektiv mögliche iNPH-Patienten-Daten verglichen.

### Methoden:

Alle iNPH Patienten die von 2010 bis 2016 in der neurochirurgischen Klinik behandelt wurden, wurden retrospektiv eingeschlossen. Zusätzlich wurde in dieses Kohort eine Befragung post-hoc durchgeführt. Die Patienten die von Dez 2017 – September 2018 diagnostisch getestet wurden, wurden prospektiv inkludiert. Auch wurde eine neue Testung zur indirekten Messung des Blutflusses in sitzende Position „functional near-infrared spectroscopy“ (fNIRS) durchgeführt.

### Ergebnisse:

Insgesamt wurden 161 retrospektive Patienten und 14 prospektive Patienten inkludiert. Vorläufige Ergebnisse der Befragung von 51 Patienten würden sich 70% wieder für eine Operation entschieden, 18% waren eine erneute Operation indifferent gegenüber. Aus ärztlicher Sicht zeigten 4,35% der Patienten nach VP-Shuntanlage keine Verbesserung innerhalb 2-3 Jahre. Sowohl mit objektive Verbesserung (15%) als auch bei subjektiven Verbesserung zeigten +/- 10% die Patienten innerhalb 3-6 Monate postoperativ keine Verbesserung. Nach 2-3 Jahren steigerte dieser Zahl bei subjektiver Verbesserung in die präoperative Testung auf einer Anzahl auf 18% und blieb bei objektiver Verbesserung mit 10% gleich. Bei einem Cut-off von 20%-Verbesserung der Gangtestung zeigte 1/20 Patient keine Verbesserung.

Die prospektive Kohorte (n=14) zeigten sowohl in der Testphase als auch nach Shuntanlage (n=4) keine Verbesserung der Trail Making Test A und Minimental State Examination. Die Patienten mit einer Verbesserung des Gehens zeigten eine relativ niedrige Elastizität des Liquorsystems. Die Lebensqualität nach EQ-5D war im Durchschnitt bei den diagnostischen Patienten etwa 62% (Spannbreite 30-85%). Die Höhe der Lebensqualität korrelierte nicht mit dem klinischen Zustand.

Die Daten des fNIRS konnten bei niedriger Patientenzahl nicht sinnvoll ausgewertet werden.

### Schlussfolgerung:

Ein Cut-off von 15-20% Verbesserung in der Gangtestung scheint weiterhin der beste Vorhersage-Parameter zu sein für eine Verbesserung nach Operation.

## Automatic radiotherapy treatment planning using Particle Swarm Optimization

L.A. Künzel<sup>1</sup>, S. Leibfarth<sup>1</sup>, O.S. Dohm<sup>2</sup>, A.C. Müller<sup>3</sup>, D. Zips<sup>3</sup>, D. Thorwarth<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology Section for Biomedical Physics

<sup>2</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology Division of Medical Physics

<sup>3</sup> University Hospital Tübingen, Radiation Oncology

**Purpose:** To investigate the potential of Particle Swarm Optimization (PSO) for automatic planning of cancer treatment with radiotherapy (RT). The aim of this PSO is to formulate an optimal patient individual treatment planning problem, i.e. to define optimal planning constraints leading to the best achievable plan.

**Material & Methods:** PSO is a statistical, collective and iterative optimization technique which uses the knowledge of each particle about its own best and the swarm's best position to update particle positions for each generation. For automatic RT planning, a particle is considered a plan with its position determined as a vector of planning constraints. To evaluate plan quality, i.e. determine the particle's best positions a scoring function was introduced, based on the sum of individual plan quality scores for dose-volume-histogram (DVH) parameters for planning target volume (PTV) and priority organs at risk (OAR). The plan quality score is defined in a way to increase if the DVH parameter fulfills planning goals and penalizes if the goals are violated.

Automatic treatment planning using PSO was tested for 6 postoperative prostate cases, with a prescribed dose of 66 Gy to the PTV in addition to two rectum and one bladder constraint. N=30 particles were initialized and the PSO was executed for m=100 generations. PSO and manually generated plans were compared dosimetrically with respect to the planning goals, visual inspection of dose distributions and DVHs.

**Results:** PSO successfully proposed treatment plans comparable to manually optimized ones in all 6 cases. The mean (range) PTV dose was 65.5 Gy (65.1-65.9) for manual and 65.2 Gy (64.8-65.6, p=0.03) for PSO plans, respectively. On the other hand, PSO plans achieve lower rectum maximum doses, 67.0 Gy (66.6-67.5) vs. 66.1 Gy (65.8-66.5, p=0.03). Fig 1 provides an overview of all evaluated planning goals. On average, PSO proposed plans with better OAR sparing but inferior PTV doses. However, this compromise between PTV and OAR doses is directly related to the definition of the scoring function. According to the scoring function used in this study, manual plans had lower plan quality scores compared to PSO plans with -0.57 (-2.41-0.96) vs. 1.67 (-0.07-6.78).

**Conclusion:** PSO allows for automatic generation of VMAT plans with comparable plan quality

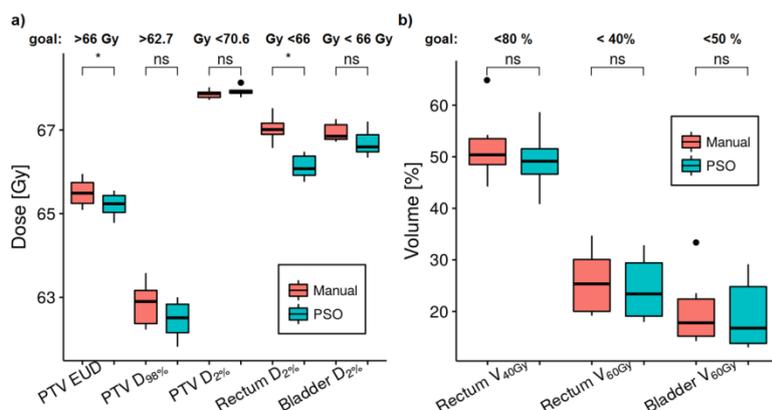


Fig 1: Boxplots and planning goals for all parameters evaluated by the plan quality score (Wilcoxon signed rank test, ns not significant, \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p ≤ 0.001, EUD equivalent uniform dose, D<sub>98%</sub> minimum dose, D<sub>2%</sub> maximum dose, V<sub>40Gy</sub> volume receiving at least 40 Gy).

compared to manually optimized plans. However, further research is needed concerning optimization parameters and the optimal number of particles and generations to fully explore the potential of PSO for automatic planning. The plan quality score has to be further refined to find reasonable and clinical acceptable compromises between PTV and OAR doses.

Poster im Themenbereich

## **Neurowissenschaften**

7 - 16

## Unravelling the brain networks driving spike-wave discharges in genetic generalized epilepsy—common patterns and individual differences

Silke Klamer<sup>1</sup>, Thomas Ethofer<sup>2,3,5</sup>, Franziska Torner<sup>1</sup>, Ashish Kaul Sahib<sup>1,2,5</sup>, Adham Elshahabi<sup>1,4,5</sup>, Justus Marquetand<sup>1</sup>, Pascal Martin<sup>1</sup>, Holger Lerche<sup>1,5</sup>, Michael Erb<sup>2</sup>, Niels K. Focke<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurology and Epileptology, Hertie-Institute for Clinical Brain Research, University of Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>2</sup> Department of Biomedical Magnetic Resonance, University of Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>3</sup> Department of Psychiatry and Psychotherapy, University of Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>4</sup> MEG Center, University of Tübingen, Tübingen, Germany

<sup>5</sup> Werner Reichardt Centre for Integrative Neuroscience, Tübingen, Germany

### Objective

Genetic generalized epilepsies (GGEs) are characterized by generalized spike-wave discharges (GSWDs) in electroencephalography (EEG) recordings without underlying structural brain lesions. The origin of the epileptic activity remains unclear, although several studies have reported involvement of thalamus and default mode network (DMN). The aim of the current study was to investigate the networks involved in the generation and temporal evolution of GSWDs to elucidate the origin and propagation of the underlying generalized epileptic activity.

### Methods

We examined 12 patients with GGE and GSWDs using EEG–functional magnetic resonance imaging (fMRI) and identified involved brain areas on the basis of a classical general linear model (GLM) analysis. The activation time courses of these areas were further investigated to reveal their temporal sequence of activations and deactivations. Dynamic causal modeling (DCM) was used to determine the generator of GSWDs in GGE.

### Results

We observed activity changes in the thalamus, DMN, dorsal attention network (DAN), salience network (SN), basal ganglia, dorsolateral prefrontal cortex, and motor cortex with supplementary motor area, however, with a certain heterogeneity between patients. Investigation of the temporal sequence of activity changes showed deactivations in the DMN and DAN and activations in the SN and thalamus preceding the onset of GSWDs on EEG by several seconds. DCM analysis indicated that the DMN gates GSWDs in GGE.

### Significance

The observed interplay between DMN, DAN, SN, and thalamus may indicate a downregulation of consciousness. The DMN seems to play a leading role as a driving force behind these changes. Overall, however, there were also clear differences in activation patterns between patients, reflecting a certain heterogeneity in this cohort of GGE patients.

## **Yes, I can - Einfluss positiver Selbstinstruktion auf den Umgang mit (negativer) sozialer Evaluation.**

**H. Fandel<sup>1</sup>, M. L. Kogler<sup>2</sup>, M. Byrne<sup>1</sup>, J. Hornung<sup>1</sup>, J. Reichenberger<sup>3</sup>, J. Blechert<sup>3</sup>, M. Erb<sup>4</sup>, B. Derntl<sup>1</sup>, L. Kogler<sup>1</sup>**

1 Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, AG Innovative Hirnfunktionelle Verfahren, Universitätsklinikum Tübingen; 2 Institut für Psychosomatik und Verhaltenstherapie, Graz; 3 Center for Cognitive Neuroscience, Universität Salzburg; 4 Klinik für Radiologie, Biomedizinische Magnetresonanz, Universitätsklinikum Tübingen

**Einleitung:** Wir sind täglich mit zahlreichen Situationen konfrontiert, in denen wir durch andere bewertet werden (Magee & Galinsky, 2008). Negative Bewertungen („Das hast du schlecht gemacht“) können Enttäuschung und Ärger hervorrufen und den Selbstwert reduzieren, was eine zentrale Komponente vieler psychischer Störungen ist (Carleton et al., 2006). Dabei kommt der **Amygdala**, der **Insula** und dem medialen Präfrontalkortex (**MPFC**) eine besondere Rolle in der Verarbeitung von sozialer Information zu (Amodio & Frith, 2006).

Unsere „**innere Sprache**“ ist die Art mit sich selbst in Gedanken zu kommunizieren (Morin et al., 2011) und hat eine selbstregulatorische Funktion. Sehr häufig ist unsere „innere Sprache“ kritisch uns selbst gegenüber, besonders bei geringem Selbstwert (Alderson-Day et al., 2014; Brinthaup et al., 2009). Auf neuronaler Ebene wird dabei v.a. der inferiore frontale Gyrus (**IFG**) rekrutiert (Girbau, 2007; Kühn et al., 2014), der wiederum mit der Amygdala in Verbindung steht und somit maßgeblich in die Emotionsregulation involviert ist (Morawetz, et al., 2016). Eine Möglichkeit zur Modulation unserer „inneren Sprache“ ist die „**positive Selbstinstruktion**“ um negative Gedanken in positive umzuwandeln und damit den Selbstwert zu erhöhen (Margraf, 1996). Aktuell gibt es kaum Studien, die den Effekt der „positiven Selbstinstruktion“ im Umgang mit sozialer Bewertung sowie einen Zusammenhang mit Effekten auf neuronaler Ebene zeigen. Ziel der vorliegenden Studie ist es daher zu erheben, inwieweit die „positive Selbstinstruktion“ dazu führt, dass Situationen negativer sozialer Bewertung als weniger belastend erlebt werden.

**Methoden:** Bei 60 gesunden Frauen werden die Effekte der „positiven Selbstinstruktion“ während negativer sozialer Bewertung untersucht. Dies erfolgt über ein Messwiederholungs-Design mit prä- und post-Training-Erhebung mit 2 Gruppen (Interventionsgruppe/ Kontrollgruppe). Nach einem 2-wöchigen Training, in welchem die Frauen lernen sich positiv zu instruieren, wird ihre Reaktion auf negative soziale Bewertung mittels neuronaler BOLD-Aktivität, subjektiven Stressangaben und physiologischen Parametern erhoben.

**Hypothesen:** Auf subjektiver Ebene erwarten wir durch die „positive Selbstinstruktion“ eine Abnahme des negativen Empfindens bei negativer sozialer Bewertung. Auf neuronaler Ebene erwarten wir in der Interventionsgruppe eine verstärkte Aktivierung des IFGs und eine verminderte Aktivität in MPFC, Insula und Amygdala, Zentren zur Verarbeitung von Emotionen und negativer sozialer Bewertung.

Die Daten sollen im Weiteren verwendet werden um Interventionen für Personen mit sozialen Ängsten anzupassen und sie im klinischen Kontext einzusetzen mit dem Ziel, dass Patientinnen besser mit sozialer Bewertung umgehen können.

Förderung: Diese Studie wird finanziert durch das *fortune*-Programm der medizinischen Fakultät Tübingen (2393-0-0).

Dr. J. Schwille-Kiuntke, Abteilung für Psychosomatische Medizin und Psychotherapie, UKT  
(TÜFF): Psychobiologie gastroenterologischer Erkrankungen

Wechselseitige Einflüsse von somatischen Erkrankungen auf psychische Prozesse und vice versa sind vielfach belegt. Forschungslücken bestehen im Bereich der Interaktion von Psyche und Darm sowohl bei "funktionellen" Störungen (Bsp. Reizdarmsyndrom, RDS), als auch bezüglich somatisch-gastroenterologischen Erkrankungen (Bsp. chronisch-entzündliche Darmerkrankungen, CED).

Das übergeordnete Ziel ist ein vertieftes Verständnis der oben genannten Interaktionen. Exemplarisch werden Daten aus zwei aktuellen Teilprojekten der Habilitation vorgestellt:

1. Teilprojekt: „PiiiT – Postinfectious irritable bowel syndrome in travellers“  
(Ms in preparation)

Es gibt Evidenz für eine erhöhte RDS-Inzidenz nach reiseassoziiertes gastrointestinales Infektion (postinfektiöses RDS). Allerdings existieren bisher kaum prospektive Studien, die sowohl psychische Aspekte, als auch die Rolle der Infektion untersuchen. In der Impfsprechstunde des Instituts für Tropenmedizin wurden Probanden, die eine Auslandsreise planten, rekrutiert und vor Reiseantritt (T0) sowie drei (T1) und sechs Monate (T2) nach Ende der Reise befragt. Es liegen 298 vollständige Datensätze vor. Die RDS-Inzidenz nach Rom III-Kriterien lag bei 3,1% (T2). Es fand sich ein Zusammenhang zwischen RDS und reiseassoziiertes Magen-Darm-Infektion ( $p=.04$ ). Bereits prospektiv bei T1 ( $p=.02$ ), aber auch bei T2 zeigten sich bei Probanden mit RDS (T2) erhöhte Werte hinsichtlich Somatisierung ( $p=.009$ ). Weiter hatten Probanden mit einem RDS (T2) im Vorfeld häufiger negative Erwartung an die Reise (1,4% vs. 22,2%,  $p=.02$ ). Der Einfluss einer subjektiv negativen Erwartung an eine Reise sowie eine (u.U. auch subklinische) Somatisierung sollte bei der Anamneseerhebung bei einem Patienten mit V.a. Reisediarrhoe-assoziiertes RDS bedacht werden.

PiiiT wurde Zusammenarbeit mit PD Dr. P. Zanger, Universitätsklinikum Heidelberg / Institut für Tropenmedizin am UKT durchgeführt.

2. Teilprojekt: Psychosomatische Epidemiologie: Schlaf- und Lebensqualität bei CED und RDS (Ms under review, Neurogastroenterol Motil, 2018)

Trotz vielfacher Unterschiede zwischen CED und RDS zeigen Erkrankte beider Entitäten Veränderungen der Schlaf- und der Lebensqualität (quality of life, QoL). Basierend auf Daten aus SHIP Trend, einer großen, bevölkerungsrepräsentativen Kohortenstudie (N=4420) wurden Personen mit RDS und solche mit CED hinsichtlich Schlafqualität, QoL und Depressivität verglichen. Die Häufigkeit des RDS lag bei 3,5% die von CED bei 0,8%. Eine weibliche Prädominanz lag bei beiden Erkrankungen vor (RDS 64,2%, CED 61,8%,  $p=.79$ ). Die QoL war reduziert bei CED und RDS im Vergleich zur Gesamtkohorte ohne CED bzw. RDS (psychisch:  $p\leq.001$ , physisch:  $p\leq.001$ ). Beim Vergleich CED vs. RDS zeigten sich keine Unterschiede in der physischen QoL ( $p=.70$ ), allerdings war die psychische QoL bei RDS niedriger als bei CED ( $p=.007$ ). Die subjektive Schlafqualität wurde von Probanden mit RDS häufiger als sehr schlecht eingeschätzt (11,4%), als von Probanden mit CED (0%) oder ohne eine der beiden Diagnosen (2,7%) ( $p=.02$ ). Ebenfalls in der RDS-betroffenen Kohorte zeigten sich ein im Mittel erhöhter Summenwert für Depressivität ( $p=.046$ ). Sowohl bei Diagnostik und Therapie der CED, als auch beim RDS sollte die reduzierte QoL im Blick behalten werden, wobei bei RDS ein besonderes Augenmerk auf die psychischen Aspekte der Erkrankung zu legen ist.

Teilprojekt 2 wurde in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. H. Völzke, Universitätsmedizin Greifswald, und unterstützt vom Kultusministerium, den Landesministerien für Bildung und Forschung sowie Soziales, Mecklenburg-Vorpommern durchgeführt.

## Dopaminergic dysfunction in a rat model for DYT6 dystonia

Fubo Cheng <sup>1, 2</sup>, Paola Bonisi <sup>3</sup>, Nicolas Casadei <sup>1</sup>, Libo Yu-Täger <sup>1</sup>, Olaf Riess <sup>1</sup>, Thomas Ott <sup>1</sup>, Kathrin Grundmann <sup>1</sup>, Huu Phuc Nguyen <sup>1\*</sup>

**1: Institute of Medical Genetics and applied genomics, University of Tuebingen, Germany**

**2: Department of Neurology, the First Hospital of Jilin University, Changchun, PR. China**

**3: IRCCS Fondazione Santa Lucia, Rome, Italy**

### Abstract

Mutation in THAP1 (thanatos-associated protein domain-containing apoptosis-associated protein 1) causes autosomal dominant primary dystonia 6 (DYT6 dystonia). To date, more than eighty different mutations / variations have been identified in THAP1 gene in different ethnic populations. But the pathogenic mechanisms of DYT6 are still unclear. Recent studies on Thap1 mouse models showed myelination delay or dysfunction of pathway related to eIF2 $\alpha$  Signaling and mitochondrial dysfunction. However, the neuropathological and neurophysiological changes in rats with THAP1 mutation are unknown. Using CRISPR/cas9 technique, we generated a rat model for THAP1 dystonia. In this novel model, we observed that homozygous THAP1 knock-out is lethal to early rat embryos. RNA and protein analysis confirmed the decreased expression of Thap1 in heterozygous knock-out DYT6 rats. Limbs claspings and fine motor skill deficiency were observed in our model. We observed expression changes of some key protein related to dopaminergic pathway, like DAT1. Rat striatum electrophysiology study showed abnormal fire frequency in Thap1 heterozygous under the stimulation of amphetamine which also indicates dopaminergic dysfunction. Taken together, our novel THAP1 dystonia rat model showed dystonia like phenotype and revealed that dopaminergic dysfunction might be one of the pathogenic mechanisms of DYT6 dystonia.

## **Neural interfaces to induce and investigate functional motor neuroplasticity and sleep**

Dr. Ander Ramos-Murguialday

Institute of Medical Psychology and Behavioral Neurobiology  
Silcherstrasse 5, 72076 Tübingen

Stroke is a pervasive medical condition with serious quality of life implications for patients who survive the initial insult. Paralysis, especially hemiparesis, is a common condition caused by stroke which has severe consequences for patients. The development of brain-computer-interfaces has demonstrated great promise for the rehabilitation of such patients. BCI-based therapy has led to significant motor improvements (Ramos-Murguialday et al., 2013). However, the full potential of such training for all patients could not be exploited so far. One possible reason might be that the impaired sensorimotor system might not be capable of efficiently consolidating the newly encoded information. One reason for this could be that both advanced age and stroke are associated with poor sleep quality. Sleep, however, is known to play an important role in the consolidation of newly learned information (i.e. motor skill). Over the last decades, research has repeatedly demonstrated a complex role of sleep in different types of memory (Rasch & Born, 2013). Enhancing slow wave activity through auditory stimulation (which, like the BCI system described above was also developed by the Institute of Medical Psychology and Behavioural Neurobiology) has been shown to likewise enhance memory retention.

Two factors might hinder exploitation of the full potential of motor recovery by the BCI training alone: a) the sensorimotor system might not be capable of fully encoding the new, movement-related information, and b) the impaired sensorimotor system might not be capable of efficiently consolidating the newly encoded information. It may, however, be possible to address both factors using another non-invasive technique: the enhancement of sleep EEG rhythms via auditory stimulation. Indeed, decreases in slow wave activity via slow wave deprivation (a technique used to prevent participants from entering slow wave sleep) have been shown to decrease performance on a motor task (Landsness et al., 2009). Vice versa, immobilization of the arm during a motor task leads to localized decreases in slow wave activity over the affected cortical area (Huber et al., 2006). BCI training of a visuomotor task also leads to a localized increase in spindle (short bursts of fast activity which are associated with the reactivation of memory (Rasch & Born, 2013)) number during post-training slow wave sleep. Taken together, these results suggest a close interplay between BCI training, motor activity, and sleep.

This project proposes that enhancing endogenous sleep rhythms via auditory stimulation will lead to improvements in BCI-assisted motor rehabilitation.

### Going with your gut: Vagal nerve stimulation as a modulator of effort

N.B. Kroemer, V. Teckentrup, C. Burrasch

Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Abteilung Allgemeine Psychiatrie und Psychotherapie mit Poliklinik

Vagus nerve stimulation has been associated with weight loss and improved depressive symptoms in patients suffering from treatment-resistant depression. However, the underlying neurobiological mechanism remains largely elusive to date. Emerging evidence suggests that activation of the vagus nerve elicits changes in the dopaminergic circuit and affects metabolic signaling. Consequently, we investigated if transcutaneous vagus nerve stimulation (tVNS) affects motivation for food and monetary rewards as well as reward learning. Moreover, we tested if tVNS-induced motivational effects are associated with changes in energy metabolism as assessed by gastric motility and resting energy expenditure.

On two separate days, we applied tVNS or sham stimulation in a randomized crossover design in healthy overnight-fasted participants ( $N=41$ , 26f;  $M_{age} = 25.3$  years;  $M_{BMI} = 23.0$  kg/m<sup>2</sup>) while they completed three motivational tasks. To test for a potential link of behavior and physiology, a subsample ( $N=19$ ) underwent two additional sessions of simultaneous electrogastrogram (EGG) and indirect calorimetry under tVNS versus sham stimulation on two consecutive days.

First, we found a marginal increase in positive mood after tVNS ( $\chi^2 = 3.54$ ,  $p = .057$ ). Second, we did not see a general effect of tVNS on invigoration (i.e., speed of approach,  $p > .08$ ) or maintenance ( $p > .1$ ). However, we found that tVNS increased effort invigoration when food rewards, but not monetary rewards, were at stake by 6%,  $t(39) = 2.984$ ,  $p = .005$ . Third, we observed that tVNS reduced the speed of action-contingency learning,  $\Delta\alpha = -0.093$ ,  $p = .002$ , particularly for punishments. Notably, tVNS effects on mood, vigor, and reward learning were correlated pointing to one mechanism. Fourth, we found that tVNS decreased gastric motility,  $t(18) = -2.234$ ,  $p = .038$ , but not resting energy expenditure ( $p > .5$ ). However, metabolic changes were not strongly associated with tVNS-induced changes in motivational behavior.

To summarize, we found that tVNS specifically enhanced vigor for food rewards whereas it generally reduced the action-contingency learning rate. In line with previous research on chronic tVNS, we also observed an acute increase in positive mood after tVNS. Moreover, slowing of gastric motility after tVNS reveals a downstream effect on metabolism. We conclude that by modulating motivation, mood, and metabolism, tVNS acutely affects key symptoms linked to depression. By providing crucial insights into neurobiological mechanisms of tVNS, our study sheds new light on potential applications of tVNS as treatment for mental disorders.

## **Evaluation of functional properties of microglia in mice infected with *Trypanosoma brucei***

Katherine Figarella, Nestor L. Uzcategui, Sena Güçer, Olga Garaschuk  
Department of Neurophysiology, Institute of Physiology, University of Tuebingen.

Protozoan parasite infections affect millions of people around the world. Despite the severe complications caused by parasite invasion of the central nervous system (CNS), little is known about the dynamic of the parasite in the CNS and its interaction with host cells. Within the brain parenchyma, microglia not only act as immune cells accountable for the defense against pathogens but also participate in coordinating the trafficking and recruitment of other immune cells from the periphery to the CNS. In general, immunosuppression favors parasite invasion into the CNS, therefore, the host immune response plays a pivotal role in the development of the neuropathology. *Trypanosoma brucei*, a hemoflagellate that invades the brain in the late stage of the disease, has been used as model organism to study protozoan infections. Microglial nodules have been documented in human pathological studies, however, the role of microglial cells in Human African Trypanosomiasis has so far not been investigated. We have recently shown that *in vitro* upon the direct contact with trypanosomes microglia become activated and are able to phagocytose trypanosomes. In order to know if microglia activation occurs *in vivo*, we aimed to characterize the functional properties of microglial cells during an experimental infection in mice using two-photon microscopy and immunohistochemistry. Results of longitudinal analysis of infected mice, to which a cranial window on the somatosensory cortex was implanted, demonstrated that cortical microglia are able to react to the parasite infection even during the early haemo-lymphatic stage of the disease, prior to neuroinvasion. Morphological analysis revealed that microglia's soma size increase during the time. The number of duplets also increased, indicating proliferation. Interestingly, parasites were observed in a high density primarily in the meninges and were also found in the superficial area from the brain parenchyma. To determine, if parasites localize in deeper areas of the brain, immunohistochemical analysis using formalin-fixed brain tissue are currently ongoing. This study provides insight into the CNS immune response of the host during the development of the neuropathology induced by the parasite infection.

## **Exploiting different brain signatures of movement to improve neuro-rehabilitation (SIMON)**

**E. López-Larraz, C. Bibián, A. Sarasola-Sanz, N. Irastorza-Landa, A. M. Ray, A. Insausti-Delgado, N. Birbaumer and A. Ramos-Murguialday**

### **Institute of Medical Psychology and Behavioral Neurobiology**

Stroke is one of the main causes of motor disability worldwide, and in more than 85% of these cases, severe deficits in motor control remain. Neuroprosthetics and neural interfaces have been recently proposed as a potential rehabilitative tool to recover the lost motor functions after motor paralysis due to stroke. Recent works published over the last five years have demonstrated the positive effects of motor rehabilitation therapies based on non-invasive brain-machine interfaces (BMIs): for instance, using electroencephalography (EEG). A recent review of the literature conducted by the PI of this project and colleagues has identified that, although significant and promising, the functional motor recovery achieved by stroke patients with novel BMI rehabilitative interventions remains modest.

The main objective of the present project is to improve upper-limb motor rehabilitation for stroke patients based on BMIs. For that, this project aimed at proposing optimized strategies to boost neuroplasticity and subsequent recovery. This requires improving BMI systems from two perspectives. On the one hand, decoding different movements from EEG activity to improve the contingent link created by the BMI: i.e., the BMI detects the exact movement that the patient is trying to perform, and the limb of the patient is moved by a robot, exciting the afferent pathways. On the other hand, generating a richer feedback by combining different stimulation modalities (e.g., robotic exoskeletons and electrical stimulation).

During this project, new methodologies to improve the contingent brain-muscle link have been proposed, firstly by reducing EEG contaminations (i.e., EEG artifacts, mostly due to compensatory activity), and secondly by improving the decoding of movement intentions based on EEG, EMG and the combination of EEG and EMG. In addition, preliminary approaches for personalizing BMIs for stroke patients have been proposed, putting special emphasis on how their type of lesion can affect their EEG and EMG activity. We have also proposed the first EEG-controlled system that combines a 7 degrees-of-freedom robotic exoskeleton with functional electrical stimulation for rehabilitation of the upper-limb.

Currently, the team is working on the evaluation of the proposed brain-machine interface system in a double-blinded controlled study with stroke patients with complete hand paralysis.

## **HeMiLa – eine monozentrische offene Pilot-Studie zur prophylaktischen Behandlung der hemiplegischen Migräne mit Lamotrigin (EudraCT-Nr. 2016-003223-30)**

**Autoren:** V. Schubert<sup>1</sup>, S. Wolking<sup>1</sup>, E. Auffenberg<sup>2</sup>, H. Lerche<sup>1</sup>, T. Freilinger<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinikum Tübingen, Abteilung für Neurologie mit Schwerpunkt Epileptologie, Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung (HIH), Hoppe-Seyler-Str. 3, 72076 Tübingen <sup>2</sup>Zentrum für Altersmedizin und Entwicklungsstörungen, kbo-Isar-Amper Klinikum, Akademisches Lehrkrankenhaus der LMU München, Vockestr. 72, 85540, Haar

<sup>3</sup>Klinik für Neurologie, Klinikum Passau, Innstraße 76, 94032 Passau

### *Hintergrund & Ziele:*

Die hemiplegische Migräne (HM) ist eine seltene, monogene Form der Migräne mit Aura. Sie ist gekennzeichnet durch schwere Auren mit motorischer Halbseitensymptomatik. Die Attacken können zusätzlich durch Fieber, epileptische Anfälle, Störung von Orientierung und Vigilanz oder prolongierte Auren (>72h) kompliziert werden. Mit einer Prävalenz von 0,01% kommt die hemiplegische Migräne in sporadischer (SHM) und familiärer Form (FHM) vor. Es sind drei ursächliche Gene bekannt (FHM1-3: *CACNA1A*, *ATP1A2*, *SCN1A*), welche für Ionenkanäle / -transporter im ZNS kodieren. Bislang gibt es keine evidenzbasierte Therapie der Erkrankung. In kleineren Fallserien zu Migräne mit (nicht-hemiplegischer) Aura konnte ein positiver prophylaktischer Effekt von Lamotrigin gezeigt werden. Aus translationaler Sicht ist Lamotrigin durch seine Wirkung als Na-Kanal Blocker bei der HM und im Besonderen bei der FHM3 vielversprechend, da hier ein Funktionsgewinn des neuronalen Natriumkanals *SCN1A* vorliegt. In dieser monozentrischen, prospektiven, offenen Pilotstudie wird die Wirksamkeit von Lamotrigin als prophylaktische Behandlung der HM untersucht.

### *Material und Methoden:*

28 erwachsene Patienten mit HM (Diagnosestellung nach ICHD-III $\beta$ ) werden nach einer Baselinephase (1 Jahr), sofern in diesem Zeitraum mindestens 3 hemiplegische Attacken aufgetreten sind, mit Lamotrigin (Dosierung analog zur Epilepsitherapie) behandelt (Interventionsphase: 1 Jahr). Die Attackenfrequenz wird anhand eines Patiententagebuchs, monatlicher Telefonvisiten und halbjährlicher Vorstellungen überprüft. Eine zeitgleiche Einnahme von Antikonvulsiva oder Erstlinienpräparaten zur Migräneprophylaxe ist nicht zulässig. Als primärer Endpunkt dient die absolute Differenz der Attacken zwischen Baseline- und Interventionsphase. Sekundäre Endpunkte sind der Anteil der Patienten mit Attackenfreiheit unter Therapie bzw. die absolute Differenz von nicht-hemiplegischen Auren (Baseline vs. Interventionsphase).

### *Resultate (Stand Oktober 2018):*

Seit Oktober 2017 wird für die Studie rekrutiert. Bislang sind 6 Patienten eingeschlossen. Anschlussprojekte zu spezifischen bildgebenden Veränderungen und Akuttherapie der Aura sind in Vorbereitung.

### *Schlussfolgerungen:*

Die HM ist eine stark einschränkende Variante der Migräne mit Aura, für die zum heutigen Stand noch keine etablierten Therapien zur Verfügung stehen. Klinische Studien mit therapeutischem Ansatz werden dringend benötigt, um die Lebensqualität der Betroffenen zu verbessern.

## **Das modulare Tübinger Physiotherapiekonzept für hereditäre spastischer Spinalparalyse (HSP) - eine randomisiert-kontrollierte Design- und Validierungsstudie**

**Tim W. Rattay, Inga Liepelt, Holger Hengel, Marion Himmelbach, Susanne Koch, Ludger Schöls, Rebecca Schüle**

Zentrum für Neurologie, Abteilung für neurodegenerative Erkrankungen

Patienten mit hereditärer spastischer Spinalparalyse (HSP) leiden unter fortschreitenden Einschränkungen des Gehens durch eine progrediente Spastik, Schwäche und Kontrakturen der unteren Extremitäten. Im Verlauf der Erkrankung kommt es oftmals zu einem vollständigen Verlust der Gehfähigkeit und zur Rollstuhlabhängigkeit. Eine kausale Behandlungsmöglichkeit gibt es für Patienten mit diesen seltenen Erkrankungen („orphan diseases“) bislang nicht. Aus diesem Grunde kommt der Entwicklung von nicht-medikamentösen Behandlungen, welche praktisch umsetzbar und anwendergerecht sind, eine besondere Bedeutung zu. Wir haben daher ein HSP-spezifisches Physiotherapiekonzept entwickelt, dessen Effektivität in dieser Studie untersucht wurde.

Wir haben eine monozentrische randomisierte Studie mit Kontrollgruppendesign durchgeführt, wobei die Effektivität einer neuen, HSP-spezifischen Physiotherapie mit einer unspezifischen Physiotherapie („standard of care“) verglichen wurde. Eingeschlossen wurden erwachsene HSP-Patienten, die noch mindestens 100m in drei Minuten gehfähig waren. Die Behandlungsgruppe erhielt 10 Stunden Physiotherapie nach einem modularen HSP-Konzept verteilt auf zwei Blöcke (Woche 1 und 3). Hierbei wurden die Probanden zu einem täglichen selbständigen Training angeleitet. Die Abschlussuntersuchung zur Ermittlung des Therapieeffekts erfolgte nach 12 Wochen, eine weitere Untersuchung zur Ermittlung des Langzeiteffekts nach einem halben Jahr. Die Kontrollgruppe führt ihre bisherige Standardbehandlung inklusive der normalen Physiotherapie über das halbe Jahr unverändert fort. Die Erfassung der Ausgangswerte bzw. Trainingseffekte erfolgte u.a. mittels neurologischer Untersuchung anhand eines Spastik-spezifischen Untersuchungsscores (SPRS), 3-Minuten Gehstrecke, Sturzprotokoll, Schmerzprotokoll, Fragebogen zur Lebensqualität und individuell definierter alltagsrelevanter Ziele (Goal attainment scale). Primärer Outcome-Parameter war die Verbesserung des SPRS-Scores.

Patienten die mit dem modularen Tübinger Physiotherapiekonzept trainierten zeigten eine signifikante Verbesserung des klinischen Untersuchungsscores (SPRS) im Verlauf über den Kurz- und Langzeitverlauf. Die 3 Minuten Gehstrecke war nicht signifikant verändert.

Durch die Zusammenarbeit mit der Patientenorganisation „Forum Ge(h)n mit HSP“ wird den HSP-Patienten das modulare Trainingskonzept mittels bebildeter Broschüren und Schulungen im Rahmen von Treffen oder Fortbildungen vermittelt und so eine möglichst rasche Umsetzung des neuen Konzeptes in den Erkrankungsalltag von Patienten mit der seltenen Erkrankung HSP erreicht.

Poster im Themenbereich

## **Onkologie / Immunologie**

17 - 21

## Impaired Dendritic Cell Differentiation in Multiple Myeloma

Jennifer R. Richardson<sup>1</sup>, Manina Günter<sup>1</sup>, Katja Weisel<sup>1</sup>, Hans-Jörg Bühring<sup>1</sup>, Katharina Landwehr<sup>2</sup>, Helmut R. Salih<sup>1,3</sup> and Stella E. Autenrieth<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Internal Medicine II, University of Tuebingen, Tuebingen, Germany

<sup>2</sup>Institut für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie, Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt, Germany

<sup>3</sup>Clinical Collaboration Unit Translational Immunology (DKTK and DKFZ), Tuebingen, Germany

Multiple Myeloma (MM) is a B cell malignancy characterized by clonal expansion of malignant plasma cells (MM cells) in the bone marrow (BM). Among others, patients with MM suffer from osteolytic bone disease, which is due to an increased frequency and activity of osteoclasts (OCs). Dendritic cells (DCs) are critical for the defense against infections and cancers. DCs develop from hematopoietic stem cells via DC specific progenitors in the BM and their number in the periphery is tightly regulated to ensure the balance between tolerance and immunity. MM patients show reduced numbers of DCs in the blood and an impaired immune response. Whether this is a consequence or also a contributing cause of the disease remains an open question. *In vitro* studies have shown a bi-directional interaction between MM cells and monocyte-derived DCs (Mo-DCs): Clonogenic growth of MM cells was promoted by Mo-DCs and MM cells induced trans-differentiation of Mo-DCs into OCs. We hypothesize that MM cells interact with DC progenitors in the BM favoring OC differentiation, thereby leading to reduced DC numbers and consequently to an impaired immune control. We analyzed different DC subsets and the recently characterized human DC progenitors from BM of MM patients upon initial diagnosis and healthy donors (HD) and correlated the data to the clinical status. Furthermore, sorted CD34<sup>+</sup> progenitor cells from MM patients and HD were analyzed for their capacity to differentiate into DC subsets *in vitro*.

The frequencies of plasmacytoid DCs ( 0,202%  $\pm$ 0,174 vs. 0,476%  $\pm$ 0,277) and CD141<sup>+</sup> DCs (0,023%  $\pm$ 0,028 vs. 0,121%  $\pm$ 0,094) as well as that of their immediate progenitors, “common DC progenitors” (CDPs) ( 0,0011%  $\pm$ 0,0014 vs. 0,058%  $\pm$ 0,0085) and pre-DCs ( 0,0076%  $\pm$ 0,0096 vs. 0,0359%  $\pm$ 0,0826), were significantly reduced in the BM of MM patients compared to HD, whereas the frequency of monocytes was increased (classical: 14,31%  $\pm$ 11,73 vs. 6,938%  $\pm$ 6,4; intermediate: 1,313%  $\pm$ 1,63 vs 0,3221%  $\pm$ 0,374). Moreover, the reduction of CD141<sup>+</sup> DCs, pre-DCs and CDPs correlated with the disease stage. In line, the *in vitro* differentiation of CD34<sup>+</sup> progenitor cells from BM of MM patients into DCs was impaired, as they did not give rise to the three human DC subsets, CD141<sup>+</sup>, CD1c<sup>+</sup> and pDCs, to the same extent as cells from healthy controls. Our data point towards an impaired DC differentiation in MM patients, possibly by changing the cell fate of these progenitors corresponding with previous findings of decreased numbers of circulating DCs in the periphery leading to the weakened immune response in these patients.

## Radiogenomics, Tumorheterogenität und zirkulierende zellfreie DNA bei Kopf-Hals Tumorpatienten

**K. Zwirner<sup>1</sup>, F.J. Hilke<sup>2</sup>, S. Ossowski<sup>2</sup>, S. Welz<sup>1</sup>, C. Schroeder<sup>2</sup>, O. Rieß<sup>2</sup>, D. Zips<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universitätsklinik für Radioonkologie, Medizinische Fakultät, Eberhard Karls Universität Tübingen

<sup>2</sup> Institut für Medizinische Genetik und Angewandte Genomik, Medizinische Fakultät, Eberhard Karls Universität Tübingen

Genetische und radiologische Charakteristika von Tumoren könnten für personalisierte Therapieansätze in der Tumorthherapie genutzt werden. Funktionelle Zusammenhänge oder komplementäre Merkmale sind denkbar („Radiogenomics“). Zudem ist die intratumorale Heterogenität sowohl radiologisch als auch genetisch von Interesse, da durch unterschiedliche zelluläre Prozesse innerhalb eines Tumors Resistenzmechanismen und divergierendes Therapieansprechen vermutet werden können. Um die klinische Dynamik während einer Therapie zu beurteilen, kann zirkulierende zellfreie (Tumor) DNA (cfDNA / ctDNA) gemessen werden. Diese drei Teilaspekte wurden bei Kopf-Hals Tumorpatienten untersucht. Es erfolgten „Next-Generation Sequencing“ (NGS) von Tumorproben sowie die Analyse von cfDNA unter Radiochemotherapie. Die Ergebnisse wurden mit radiologischen und klinischen Parametern korreliert.

In der Korrelation von etablierten radiologischen Heterogenitätsfeatures und somatischen Treibermutationen zeigte sich ein Zusammenhang reduzierter radiologischer Heterogenität mit kleineren Tumorumfängen und somatischen *FAT1* Treibermutationen. Dies könnte die vorbeschriebene positive Prognose dieser Patienten erklären und funktionell durch eingeschränkte Zell-Zell-Kontakte sowie verringerte Migration der Tumorzellen erklärt werden.

Die intratumorale Heterogenität der untersuchten Kopf-Hals Tumore war gering. Die Mehrheit der Proben zeigte übereinstimmende somatische Varianten und Treibermutationen. Bei einem Patienten mit Feldkanzerose und zwei Primärtumoren zeigten sich jedoch deutlich unterschiedliche Treibermutationen, die als Targets für gezielte Therapien geeignet wären (*BRCA2* vs. *PIK3CA*). Bei Patienten mit zwei Primärtumoren ist somit eine Sequenzierung beider Tumoren anzustreben, auch wenn klinisch eine Feldkanzerose vermutet wird.

In der Analyse von cfDNA-Level zeigte sich ein Einfluss von Medikamenten und Infektkonstellationen. Dies kann klinisch genutzt werden, um radiogene Toxizitäten von manifesten Infekten zu unterscheiden. Jedoch sollten derartige Einflussfaktoren ebenso berücksichtigt werden, wenn Allelfrequenzen von ctDNA berechnet werden.

## CRISPR/Cas9 mediated Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy for Metachromatic Leukodystrophy (MLD)

Justin S. Antony<sup>1,2</sup>, Merve Kaftancioglu<sup>1</sup>, Judith Böhringer<sup>1,3</sup>, Andres Lamsfus- Calle<sup>1</sup>, Alberto Daniel-Moreno<sup>1</sup>, Maksim Klimiankou<sup>2</sup>, Ingoberg Krageloh-Mann<sup>3</sup>, Julia Skokowa<sup>2</sup>, Rupert Handgretinger<sup>1</sup> and Markus Mezger<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Department of Hematology and Oncology Abt-I, University Children's Hospital, University of Tübingen, Germany.

<sup>2</sup> Department of Hematology, Oncology, Clinical Immunology, University of Tübingen, Germany.

<sup>3</sup> Department of Pediatric Neurology, University Children's Hospital Tübingen, Tübingen, Germany.

**Objectives:** Metachromatic leukodystrophy (MLD) is an inherited lysosomal storage disease caused by mutations in the Arylsulfatase A (*ARSA*) gene, which result in a functional deficiency of the enzyme. *ARSA* insufficiency leads to an accumulation of sulfatide in nervous system and causing demyelination and neurodegeneration<sup>1</sup>. Although autologous hematopoietic stem cell (HSCs) gene therapy with lentivirus showed a therapeutic benefit, the risk of insertional mutagenesis is evident due to the random integration. Therefore, here we aim to combine autologous HSC Therapy (HSCT) with CRISPR/Cas9 system to ensure Targeted Transgene Integration (TTI) at endogenous loci to increase the safety profile of the therapy<sup>2</sup>.

**Methods:** The expression and enzyme activity of Arylsulfatase A in CD34<sup>+</sup> HSCs was assessed by RT-qPCR and Enzyme activity assay. To sustain a transcriptional control of the natural regulatory elements of the *ARSA* promoter, we targeted 5' UTR / First exon to integrate eGFP/*ARSA* cDNA transgene and designed several single guide RNAs (sgRNAs) using stringent *in silico* algorithm. The gene-targeting efficiency of designed sgRNAs was assessed in K562 and mesenchymal stromal cells (MSCs) using differently encoded SpCas9 (mRNA/RNP). The GUIDE-seq was utilized to measure the off-target effect of the guide RNAs. The donor transgene template with homology arms were generated as single stranded DNA (ssDNA) with the rational design of primers incorporating phosphorylation and Phosphorothioate modification. The DNA repair pathway molecules (RAD51, RAD54 etc.,) were utilized to enhance the homology directed repair.

**Results:** The CD34<sup>+</sup> HSCs express Arylsulfatase A similar to that of MSCs where MLD patient derived fibroblasts were kept as a control. Likewise, the *ARSA* enzyme activity in metabolizing sulfatides were similar between CD34<sup>+</sup> HSCs and MSCs. We noticed varying level of gene targeting efficiency among the five different sgRNA tested ( $P < 0.0001$ ). Compared to pDNA encoded Cas9, the delivery of Cas9 mRNA/RNP resulted in higher indel frequencies ( $P < 0.001$ ) *in vitro*. The comparison of Cas9 RNP with Cas9 mRNA resulted in similar gene targeting efficacy. However, the Cas9 mRNA and Cas9 RNP exhibited similar level of gene editing capacity. The ssDNA mediated repair template were successfully generated by rational design of primer pairs and confirmed through SYBR green based analysis. The co-transfection of RAD51 mRNA displayed marginal effect in HDR.

**Conclusion:** As a proof-of-concept, we have shown that CD34<sup>+</sup> HSCs express Arylsulfatase A and delivery of CRISPR/Cas9 components along with ssDNA repair template can lead to functional gene correction of *ARSA*, and can be a possible future Gene Therapy regimen to treat MLD.

### Suggested Reading:

Böhringer, J et.al., 2017. Enzymatic characterization of novel arylsulfatase A variants using human arylsulfatase A deficient immortalized mesenchymal stromal cells. *Hum Mutat.* 2017 Nov;38(11):1511-1520

Antony JS et.al., 2018. CRISPR/Cas9 system: a promising technology for the treatment of inherited and neoplastic hematological diseases. *Adv Cell Gene Ther* 2018.

### Next-generation sequencing reveals significant differences in the genome of cutaneous, mucosal, acral and uveal melanoma

Andrea Forschner<sup>1</sup>, Franz Hilke<sup>2</sup>, Stephan Ossowski<sup>2</sup>, Olaf Riess<sup>2</sup>, Irina Bonzheim<sup>3</sup>, Tobias Sinnberg<sup>1</sup>, Heike Niessner<sup>1</sup>, Claus Garbe<sup>1</sup>, Christopher Schroeder<sup>2</sup>

1. Center for Dermatocology, Department of Dermatology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany; 2. Institute of Medical Genetics and Applied Genomics, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany; 3. Institute of Pathology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany

In recent years, next generation sequencing (NGS) has become increasingly important for detection of genetic biomarkers in melanoma. These genetic biomarkers might explain therapeutic failure of checkpoint inhibitors in certain melanoma types or be potentially druggable. In this study, we evaluated the NGS results of 82 patients with advanced melanoma, whose primary tumors or metastases had been sequenced as part of routine clinical care in 2017. The sequencing panel was applied in three different versions, targeting 337 cancer associated genes in the primary setting (ssSCv1) and 680 (ssSCv3) or 693 (ssSCv4) genes as well as intronic alterations and fusions in the updated versions. All samples were sequenced on an Illumina device (e.g. NextSeq500). Data processing was done by an in-house analysis pipeline including BWA for mapping, clinCNV for CNV detection and strelka for somatic variant detection. Variants were annotated using SnpEff / SnpSift and the publically available Cancer Genome Interpreter for information about clinical actionability.

We included 42 (51%) cutaneous melanoma (CM), 14 (17%) acral melanoma (AM), 8 (10%) uveal melanoma (UM), 9 (11%) mucosal melanoma (MM) and 9 (11%) melanoma of unknown primary (MUP). The formalin fixed paraffin embedded tissue that had been used for sequencing, mostly derived from metastases (93%), in 6 cases (7%) from primary melanoma. More than half of the tissues (n=52; 63%) were therapy naïve. For evaluation, we listed only single nucleotide variants (SNV), which were included in all 3 panels and met one of the following criteria: (a) present in  $\geq 10\%$  of the cases, (b) significant difference in frequency compared to the CM (c) *NF1*, *TP53*, *ROS1*, *BRCA2*, *CDKN2A*, *JAK1*, *JAK2*, *KIT*, *TERT*, *PAK3*, *MDM2*, *MDM4*. Next, we added, according to the SNV either copy number variants (CNV) with  $\geq 3$  fold amplification (ampl) respectively gene deletions (del)  $\leq 1.5$ .

The comparison of AM, UM, MM and MUP to CM revealed significant differences concerning tumor mutational burden (TMB), single nucleotide variants (SNVs) and copy number variants (CNVs). CM had a significant higher TMB than AM, MM and UM, whereas SNVs were significant lower in AM, MM and UM than in CM. MM furthermore had significant more CNVs than CM.

We listed all genetic alterations that occurred in  $\geq 25\%$  of each of the 5 melanoma types. Particularly noteworthy here is the high frequency of *CDKN2A* (81% / 67% / 50%), *JAK2* (71% / 67% / 50%) and *PTEN* (57% / 89% / 71%) alterations in the CM/MM/AM. Amazingly all of the UM (100%) had *MYC* ampl, 88% *MDM4* ampl, and 88% *LYN* ampl, whereas *CDKN2A*, *JAK2* and *PTEN* del were very rare in UM (12% / 12% / 0%). We next performed chi-squared tests to check for significant differences compared to CM and found known but also previously unknown significant differences between AM, UM, MM, MUP and CM.

As some of the genetic alterations are suspected to be associated with immunotherapy failure (e.g. del of *PTEN*, *CDKN2A*, *JAK1*, *JAK2*, ampl of *MYC*, *MDM2*, *MDM4*), our results might help to understand the distinct response patterns to checkpoint inhibitors in different melanoma types. In addition, due to the high number of potential targetable alterations, further effort should be made to introduce targeted therapies beyond BRAF, MEK or KIT inhibitors for metastasized melanoma.

**Radioonkologie 4.0 - Können Patienten-Apps und Biosensoren die Patientenversorgung verbessern?**

C.Gani, F. Hauth, V. Bizu, R. App, H. Lautenbacher, M. Bitzer, N. Malek, D. Zips

Gesundheits-Apps und “wearables”, wie Fitnessarmbänder, finden zunehmend Beachtung nicht nur als reine lifestyle Produkte, sondern auch in der Patientenversorgung. Onkologischen Therapien können zunehmend ambulant erfolgen, was zwar für die Patienten einen Gewinn an Lebensqualität bedeutet, gleichzeitig dem Behandler meist nur kurze Einblicke in den Gesundheitszustand des Patienten erlaubt. Wir haben daher zwei Studien aus dem Themenkomplex “eHealth” durchgeführt. Hinter dem ersten Projekt - “PROMetheus” steht eine speziell für diese Studie entwickelte App, die es dem Patienten erlaubt, jederzeit und von überall Informationen über Beschwerden und Nebenwirkungen zu übermitteln. Die Pilotstudie mit 25 Patienten konnte kürzlich erfolgreich abgeschlossen werden und zeigte eine große Akzeptanz seitens der Patienten. Über 80% der Patienten hat regelmäßig die App genutzt und insgesamt über 2500 Werte übermittelt. Mithilfe der App konnten Nebenwirkungen und Beschwerden erkannt werden, die andernfalls potentiell unerkant geblieben wären. In der zweiten Studie (“GIROfit-1”) wurde evaluiert inwiefern Biosensoren, die Puls- und Aktivitätsdaten sammeln, geeignet sind um frühzeitig Patienten zu identifizieren, die einen Erkrankungsprogress erleiden oder wegen Nebenwirkungen einer intensiveren Betreuung bedürfen. Die Daten der Biosensoren können ebenso wie die Daten der Patienten-App auch von außerhalb in das Kliniknetz übertragen werden. In diese Studie konnten ebenfalls 25 Patienten rekrutiert werden, die bereit waren während und vier Wochen nach Therapie einen Biosensor zu tragen. Auch hier zeigte sich eine gute Compliance der Patienten und es konnten deutliche und plausible Unterschiede hinsichtlich der Veränderung der körperlichen Aktivität während der Therapie gezeigt werden. Somit ließen sich hiermit im ambulanten Setting Patienten identifizieren, die einer engmaschigen Betreuung oder weiteren Diagnostik bedürfen. Die darüber hinaus aufgezeichneten Vitalparameter werden zur Zeit noch ausgewertet und mit weiteren klinischen Parametern korreliert. Hierzu werden die Daten beiden Anwendungen, App und Biosensor, in die Forschungsdatenbank CentraXX übertragen und erweitern somit den Datenpool für personalisierte Therapieansätze.

Poster im Themenbereich

## **Weitere Themengebiete**

**22 - 24**

## Annexin A7: A novel regulator of embryo implantation and fertility

Alauddin M<sup>1</sup>, Lang F<sup>2</sup>, Wallwiener D<sup>1</sup>, Brucker SY<sup>1</sup> & Salker MS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Women's Health, Research Centre for Women's Health, University Women's Hospital, Eberhard-Karls University Tuebingen, Calwerstrasse 7/6, 72076 Tuebingen, Germany.

<sup>2</sup>Department of Internal Medicine III, Eberhard-Karls University Tuebingen, Gmelinstrasse 5, D- 72076 Tuebingen, Germany.

A transient window of uterine receptivity ensures that embryos implant in an optimal endometrial environment. Failure to establish or premature closure of the implantation window is thought to be a major cause of infertility, which affects ~ 15% of couples. Implantation of embryos into the maternal endometrium requires establishment of endometrial receptivity. 'Switching on' endometrial receptivity genes is a prerequisite of reproductive success which is under tight control of hormones and local mediators. Indispensable receptivity genes include prostaglandin generating enzyme Cyclooxygenase 2 (COX2). The enzyme requires arachidonic acid which is produced by phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>). Regulation of PLA<sub>2</sub> involves Annexin A7 (also called Synexin), a potent inhibitor of PLA<sub>2</sub> and thus PGE<sub>2</sub> formation. Annexin A7 is a family member of the Ca<sup>2+</sup>- and phospholipid-binding intracellular proteins which participate in the regulation of several biological functions. In view of the role of Annexin A7 in the regulation of prostaglandin synthesis, Annexin A7 may well interfere with endometrial receptivity. However, to the best of our knowledge, nothing is known about the impact of Annexin A7 on reproduction. The present study thus explored whether Annexin A7 is expressed in human endometrial tissue and whether it impacts on embryo implantation and fertility. Here we show that Annexin A7 is expressed in human endometrial tissue with levels being highest at the closure of the 'implantation window'. We further reveal that silencing Annexin A7 enhances COX2 and thus PGE<sub>2</sub> formation. Genetic knockout of Annexin A7 in mice significantly increases receptivity genes and accordingly increases the litter size. Finally, we demonstrate that Annexin A7 expression is enhanced in patients suffering from recurrent implantation failure. In conclusion, Annexin A7 is a novel regulator of endometrial prostaglandin synthesis, embryo implantation and fertility.

**Key words:** phospholipase A<sub>2</sub>, prostaglandin PGE<sub>2</sub>, fertility

# Ist bei Reifgeborenen im Kreißsaal die Maskenbeatmung mit einer neuen Saugmaske effektiver im Vergleich zu einer konventionellen Beatmungsmaske? Eine randomisierte kontrollierte Studie

Lorenz L<sup>1,2</sup>, Rügger CM<sup>1,3</sup>, O’Curraín E<sup>1,4</sup>, Dawson JA<sup>1,5</sup>, Thio M<sup>1,5</sup>, Owen LS<sup>1,5</sup>, Donath SM<sup>5</sup>, Davis PG<sup>1,5</sup>, Kamlin COF<sup>1,5</sup>

1 Newborn Research Centre, The Royal Women’s Hospital, Melbourne, Australien, 2 Neonatologie, Uniklinikum Tübingen, Deutschland, 3 Newborn Research, Neonatologie, Uniklinikum Zürich, Schweiz, 4 University College Dublin, Irland, 5 Murdoch Children’s Research Institute, Melbourne, Australien

**Hintergrund:**

10% der Neugeborenen benötigen im Kreißsaal eine Maskenbeatmung.

Die Effektivität der Maskenbeatmung kann aufgrund von Maskenleck beeinträchtigt sein.

Eine neue Beatmungsmaske, die Saugmaske, benutzt den negativen Druck der Absaugung, damit sich die Maske an das Gesicht des Kindes ansaugt (Abb. 1A).

**Fragestellung:**

Ist eine Maskenbeatmung mit der neuen Saugmaske weniger leckanfällig im Vergleich zu einer konventionellen Beatmungsmaske? (Abb. 1).

**Methoden:**

Randomisierte kontrollierte Studie mit einem Prüfzentrum. Der primäre Endpunkt war Maskenleck.

**Ergebnisse:**

Zwischen Juli 2016 und Juli 2017 wurden 327 Neugeborene gescreent und 45 analysiert (Abb. 2)

Die demographischen Daten in beiden Gruppen waren ähnlich (Tabelle 1).

Die Saugmaske reduziert das Maskenleck nicht. Siehe Tabelle 2 für alle Studienendpunkte.

Bei fünf Kindern (23%) wurde von der Saugmaske zur konventionellen Maske gewechselt, weil Hautläsionen auftraten (n=1; Abb. 3) oder weil die Spitzendrücke nicht erreicht wurden (n=4, Abb. 4)

**Diskussion und Schlussfolgerung:**

Die neue Saugmaske reduziert das Maskenleck nicht. Unerwünschte Effekte wie das nicht Erreichen der eingestellten Beatmungsdrücke oder transiente Hautläsionen sind besorgniserregend.

Abbildung 2: Flussdiagramm

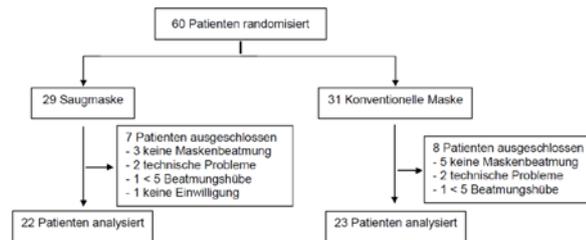


Table 1: Demographische Daten

	Saugmaske n=22	Konventionelle Maske n=23
Gestationsalter [Wochen]	37,9 (36,3 - 39,3)	38,1 (36,4 - 39,0)
Geburtsgewicht [g]	2994 (2766 - 3414)	3210 (2810 - 3330)
Männlich [%]	15 (68%)	13 (57%)
Sectio [%]	18 (82%)	21 (91%)

Zahlen sind dargestellt als Median (Interquartilabstand) und Anzahl (Prozent)

Table 2: Primäre und sekundäre Endpunkte

	Saugmaske n=22	Konventionelle Maske n=23	P-Wert
<b>Respiratorische Endpunkte</b>			
Maskenleck [%]	49,9 (11,0 - 92,7)	30,5 (10,6 - 48,8)	0,51
PIP [cmH <sub>2</sub> O]	27,2 (25,0 - 28,7)	30,4 (29,4 - 32,5)	0,01
PEEP [cmH <sub>2</sub> O]	3,7 (3,1 - 4,5)	5,1 (4,2 - 5,7)	<0,01
Vte [ml/kg]	2,4 (0,6 - 6,2)	4,6 (3,3 - 6,2)	0,11
SpO <sub>2</sub> [%]	60,2 (53,5 - 79,0)	63,1 (52,1 - 72,3)	0,99
HF [/min]	122 (100 - 132)	134 (118 - 176)	0,31
FiO <sub>2</sub>	0,22 (0,21 - 0,31)	0,22 (0,22 - 0,23)	0,99
<b>Endpunkte im Kreißsaal</b>			
Dauer der Beatmung [s]	115 (58 - 195)	113 (43 - 249)	0,94
Intubation	2 (9%)	2 (9%)	0,96
Aufnahme auf die Neo	9 (41%)	10 (44%)	0,86

Zahlen sind dargestellt als Median (Interquartilabstand) und Anzahl (Prozent). PIP = positive inspiratory pressure, PEEP = positive end expiratory pressure, Vte = expiratory tidal volume, SpO<sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung, HF = Herzfrequenz, FiO<sub>2</sub> = Sauerstoffbedarf

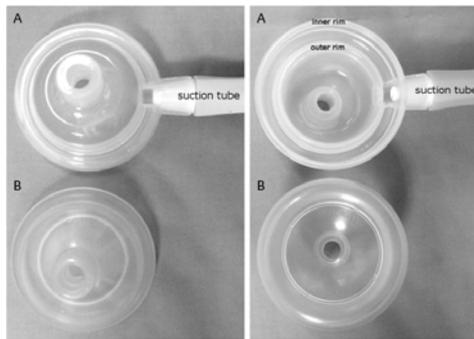


Abbildung 1: A) Die Saugmaske (ResusiSure, LSR Health care, NSW, Australien) hat einen seitlichen Adapter, an den der Absaugkatheter angeschlossen wird (-75 mmHg). B) Konventionelle Maske (Laerdal Maske Größe 0/1, Laerdal Medical, Stavanger, Norwegen).



Abbildung 3: A) Hautläsionen nach sechs Minuten Maskenbeatmung mit der Saugmaske. B) Diese Hautläsion ist nach einer Stunde nicht mehr sichtbar.

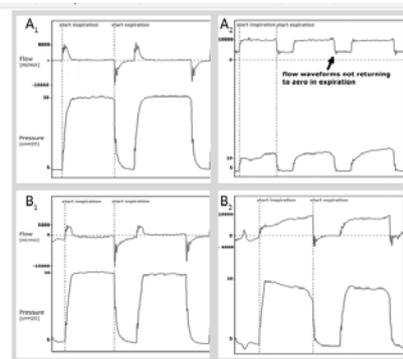


Abbildung 4: A) Saugmaske B) Konventionelle Maske A<sub>1</sub> + B<sub>1</sub>) 0 % Leck A<sub>2</sub> + B<sub>2</sub>) 100 % Leck A<sub>2</sub>) Inspiratorische Flusskurve kommt nicht zur Nulllinie zurück, was darauf hinweist, dass die Absaugung durch den negativen Druck Volumen absaugt.

**Dissecting the role of Lebercilin in cilia disassembly**

Karsten Boldt, Md Moniruzzaman, Tobias Leonhard, Sylvia Bolz, Franziska Klose, Katrin Junger, Adem Cakar, Wadood Hag, Tina Beyer, Marius Ueffing

Institute for Ophthalmic Research, University of Tübingen, Tübingen, Germany

Leber's congenital amaurosis (LCA) is an early form of inherited blindness, and the most common cause for blindness in young children. Patients suffer from a severe loss of sight within the first year after birth. Mutations in the LCA5 gene (encoding the Lebercilin protein) cause LCA. To date, four mutations causing LCA were described. These mutations either lead to a loss of expression or to the expression of a truncated form of Lebercilin. We could previously demonstrate that Lebercilin is involved in ciliary transport mechanisms and that this is impaired by mutation, leading to a disturbed formation of photoreceptor outer segments. However, the exact function and the mechanism by which the mutations lead to LCA on a molecular level are unknown. In this study, we use cellular models to gain further understanding of the LCA5 dysfunction in disease. We used CRISPR/Cas9 genetic engineering tools to knock-out Lebercilin in RPE1 cells as well as BioID2 to analyze the protein complexes of Lebercilin and of associated proteins. Wildtype and LCA5 KO RPE1 cells are used for phenotypic analysis by immunostaining and microscopy. After initiation, cilia disassembly was normal in control cells while in knock-out cells, it was strongly impaired. The cilia number remained high and cilia length was not reduced. Based on BioID2 labelling and quantitative mass spectrometric analysis we found several known and new Lebercilin interactors, including the kinases Aurora kinase A (AURKA) and Polo-like kinase 1 (PLK1), both of which are important regulators of cilia disassembly. We further investigated the complexes of these two kinases in WT and Lebercilin knock-out cell lines to understand their potential involvement in Lebercilin-associated processes. This led to the identification of several proteins which were described to be involved in cilia function. To understand the interplay of Lebercilin with these proteins as well as with AURKA, PLK1 will be the next step of this project.

Even though the cellular phenotype is strong, and we have first clues to gain understanding of this phenotype on the molecular level, transferring these findings to the retina and thereby the disease, will be a major task for the future. Considering recent findings that the knock-out of Lebercilin also affects retinal pigment epithelial cells, and that cilia dis-assembly is a prerequisite for proper formation of the pigment epithelium, these results shed a new light on the potential disease mechanism.

Poster im Themenbereich

## **IZKF Promotionskolleg**

**25 - 53**

## Establishment of defensin-derived peptides as novel antivirals to treat human cytomegalovirus infection.

**Rebecca Böffert<sup>1</sup>, Ramona Businger<sup>1</sup>, Dirk Ehmann<sup>2</sup>, Hannes Preiss<sup>3</sup>, Patrick Müller<sup>3</sup>, Jan Wehkamp<sup>2</sup>, Michael Schindler<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Institute of Medical Virology and Epidemiology, University Hospital Tübingen, Germany

<sup>2</sup> Department for Internal Medicine I, University Hospital Tübingen, Germany

<sup>3</sup> Friedrich Miescher Laboratory of the Max Planck Society, Tübingen, Germany

Congenital human cytomegalovirus (HCMV) infection is the most common viral infection during pregnancy. It's a major cause of disabilities like hearing loss or neurodevelopmental delay in children. The established antiviral treatment provokes severe adverse effects and resistance development and there is no evidence-based therapy for pregnant women and newborns. Produced by body's own cells, defensins are small cationic peptides which serve as antimicrobial effectors of the innate immune system. Antiviral activity has been depicted for various viruses including the herpes simplex virus 1.

Our approach relies on the recent observation that some defensins are cleaved by proteolysis, resulting in the generation of small defensin fragments with antimicrobial activity. Furthermore, as defensins are natural body peptides, we hypothesized that they might be well tolerated, even at high doses. Altogether, the major aim of this project is to identify small defensin-derived peptides with antiviral activity against HCMV and low cytotoxicity to be used as a novel antiviral treatment against HCMV infections in the future.

A set of defensin-derived fragments and their parental defensins were screened for antiviral activity against HCMV and potential cytotoxicity in fibroblasts via MTT. Hit defensins (> 90 % antiviral activity at 75 µM, low toxicity) were further characterized by determining their half maximal inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) against HCMV infection and their half maximal cytotoxic concentration (CC<sub>50</sub>) via the measurement of electrical impedance in fibroblasts, epithelial cells and myeloid cells. We identified one defensin-derived peptide with antiviral activity starting at 50 µM and without toxicity up to 150 µM and tested it for its antiviral activity against clinical isolates of HCMV. There was no difference between the antiviral activity against the laboratory-adapted HCMV strain and the clinical isolates, including one multiresistant isolate. Furthermore, we investigated its mechanism of action by testing derivatives with substituted amino acids. We determined which amino acids are crucial for the specific antiviral activity. Preincubation and time-of-addition assays indicate that there is a direct interaction between the peptide and the cells. Preliminary results using a dual fluorescent virus in a super resolution microscope suggest that the attachment step of the viral particles is blocked. Additional toxicity analysis using zebrafish embryos showed, that high peptide concentrations impair embryonic development in the first 24 hours and the hematopoietic stem cell formation, while low concentrations do not exhibit any influence on development. We further plan to analyze the structure of the peptide via NMR spectroscopy and to test the peptide against mouse cytomegalovirus (MCMV) infection for additional *in vivo* experiments. Altogether, defensin-derived peptides might represent a novel class of antivirals against HCMV.

## 26

**Der „non functional P2X<sub>7</sub>-Rezeptor“ in kindlichen soliden Tumoren**

A. Hein, J. Gesche, M. Stagno, J. Fuchs, S. Warmann, E. Schmid

Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin  
Tübingen**Einführung**

Der P2X<sub>7</sub>-Rezeptor ist ein homotrimerer, ATP-abhängiger Ionenkanal, welcher auf verschiedenen Zelltypen ubiquitär exprimiert wird und eine Bandbreite verschiedener Zellfunktionen, einschließlich Apoptose, Zellmigration und Zellproliferation, kontrolliert.

Es wird vermutet, dass in pädiatrischen soliden Tumoren neben dem regulären P2X<sub>7</sub>-Rezeptor ein durch Änderung seiner dreidimensionalen Struktur inaktivierter und somit nicht funktioneller nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor existiert. In Tumoren des Erwachsenenalters ist bekannt, dass bei Vorhandensein des nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptors essentielle regulierende Apoptosesignale fehlen, was die Tumorpherifation begünstigt. Dies wird dadurch begründet, dass der nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor durch die Konformationsänderung nicht mehr in der Lage ist bei hohen ATP-Konzentrationen eine Apoptose induzierende große Pore des Kanals zu formen. Durch diese Konformationsänderung wird ein spezifisches Epitop auf der Außenseite der Zellmembran ausgebildet, wodurch mit Hilfe spezifischer Antikörper der inaktivierte vom intakten Rezeptor unterschieden werden kann. In Tumoren des Erwachsenenalters konnte *in vitro* gezeigt werden, dass eine Bindung dieser spezifischen Antikörper an den nfP2X<sub>7</sub>-Rezeptor einen Zelltod *in vitro* induziert. Der nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor hat daher möglicherweise das Potenzial, als ein neuartiges und therapeutisches Ziel bei pädiatrischen soliden Tumoren zu dienen.

**Methoden**

Die Expression des nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptors wurde mit Hilfe der Durchflusszytometrie und Western Blots in kindlichen soliden Zelllinien (Rhabdomyosarkom, Ewing-Sarkom, Osteosarkom, Neuroblastom, Hepatoblastom, Hepatozelluläres Karzinom), sowie mit Immunhistochemie Färbungen von Paraffin-Gewebe in Tumorproben von Patienten mit Rhabdomyosarkom, Ewing-Sarkom, Osteosarkom, Neuroblastom, Hepatoblastom, Hepatozelluläres Karzinom und Wilms-Tumor analysiert. Anschließend wurde die Anti-Tumor Aktivität des Antikörpers gegen den nfP2X<sub>7</sub>-Rezeptor mit Viabilitäts-Assays, ADCC und Migration-Assays in kindlichen soliden Zelllinien (Rhabdomyosarkom) untersucht.

**Ergebnisse**

Alle untersuchten malignen pädiatrischen Tumorentitäten zeigten eine Expression des nfP2X<sub>7</sub>-Rezeptors in unterschiedlicher Stärke. Allerdings konnte bis jetzt keine Anti-Tumor Aktivität nach Inkubation des spezifischen Antikörpers gegen den nfP2X<sub>7</sub>-Rezeptors in kindlichen soliden Tumoren nachgewiesen werden.

**Zusammenfassung**

Der nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptor lässt sich auf sämtlichen untersuchten kindlichen Tumorzellen nachweisen. Dieser Rezeptor stellt möglicherweise ein spezifisches Target für kindliche solide Tumorzellen dar. Weitere Studien zur exakteren Analyse der Bedeutung des nf-P2X<sub>7</sub>-Rezeptors in kindlichen soliden Tumoren erscheinen auf der Basis unserer Ergebnisse gerechtfertigt.

## Antikancerogene Wirkung des Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase Inhibitors Istaroxime beim Rhabdomyosarkom und Rhabdoid Tumoren

H. Weil, M. Stagno, J. Fuchs, C. Stournaras, S. Warmann, E. Schmid  
Abteilung für Kinderchirurgie und Kinderurologie, Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen

Istaroxime ist ein validierter inotropischer Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase-Inhibitor, der sich derzeit in der klinischen Phase II für die Behandlung verschiedener Herzerkrankungen, speziell Herzinsuffizienz, befindet. Neuere Erkenntnisse weisen darauf hin, dass dieses steroidale Arzneimittel *in vitro* und *in vivo* starke apoptotische Signale bei Prostata-Tumoren auslöst, indem es die Proliferation und Apoptose durch die Schlüsselsignalwege wie z.B. c-myc und Caspase 3, Rho-GTPasen, die Ionenkanäle und die Aktin-Zytoskelett-Dynamik beeinflusst. Istaroxime inhibiert hierbei die Orai1- und Stim1- Expression auf Transkriptionsebene und regulierte die Orai1 Proteinexpression herunter. Darüber hinaus wurde SOCE (store-operated calcium channel) bei Behandlung mit Istaroxime deutlich gehemmt. Diese Ergebnisse liefern neuartige mechanistische Einblicke in die Regulierung des Anti-Migrations-Potenzials von Istaroxime bei Prostata Tumoren.

Die aktuellen Therapieverfahren bei kindlichen soliden Tumoren, speziell beim fortgeschrittenen Rhabdomyosarkom (RMS) und bei malignen Rhabdoid Tumoren (mRT), sind trotz intensiver Bemühungen limitiert, so dass in den letzten Jahren keine relevante Verbesserung der Prognose mehr erreicht werden konnte. Die Etablierung neuer Therapieverfahren ist somit dringend notwendig. Der Schwerpunkt unserer Forschung liegt daher in der Identifizierung von neuen Therapiestrategien, insbesondere für die fortgeschrittenen Tumorstadien. Eine vielversprechende neue therapeutische Option ist daher Istaroxime, auch in Kombination mit Chemotherapeutika.

In eigenen Versuchen in RMS- (RD und RH30) und mRT (A204)-Zelllinien zu Zellviabilität mittels MTT-Assay konnten wir nachweisen, dass Istaroxime als Monotherapie und in Kombination mit Doxorubicin, Vincristin und Carboplatin eine signifikante Reduktion der Zellviabilität verursacht, verglichen mit der Gabe von Doxorubicin, Vincristin und Carboplatin allein. Dies wird durch durchflusszytometrische Untersuchungen zur Apoptoseinduktion (Annexin/PI), bestätigt. Außerdem konnte eine signifikante Hemmung der Migration mittels SCRATCH Assay in RMS- und mRT-Zelllinien gezeigt werden, wenn sie in Kombination mit Istaroxime und Doxorubicin, Vincristin und Carboplatin behandelt wurden. Eine signifikante Abnahme der Koloniebildungsfähigkeit von RMS- und mRT-Zelllinien in Colony forming Assays (CFA) konnte ebenfalls nachgewiesen werden.

Zusammenfassend geben diese Ergebnisse Hinweise, dass Istaroxime zur Optimierung bzw. Ergänzung der bestehenden Therapie von fortgeschrittenen Rhabdomyosarkomen (RMS) und malignen Rhabdoid Tumoren (mRT) beitragen kann. Weitere Untersuchungen sind jedoch notwendig.

## Virotherapie neuroendokriner Tumoren

Linus D. Kloker, Susanne Berchtold, Ulrich M. Lauer

AG Virotherapie, Abteilung Innere Medizin VIII, Medizinische Universitätsklinik, Universitätsklinikum Tübingen

Neuroendokrine Tumoren (NETs) sind seltene Malignome des neuroendokrinen Systems, die aufgrund ihres langsamen Wachstums häufig erst in einem metastasierten Stadium entdeckt werden. In dieser Situation stehen bis dato nur palliative Therapieoptionen zu Verfügung, u.a. Somatostatin-Analoga, der mTOR Inhibitor Everolimus oder auch eine Peptid-Rezeptor Radiotherapie.

Onkolytische Virotherapie ist eine neuartige Unterform der Immuntherapie, bei der spezielle virale Vektoren verwendet werden, die möglichst selektiv Tumorzellen infizieren, darin replizieren und diese dabei zerstören. Dabei wird durch die Tumorantigen-Freisetzung in Kombination mit dem entzündlichen Milieu im Tumor das körpereigene Immunsystem gegen den Tumor aktiviert, was zu einer sekundären, immunvermittelten Antitumoraktivität führt.

In dieser Forschungsarbeit wurden zwei klinisch gut charakterisierte Virotherapeutika erstmals auf ihre Wirkung an Zelllinien von Pankreas und Lungen NETs sowie an Zelllinien von intestinalen NECs (neuroendokrine Karzinome) untersucht. Hierbei wurde zum einen das modifizierte Herpes-Simplex-Virus T-VEC evaluiert, welches in Deutschland bereits zur Therapie des metastasierten Melanoms zugelassen ist. Im Weiteren wurde die Wirkung des Pocken-Impfvirus basierten Virotherapeutikums GL-ONC1 getestet, das aktuell in klinischen Studien auf seine Wirksamkeit bei Kopf-Hals-Tumoren und Peritonealkarzinose getestet wird. Von beiden onkolytischen Viren wurde (i) in vitro die Zytotoxizität ermittelt, (ii) die Virusreplikation quantifiziert sowie (iii) die virale Transgenexpression nachgewiesen. Darüber hinaus wurden (iv) elektronenmikroskopische (EM) Bilder vom Replikationszyklus von T-VEC angefertigt. Im Hinblick auf eine Kombinationstherapie wurden (v) Interaktionen mit dem für metastasierte NETs zugelassenen mTOR Inhibitor Everolimus analysiert. Außerdem wurde (vi) die Wirkung des Virostatikums Ganciclovir auf T-VEC in NET Zellen untersucht, um bei einer möglichen überschießenden Virusreplikation effektiv entgegenwirken zu können. Darüber hinaus wurden (vii) erstmals sogenannte Tumor Organoide als eine mögliche Testplattform für die beiden Virotherapeutika evaluiert; dies hat zum Ziel, die tatsächliche klinische Tumorsituation präklinisch realistischer abbilden zu können als mit herkömmlichen Tumorzelllinien.

Es konnte sowohl onkolytische Aktivität als auch Replikation sowie Transgenexpression beider Viren in NET Zelllinien festgestellt werden, wobei T-VEC eine höhere Zytotoxizität bei niedrigeren Konzentrationen zeigte. Mittels EM konnte der Replikationszyklus und die Umhüllung von T-VEC Virionen nachvollzogen werden. Everolimus hatte keine negativen Einflüsse auf die Virusreplikation, so dass einer Kombinationstherapie nichts im Wege steht. Ganciclovir konnte in realistischen Konzentrationen die Virusreplikation von T-VEC effektiv hemmen. Tumor Organoide stellten sich als adäquate präklinische Testplattform für Virotherapeutika heraus, auf deren Basis ebenfalls Zytotoxizität, Virusreplikation und Transgenexpression evaluiert und verglichen werden können.

## **Nicht visuelle Effekte einer spektral modulierten Raumbelichtung auf Bewohner und Personal in Pflegeheimen**

*cand. med. Luisa Hoemann, cand. med. Johanna Brunner, cand. med. Louisa Silberkuhl, Prof. Dr. Udo Weimar, Dr. Alexander Haensch, Dipl. Ing. Thomas Heine (Institut für Physikalische Chemie), Prof. Dr. Gerhard Eschweiler, Jun.-Prof. Dr. Vanessa Nieratschker, Dr. Mihovil Mladinov (Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie), Prof. Dr. Barbara Steiner, Gabriele Hönes, Thomas Stäbler, Susanne Aeckerle (BruderhausDiakonie), Dr. Tobias Peters, Dr. Nadine Kahle, Prof. Dr. Barbara Wilhelm (Department für Augenheilkunde)*

Arbeitsgruppe Pupillenforschung am Department für Augenheilkunde Tübingen und die NiviL-Forschungsgruppe

Die NiviL (Nicht visuelle Wirkung von Licht)-Studie ist ein vom BMBF gefördertes deutschlandweites Projekt, in welchem an mehreren Standorten in Deutschland die nicht visuellen Effekte von Licht in verschiedenen Lebensbereichen und bei unterschiedlichen Zielgruppen erforscht werden. Das Tübinger Teilprojekt hat es sich zur Aufgabe gemacht, die Wirksamkeit einer technischen Problemlösung für mangelnde Tageslichtexposition älterer Menschen und Ihrer Pflegekräfte in Seniorenzentren zu untersuchen. Durch eine spektral modulierbare Studienbeleuchtung soll der Tageslichtverlauf imitiert und so ein positiver Effekt auf den Tag-Nacht-Rhythmus, die Schlafqualität, die Kognition und die Stimmung der Probanden erzielt werden. Der kurzweilige, „blaue“, Anteil der installierten Raumbelichtung wird vormittags erhöht und abends reduziert. Ziel ist, die Melatonin-Suppression am Morgen zu fördern und den Tag-Nacht-Rhythmus zu normalisieren. Die Arbeitsgruppe Pupillenforschung des Departments für Augenheilkunde Tübingen arbeitete gemeinsam mit dem Institut für physikalische Chemie Tübingen, der Universitätsklinik für Psychiatrie und Psychotherapie und der BruderhausDiakonie an dem auf drei Jahre angelegtem Projekt NiviL.

Nach der Pilotstudie im Winter 2015/16 im Seniorenzentrum Herzog Christoph in Bad Urach folgte die Hauptstudie mit jeweils zwei Messzyklen in den Wintern 2016/17 und 2017/18 im Seniorenzentrum Herzog Christoph in Bad Urach und dem Seniorenzentrum am Markwasen in Reutlingen. Stockwerke mit der Studienbeleuchtung wurden mit Stockwerken mit herkömmlicher Beleuchtung (Kontrolle) verglichen. Angewendet wurde der Pupillographische Schläfrigkeitstest (Entwicklung AG Pupillenforschung) zur Erfassung der zentralnervösen Aktivierung, sogenannte Object-Tracker zur Erfassung des Bewegungsprofils und der Lichtexposition ausgewählter Probanden (Luzian Wolf Technologieberatung Object-Tracker, Perchtoldsdorf, Österreich), eine Sleeptracker-App zum Aufzeichnen des nächtlichen Bewegungsmusters via Smartphones und Fragebögen, die den körperlichen, mentalen und kognitiven Gesundheitszustand und das Wohlbefinden der Probanden erfassten sowie Fragebögen zur Fremdbeobachtung durch das Pflegepersonal. Des Weiteren wurde ein einfacher Reaktionszeittest, AuReTim, eingesetzt. Sofern eine Einwilligung vorlag, wurden weitere invasive Messmethoden erhoben über Blut-, Speichel- und Haarproben. Die Messungen fanden hierbei pro Messwinter in den Wochen 3, 6 und 12 nach Einschalten der Studienleuchten statt.

Vorge stellt werden die Ergebnisse des Schlaf-Wach-Verhaltens, die Akzeptanz der Beleuchtung, die Tagesschläfrigkeit (PST), die Aufmerksamkeitsleistungen (AuReTim) und die tatsächliche Lichtexposition der Probanden (Aktivitätstracker).

## Mutationsanalyse als unterstützende Methode für die Unterscheidung des Subtyps des diffus großzelligen B-Zell Lymphoms anhand der Ursprungszelle

A. Mayer, J. Steinhilber, L. Quintanilla-Martinez, I. Bonzheim, F. Fend

Institut für Pathologie und Neuropathologie, Abteilung Allgemeine und Molekulare Pathologie und Pathologische Anatomie

Das diffus großzellige B-Zell Lymphom (DLBCL) ist das häufigste Non-Hodgkin-Lymphom bei Erwachsenen. Die mittlere 5-Jahres Überlebensrate beträgt ca. 70%, jedoch besteht aufgrund der genetischen und phänotypischen Heterogenität der Erkrankung eine große Varianz. Genexpressionsanalysen haben gezeigt, dass das DLBCL in drei Subgruppen unterteilt werden kann: in den ABC-Subtyp, den GCB-Subtyp und eine unklassifizierbare Gruppe. Da Studien gezeigt haben, dass der Subtyp erheblichen Einfluss auf die Prognose des Patienten hat, wurde die Subtypisierung in der WHO Klassifikation von 2016 für die Routinediagnostik empfohlen. Dabei stellt die Genexpressionsanalyse den Goldstandard für die Bestimmung der Ursprungszelle dar. Diese Methode kann jedoch nicht in allen Routinelaboren durchgeführt werden, deshalb kann alternativ die Immunhistochemie verwendet werden. Ein oft angewandter Algorithmus ist der Hans Algorithmus, bestehend aus den Färbungen für CD10, BCL6 und MUM1.

Das Ziel dieser Studie ist es, ein NGS Panel mit häufig mutierten Genen des DLBCLs zu etablieren und die Ergebnisse mit der anhand des Hans Algorithmus definierten Ursprungszelle zu vergleichen.

Für diese Studie wurden 62 Fälle vom DLBCL, NOS analysiert und mit Hilfe des Hans Algorithmus dem jeweiligen Subtyp zugeordnet. 34 Fälle gehören dem GCB Subtyp an und 28 Fälle dem non-GCB Subtyp. Für die molekularen Analysen wurde aus FFPE Material DNA extrahiert. Die Mutationsanalyse erfolgte mit einem Ion AmpliSeq™ custom NGS Panel, das 10 häufig mutierte Gene des DLBCLs abdeckte, auf der Ion Torrent PGM Sequenzierplattform. 46 Fälle zeigten mindestens eine Mutation, bei 16 Fällen konnte mit dem von uns verwendeten Panel keine Mutation gefunden werden. Am häufigsten zeigten sich Mutationen im Gen *PIM1*, dies lässt sich durch somatische Hypermutation erklären. 61% aller nonGCB Fälle zeigten eine *MYD88* und/oder *CD79B* Mutation, und keiner dieser Fälle zeigte eine *EZH2* Mutation. Des Weiteren zeigte sich in der GCB Subgruppe bei 29% der Fälle eine *BCL2* und/oder *EZH2* Mutation. Interessanterweise konnten wir vier GCB-Fälle mit einer *MDY88* und/oder *CD79B* Mutation identifizieren. Bei drei dieser vier Fällen fiel auf, dass sie bei allen drei immunhistochemischen Färbungen des Hans Algorithmus positive Ergebnisse zeigten. Insgesamt gab es neun Fälle in unserem Kollektiv, die drei positive Ergebnisse bei den immunhistochemischen Färbungen hatten. Diese zeigten in zwei Fällen keine Mutation, in drei Fällen eine *MYD88* und/oder *CD79B* Mutation, zwei Mal eine *IRF4* Mutation, eine *BCL2* Mutation und ein *CARD11* Mutation. Die beiden *IRF4* Mutationen stellen die einzigen *IRF4* Mutationen dar, die wir in der GCB Subgruppe gefunden haben.

Insgesamt stellt die Mutationsanalyse eine geeignete Methode dar, um die Subtypisierung des DLBCL zu unterstützen. Es konnte gezeigt werden, dass eine gute Korrelation zwischen einer *MDY88* oder *CD79B* Mutation und dem ABC Subtyp besteht. Ebenfalls zeigen sich im GCB Subtyp bevorzugt *BCL2* oder *EZH2* Mutationen. Auffällig ist eine Gruppe von Fällen des GCB-Subtyps, die aufgrund der Mutationsanalyse eher der ABC-Ursprungszelle anzugehören scheint, als der mit dem Hans Algorithmus definierten GCB-Ursprungszelle. Für diese Gruppe sind weitere Analysen geplant.

## Genetic evolution of clonally related in situ follicular neoplasia to diffuse large B-cell lymphoma of germinal center subtype

Antonio Vogelsberg<sup>1</sup>, Julia Steinhilber<sup>1</sup>, Irina Bonzheim<sup>1</sup>, Janine Schmidt<sup>1</sup>, Barbara Mankel<sup>1</sup>, Birgit Federmann<sup>1</sup>, Maria Rodriguez-Pinilla<sup>2</sup>, Miguel A. Piris<sup>2</sup>, German Ott<sup>3</sup>, Leticia Quintanilla-Martinez<sup>1</sup>, Falko Fend<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Pathology and Neuropathology, University Hospital and Comprehensive Cancer Center Tuebingen, Tuebingen, Germany

<sup>2</sup>Department of Pathology, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

<sup>3</sup>Department of Clinical Pathology, Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart, Germany

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) NOS is the most common form of non-Hodgkin lymphoma (NHL) and can be subdivided into germinal center B-cell (GCB) and activated B-cell type. DLBCL can arise as a transformation from indolent B-NHL, most commonly follicular lymphoma (FL), or manifest *de novo*. For *de novo* cases, no precursor lesion is known. In contrast, in situ follicular neoplasia (ISFN) is well recognized as a precursor of FL. Based on the fact that DLBCL of GCB type frequently carries the translocation t(14;18)(q32;q21) that is characteristic for FL and ISFN and can develop as a transformation from FL, we speculated that some cases of DLBCL may be derived from ISFN without clinically recognized FL as an intermediate stage. Thus, in this study we aimed to identify ISFN in patients with *de novo* or transformed DLBCL of GCB type to analyze the clonal relationship and potential evolution from ISFN to DLBCL.

We searched our archive for DLBCL of GCB type with or without antecedent FL, for which reactive lymphoid tissue from any point in time was available. ISFN were identified by BCL2 staining and FISH to detect *BCL2* rearrangements. The clonal relationship was investigated by standard clonality analysis, sequencing of the t(14;18) breakpoint and next generation sequencing (NGS) using the LymphoTrack Assay (Invivoscribe). 22 genes frequently mutated in FL and DLBCL were analyzed using custom NGS panels.

Nine paired cases of DLBCL/ISFN were identified, with four *de novo* DLBCL and five transformed from FL. In two of these cases, focal FL was only identified retrospectively in the BCL2 stains of the “reactive” tissues. For eight cases, a clonal relationship was firmly established, whereas it was implied in case 7 by a *KMT2D* mutation shared between the *de novo* DLBCL and the ISFN. In case 1, the ISFN already carried a *CREBBP* mutation, whereas the related *de novo* DLBCL gained further mutations in *KMT2D*, *BCL2* and *TP53*. Case 2 showed surprising complexity with shared mutations in *TNFRSF14*, *HIST1H1D*, *EP300* and *BCL2* in ISFN and DLBCL lesions 13 years apart. In total, five cases revealed evidence for a divergent evolution. This includes case 4, where the divergence of subclones was indicated by an exclusive *CARD11* mutation in the ISFN.

Our study demonstrates for the first time that DLBCL of GCB type can arise from ISFN as a clonally related precursor lesion without a clinically evident FL as an intermediate step. In addition to the defining t(14;18), the ISFN can already harbor a significant number of secondary alterations. Similar to the clonal evolution and transformation of manifest FL, branched evolution seems to be common in the progression from ISFN to DLBCL.

**Characterization of the role of *LIN9* in acute leukemia**

Sara Dreher, Lara Haeusser, Lothar Kanz, Marcus Schittenhelm, Kerstin Kampa-Schittenhelm

Abteilung für Innere Medizin II

Previous studies of our group have identified *LIN9* as a potential regulator of proliferation and differentiation in AML signaling. So far, *LIN9* was shown to be crucial during early embryonic development and functions as a haploinsufficient tumor suppressor in a mouse model. Furthermore, *LIN9* has been linked to the control of proliferation and cell cycle checkpoints in embryonic stem cells. However, virtually nothing is known about a potential role of *LIN9* in leukemia – which we address herein. We have determined mRNA and protein expression of *LIN9* in primary AML patient as well as healthy bone marrow donor samples. Protein expression levels were assessed using Western immunoblotting and intracellular flow cytometry immunophenotyping, while mRNA levels were assessed by qRT-PCR. To determine the role of *LIN9* in basic functions of cellular growth and sensitivity profiles towards leukemia therapy, apoptosis and differentiation, we have established stable retroviral *LIN9* shRNA knock-down (KD) and CRISPR/CAS knock-in (KI) models of defined cell lines (Jurkat, HL60, MOLM14).

Interestingly, *LIN9* expression levels varied widely in the leukemia cohort (rel. range 0,1- 30, n=60) – whereas donor samples clustered around a rel. expression of 1 (range 0,5-2,0, n=20). Subcohort analysis according to expression levels and clinical characteristics argue for a functional role of aberrantly expressed *LIN9* in a subset of leukemia patients. Consequently, the functional KD/KI models demonstrate that the cell doubling time is significantly decreased in the KD strains (50% after 72 hours compared to empty vector (EV) controls) – while KI results in an increased proliferation rate (1,5-fold increase after 72 hours incubation time compared to EV strains). We further tested the capacity of *LIN9* to affect induction of apoptosis following anthracycline treatment. Even though *LIN9* KD strains trended to higher apoptosis rates compared to the EV controls, vice versa KI models displayed attenuated apoptosis in response to anthracyclines – these observed effects were rather moderate.

Of note, *LIN9* was found to contribute to overriding the differentiation blockage in a known leukemia cell line model for cellular maturation (MOLM14, FLT3 ITD) affecting CEBPA expression.

Together, these data provide the basis for further investigation of the *LIN9* signaling networks, which may be therapeutically targetable in the future.

## The impact of antibiotic pressure on the phenotypic evolution of clinical antibiotic resistant - *Pseudomonas aeruginosa* in a Morbidostat device

B. Jentzsch, M. Javed, M. Willmann

Institute of Medical Microbiology and Hygiene, Tübingen, Germany  
German Center for Infection Research (DZIF), partner site Tübingen, Tübingen, Germany

**Introduction:** *Pseudomonas aeruginosa* is a critical pathogen in hospitals causing bloodstream infections in immunocompromised patients, especially due to its biofilm formation on clinical devices. Colistin is a last-resort antibiotic against *P. aeruginosa* interacting with the bacterial cell wall. It is still unknown, whether mutations that alterate cell wall composition and lead to colistin resistance would also lead to changes in biofilm formation and virulence. Evolution towards colistin resistance in *P. aeruginosa* might furthermore be enhanced by a combination therapy with metronidazole, a drug presumably increasing the mutation frequency.

**Objectives:** The aim of the study was to explore the link between antibiotic exposure and biofilm formation and virulence.

**Material & Methods:** As a continuous culture device, a morbidostat was used to expose several clinical strains to three antibiotic conditions - colistin, colistin & metronidazole, and metronidazole - and to create samples with various colistin resistance levels. Biofilm assays were performed using the peg-lid method to detect the amount of viable cells. To quantify the virulence, the *Galleria mellonella* infection model was used.

**Results:** Three clinical *P. aeruginosa* isolates were incubated in the morbidostat. Over a three week timeframe, we collected samples from the morbidostat cultures. This provided us with a total of 81 *P. aeruginosa* strains with different colistin resistance levels. These evolved strains were further investigated and compared to their baseline strains that were not cultured in the morbidostat.

The biofilm experiments showed that the number of viable cells in the biofilm measured using the peg-lid method increased heavily under colistin exposure in the highly colistin resistant samples (MIC  $\geq 16\mu\text{g/ml}$ ). There was much less or no increase in the metronidazole only conditions, and no increase in the medium run samples.

In terms of virulence, the medium run as well as the metronidazole only condition samples showed a trend of attenuation in the *Galleria mellonella* infection model. On the other hand, 9 out of 22 highly colistin resistant strains (MIC  $\geq 16\mu\text{g/ml}$ ) showed a significant reduction ( $p < 0,05$ ) of up to 91,5% in death rates compared to the medium run samples.

**Conclusion:** The morbidostat allowed us to create colistin-resistant *P. aeruginosa* strains with a wide range of MICs. Congruent to colistin resistance, the strains produced more biofilm containing more viable cells and were less virulent. Thus, these strains carry a higher risk of bacteremia for patients with clinical devices coated with biofilm but might be less pathogenic.

## Invariant natural killer T cells from donor lymphocyte infusions (DLI-iNKTs) contribute to anti-tumor immunity after allogeneic hematopoietic cell transplantation

Simona Jahnke<sup>1</sup>, Hannes Schmid<sup>1</sup>, Kathy-Ann Secker<sup>1</sup>, Silke Dürr-Störzer<sup>1</sup>, Hildegard Keppeler<sup>1</sup>, Rebecca Baur<sup>2</sup>, Michael Schumm<sup>3</sup>, Wolfgang Bethge<sup>1</sup>, Corina Schneidawind<sup>1</sup>, Dominik Schneidawind<sup>1</sup>

1) Department of Hematology and Oncology, University Hospital Tuebingen, Tuebingen, Germany

2) Department of Hematology and Oncology, University of Erlangen-Nuremberg, Erlangen, Germany

3) Department of Hematology and Oncology, Children's University Hospital, Tuebingen, Germany

Allogeneic hematopoietic cell transplantation (HCT) is a curative treatment option for hematologic malignancies but relapse remains the most common cause of death. Infusion of donor lymphocytes (DLIs) can induce remission and prolong survival by exerting potent graft-versus-leukemia (GVL) effects. However, sufficient tumor control cannot be established in all patients. We showed previously that invariant natural killer T (iNKT) cells promote anti-tumor immunity in murine models of allogeneic HCT without exacerbating graft-versus-host disease (GVHD).

We therefore studied iNKT cells in DLIs and investigated how culture-expanded iNKT cells from such DLIs (DLI-iNKTs) could lyse leukemia cells. We analyzed 63 cryopreserved DLI samples by flow cytometry. iNKT cells were identified using the PBS57-loaded CD1d tetramer. Under steady state conditions, iNKT cells represent 0.04% (range, 0.01-0.6) of live donor lymphocytes and need to undergo *ex vivo* expansion for further experiments and clinical application. We established a two-week protocol resulting in a 300-fold expansion of functional DLI-iNKTs with a purity of 94%. Interestingly, we observed a preferential expansion of CD4+ DLI-iNKTs. This subset turned out to be critical for tolerance induction and prevention of GVHD after allogeneic HCT. For degranulation and leukemia cell lysis assays, culture-expanded DLI-iNKTs were co-cultured with leukemia cells. CD107a as a marker of degranulation and iNKT-cell activity was upregulated on DLI-iNKTs upon engagement with leukemia cells that were subsequently lysed in a dose-dependent manner. We also observed an increased release of cytokines like IFN- $\gamma$  (85 vs. 7 pg/ml,  $p=0.04$ ). Moreover, the cytotoxic effects of culture-expanded DLI-iNKTs were CD1d-dependent: blocking the interaction between the MHC-I-like molecule CD1d and the T-cell receptor of DLI-iNKTs abrogated iNKT-cell degranulation and efficient leukemia cell lysis.

Our results suggest that iNKT cells from DLIs are involved in anti-tumor immunity after allogeneic HCT and therefore may reduce the risk of relapse and improve progression-free and overall survival. Prior expansion of iNKT cells could promote beneficial effects on tumor control, immune tolerance and overall survival.

## Characterization of tumour radiation sensitivity in Glioblastoma multiforme tumorids and corresponding Glioblastoma stem cell culture

Riedel A.<sup>1</sup>, Klumpp L.<sup>1</sup>, De-Colle C.<sup>1</sup>, Schittenhelm J.<sup>2</sup>, Huber S.<sup>1</sup>, Zips D.<sup>1</sup>

1 Universitätsklinik für Radioonkologie Tübingen 2 Institut für Pathologie und Neuropathologie

**Introduction:** Radiotherapy is a cornerstone of Glioblastoma multiforme (GBM) therapy today. Despite of technical and medical improvements in therapy the prognosis still remains poor. GBMs represent a very heterogeneous group of malignancies. Based on data from The Cancer Genome Atlas (TCGA) four molecular biologic subtypes (proneural, neural, mesenchymal and classic) were identified. Therefore it can be assumed that the intertumoural treatment response is very heterogeneous. An underlying reason for therapy resistance and different therapy response could be the presence of a stem cell like subpopulation (GSCs). The aim of this study is to investigate intertumoural differences in tumour radiation sensitivity of ex-vivo tumorids and the corresponding Glioblastoma stem cell culture.

**Methods:** After surgical resection one part of the specimen was used for the tumorid ex-vivo assay. The other part was used for isolating cells for stem cell culture. The specimens were cultivated for 24 hours in culture medium, followed by an irradiation with 0, 4 or 8 Gy. After further 24 hours the samples were fixed in formaldehyde. Following this a Pimonidazol/BrDU and  $\gamma$ H2AX-staining was performed. The tumour radiation sensitivity was measured by the number of DNA-double-strand breaks per nucleus and dose.

**Results:** In this experimental study we could demonstrate intertumoural radiation sensitivity differences in patient derived GBM tumorids and their corresponding cancer stem cell culture. Furthermore, free floating spheres appear to be more resistant than the corresponding tumorids. In contrast, attached spheres were more sensitive. They displayed more residual DNA double-strand breaks.

**Discussion:** The derived free floating sphere cultures show an extremely resistant subpopulation of the tumour. It can be assumed, due to its enormous therapy resistance, that this population could be the reason for fast relapse. Attached spheres are a different phenotype of gliospheres. Interestingly, they respond better on radiation. These findings suggest that the micromilieu could be a determining factor in radiation response.

**Die Rolle von Prostin bei der Regulation des epithelialen Natriumkanals (ENaC) unter physiologischen Bedingungen und beim nephrotischen Syndrom der Maus**

D. Essigke; B. N. Bohnert; M. Xiao; A. Janessa; R. Szabo<sup>1</sup>; T. H. Bugge<sup>1</sup>; F. Artunc  
Sektion Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Medizinische Klinik IV, Tübingen, Tübingen, DEUTSCHLAND;

<sup>1</sup> Proteases and Tissue Remodeling Section, Oral and Pharyngeal Cancer Branch, NIH NIDCR, Bethesda, MD, USA;

**Ziel:**

Prostin ist eine distal tubulär exprimierte Serinprotease, die unter physiologischen Bedingungen den epithelialen Natriumkanal (ENaC) regulieren kann. Der ENaC spielt bei Salzkonservierung und Volumenretention im nephrotischen Syndrom (NS) eine entscheidende Rolle. Über die genaue Beteiligung von Prostin an der *in vivo* Funktion des ENaC ist noch nichts bekannt.

**Methode:**

Zur Klärung der physiologischen Rolle und einer Beteiligung bei der Volumenretention im NS wurden zwei Mauslinien mit gentechnisch verändertem Prostin-Gen (Prss8) untersucht. Bei der Prss8-R44Q-knockin (ki)-Maus ist Prostin nicht aktivierbar, bei der Prss8-S238A-ki Maus liegt das aktive Zentrum inaktiviert vor. Die Phänotypisierung erfolgte im metabolischen Käfig unter Niedrigsalz (LS)- und Niedrigsalz/Hochkalium (LS/HK)-Diät sowie unter diuretischer Behandlung (HCT, Furosemid und Triamteren). Die Induktion des NS erfolgte durch eine einmalige Injektion von Doxorubicin (14,5 µg/g KG).

**Ergebnisse:**

Die Salzkonservierung unter LS- und LS/HK-Diät war bei beiden ki-Mäusen erhalten, wobei die R44Q-ki-Mäuse im Vergleich zum Wildtyp hierfür ein 3- bzw. 5-fach erhöhtes Plasma-Aldosteron benötigten, nicht jedoch die S238A-ki-Mäuse. Die Triamteren-Gabe wurde von wt- und S238A-ki-Mäusen mit mäßigem Gewichtsverlust toleriert (-11±2% vs. -11±2%, p=0,93). R44Q-ki-Mäuse entwickelten jedoch ein Salzverlust-Syndrom (Gewichtsverlust -24±2%, p<0,001) mit prärenalem Nierenversagen (Plasma-Harnstoff >150 mg/dl), Hyperkaliämie bis 9 mM und metabolischer Azidose (pH<7,1); HCT und Furosemid wurden hingegen toleriert. Nach Doxorubicin-Injektion entwickelten beide ki-Mäuse eine zu den wt-Mäusen vergleichbare nephrotische Proteinurie > 140 mg/mg Krea. Im Folgenden fand sich kein Unterschied in der Volumenretention (>+20% KG) und ENaC-Aktivierung (minimales Urin-Na <15 µmol/mg Krea) zwischen den ki- und wt-Mäusen.

**Schlussfolgerung:**

Prostin spielt unter physiologischen Bedingungen eine Rolle bei der Regulation des ENaC. Mäuse mit nicht-aktivierbarem Prostin (Prss8-R44Q) zeigen unter Belastung einen kompensatorischen Hyperaldosteronismus und sind gegenüber einer ENaC-Blockade intolerant. Für die ENaC-Aktivierung im Rahmen des nephrotischen Syndroms ist Prostin mit der Aktivierungsstelle R44Q nicht essenziell.

## Evaluation of Novel Tumor Senescence-specific PET Tracers

Nils Trautwein

### Einleitung:

Zelluläre Seneszenz ist als Zellzyklusstopp bekannt. In den letzten Jahren haben sich viele Forschungsgruppen auf Seneszenz als tumorsuppressiven Mechanismus als Alternative zur Apoptose konzentriert. Durch unterschiedliche Stress Stimulationen können verschiedene Arten der Seneszenz entstehen, zwei der bekanntesten Arten sind die Therapie- und die Onkogen-induzierte Seneszenz. Beide Arten spielen eine wichtige Rolle in der Chemotherapiebehandlung von Krebspatienten. Die non-invasive Detektion und Quantifikation von seneszenten Zellen ist ein wichtiger Schritt um in Zukunft Chemotherapien zu monitoren.

Bisher ist die Seneszenz Detektion auf *ex vivo* oder *in vitro* Zellen limitiert.

Daher wurde von unserem Institut zwei PET-Tracer zur *in vivo* Markierung von Seneszenz entwickelt. [<sup>18</sup>F]FPyGal und [<sup>18</sup>F]FEFuc beide interagieren mit zwei lysosomalen Glycosidasen. Das Ziel meiner Arbeit war die Etablierung des Tracers für *in vitro* und *in vivo* Tumormodelle.

### Methoden:

Es wurde einen Westernblot etabliert um die erhöhte Fucosidase in seneszenten Zellen zu erkennen und eine Korrelation mit dem Tracer-Uptake zu erstellen.

*In vitro*, [<sup>18</sup>F]FEFuc wurde an HCT116 und drei Leberzelllinien(AMP19, NRAS, HRAS) getestet. Bei allen wurde ein Vergleich zwischen Kontrollzellen und seneszenten Zellen gemacht.

Nach 40 Minuten Tracerinkubation, wurden die Zellen dreimal gewaschen und dann im Gammacounter gemessen.

*In vivo*, wurden die unterschiedlichen Zellen subkutan injiziert und dann wurde Seneszenz induziert.

Danach wurde der [<sup>18</sup>F]FEFuc Tracer intravenös verabreicht und ein PET-Scan, eine MR Anatomie und eine Autoradiographie gemacht.

### Ergebnisse:

Wir konnten durch Westernblots zeigen, dass die  $\alpha$ -Fucosidase in allen Zellen erhöht ist.

*In vitro*, korrelierte der Tracer-Uptake mit der Seneszenzinduktion. Der Uptake war in allen seneszenten Zellen deutlich erhöht.

*In vivo*, konnte in mehreren Modellen ein erhöhter Tracer-Uptake für die behandelten Mäuse gezeigt werden. Weiterhin war auch der Tracer-Uptake für eine Fucosidase überexprimierte Zelllinie erhöht.

### Diskussion:

Die *in vitro* und *in vivo* Studien zeigen das Potential des neuen [<sup>18</sup>F]FEFuc tracer zur Seneszenz Detektion. Diese Daten müssen nun mit denen des [<sup>18</sup>F]FPyGal Tracers verglichen werden.

## Bedeutung verschiedener Ursprungszellen und Fusionspartner für die Entstehung von *MLL*-translozierten Leukämien

Lukas Bruns<sup>1</sup>, Kathy-Ann Secker<sup>1</sup>, Hildegard Keppeler<sup>1</sup>, Barbara Manke<sup>2</sup>, Dominik Schneidawind<sup>1</sup>, Corina Schneidawind<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Innere Medizin II, Universitätsklinik Tübingen, Eberhard-Karls Universität Tübingen

<sup>2</sup>Institut für Pathologie und Neuropathologie, Universitätsklinik Tübingen, Eberhard-Karls Universität Tübingen

**Hintergrund:** *MLL*-Translokationen spielen eine wesentliche Rolle in der Entstehung von Leukämien und sind mit einer schlechten Prognose assoziiert. Die Häufigkeit, mit der spezifische Mutationen im *MLL*-Gen auftreten, hängt vom Lebensalter ab: *MLL*-Leukämien machen nahezu 80% aller Akuten Lymphatischen Leukämien (ALL) im Kleinkindesalter aus mit *AF4* als vorrangigen Fusionspartner, wohingegen bei den Erwachsenen 5-10% aller Akuten Myeloischen Leukämien (AML) mit dem Fusionspartner *AF9* zu verzeichnen sind. Es ist unklar, weshalb *MLL*-Translokationen mit unterschiedlichen Phänotypen assoziiert sind und eine höhere Prävalenz im Kleinkindesalter aufzeigen. Es liegt nahe, dass der Fusionspartner (*AF4* vs. *AF9*) und/oder die Ursprungszelle die entscheidende Rolle spielt. Um neue Therapieansätze entwickeln zu können, ist es notwendig, die einzelnen Schritte der *MLL*-Leukämogenese besser zu verstehen und hierbei den Einfluss der Ursprungszelle und der beiden häufigsten Translokationspartner *AF4* und *AF9* zu untersuchen. Da Patientenzellen *ex vivo* schnell ausdifferenzieren und bereits mehrere zusätzliche Mutationen akkumuliert haben, sind diese für unser Vorhaben ungeeignet. Mithilfe der Genschere CRISPR/Cas9 ist es in dieser Studie gelungen, ein innovatives Leukämiemodell mit *MLL-AF4*- und *MLL-AF9*-Translokationen in humanen hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen aus adultem Knochenmark zu etablieren, diese näher zu charakterisieren und mit früheren Ergebnissen dieses Modells mit Nabelschnurblutzellen zu vergleichen.

**Methoden:** Durch das CRISPR/Cas9-System wurden zeitgleich Doppelstrangbrüche zur Induktion von Translokationen in hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen in den Genen *MLL* und *AF4* sowie *MLL* und *AF9* erzeugt. Die Zellen wurden zuvor mittels Dichtegradientenzentrifugation und CD34-positiver magnetischer Zellseparation aus humanem adultem Knochenmark gewonnen. Die Translokation wurde zum Nachweis mittels PCR vervielfältigt und sequenziert (Sanger-Sequenzierung). Nach Erreichen eines onkogenen Proliferationsvorteils wurde die Translokation mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) quantifiziert. Die Charakterisierung der Tumorzellen erfolgte anschließend anhand der Morphologie (Zytozentrifugation und May-Grünwald-Giemsa-Färbung), des Immunphänotyps (Durchflusszytometrie), der Expression des Fusionsprodukts (Reverse-Transkriptase-PCR) und der *MLL*-Zielgene (quantitative PCR).

**Vorläufige Ergebnisse:** Patientenspezifische *MLL-AF4* und *MLL-AF9* Zellen konnten mit hoher Translokationseffizienz in CD34+-Knochenmarkszellen generiert werden. Diese zeigten einen deutlichen Proliferations- und Überlebensvorteil *in vitro*. Die Zellen wiesen eine blastenähnliche Morphologie auf und konnten einem myelomonzytären Immunphänotyp mit erhöhter Expression von CD117 und einer erniedrigten Expression von CD14 im Vergleich zu den Kontrollzellen als Zeichen der Unreife zugeordnet werden. Die Ergebnisse der qPCR-Analyse bestätigten eine erhöhte Expression von *MLL*-Zielgenen, wie *HOXA9* und *MEIS1*, welche in ihrem Ausmaß mit Patientenproben vergleichbar waren.

**Zusammenfassung und Ausblick:** Unsere durch das CRISPR/Cas9-System generierten *MLL-AF4* und *-AF9* Translokationen in humanen hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen stellen ein wirklichkeitsgetreues Modell der *MLL*-Leukämogenese dar und bieten die Möglichkeit für weiterführende Experimente, um den Einfluss der unterschiedlichen Translokationspartner *AF4* und *AF9* sowie der Ursprungszellen Knochenmark und Nabelschnurblut für die Entstehung *MLL*-translozierter Leukämien zu untersuchen.

## **Etablierung einer neuen Methode zur nadellosen Injektion von Myoblasten in den Harnröhren-Verschlussapparat am Großtiermodell der Blaseninkontinenz**

**Vera Rothfuß**

*Zentrum für Medizinische Forschung, Universitätsklinik für Urologie*

Blaseninkontinenz ist ein Thema, das weltweit ca. zweihundert Millionen Menschen betrifft. Dabei stellt die Belastungsinkontinenz, welche vor allem durch unfreiwilligen Harnabgang bei Steigerung des intraabdominellen Drucks gekennzeichnet ist, die prozentual häufigste Form dar. Es gibt eine Vielzahl verschiedener Behandlungsoptionen, sowohl konservativ als auch invasiv. Allerdings stellt keine der bisher etablierten Therapien eine Heilung bzw. Ursachenbehebung der Belastungsinkontinenz dar. Die effektivste Therapie der hochgradigen Belastungsinkontinenz stellt momentan der artifizielle Sphinkter dar, welcher jedoch mit verschiedenen schwerwiegenden Nebenwirkungen assoziiert ist.

Aus diesem Grund wird vermehrt an zellbasierten Therapien der Belastungsinkontinenz geforscht. In einem Review von M. Vaegler et al. wurden Therapien mit verschiedenen Zelltypen verglichen. Hierbei konnte belegt werden, dass sowohl die urethrale Injektion von adipösen mesenchymalen Stammzellen (ADSCs) oder mesenchymalen Stammzellen aus Knochenmark (BMSCs), als auch von muskulären Stammzellen (MDSCs) eine deutliche Verbesserung der urethralen Sphinkterfunktion bewirkt. Da durch die Nadelinjektion allerdings auch Verletzungen der Urethra und des umliegenden Gewebes entstehen können, wird momentan an einem alternativen Injektionsverfahren geforscht – der Wasserstrahlinjektion. Dieses Verfahren wurde von der Forschungsgruppe von Herrn Prof. Aicher der Universitätsklinik für Urologie in Zusammenarbeit mit der Firma Erbe erfolgreich mit porcinen und humanen mesenchymalen Stammzellen (MSCs) getestet. Die Vitalität der unmarkierten Zellen lag nach Versprühen mit Wasserstrahl in Medium bei durchschnittlich 80%, die der PKH26-markierten Zellen war etwas geringer. Um dieselben Tests mit muskulären Vorläuferzellen (MPCs) durchzuführen, wurden Zellen aus porciner Skelettmuskulatur isoliert und expandiert. Nach Charakterisierung via RT-PCR und Immunfluoreszenzfärbung wurden die Zellen mit dem Fluoreszenzfarbstoff PKH26 markiert und sowohl in Kadavergewebe, als auch in Medium versprüht. Dabei fiel auf, dass die MPCs deutlich instabiler als MSCs sind, besonders wenn sie mit PKH26 markiert wurden. Die Vitalität war bei Injektion von unmarkierten und PKH26 markierten MPCs durch Wasserstrahl in Medium geringer im Vergleich zu den MSCs. Auch bei Injektion der MPCs ins Kadavergewebe konnte anhand von Kryoschnitten eindeutig festgestellt werden, dass die Zellen nach Wasserstrahlinjektion mit dem aktuellen Verfahren nicht mehr vital waren. Das rot gefärbte Zytoplasma der PKH26-markierten Zellen war im Schnitt disseminiert verteilt und auch die mit DAPI angefärbten Zellkerne waren teilweise zerrissen. Im Gegensatz dazu konnten die MPCs nach Nadelinjektion genau lokalisiert und vom übrigen Gewebe abgegrenzt werden. Dieses vorläufige Zwischenergebnis muss allerdings noch mit weiteren Versuchsdurchgängen und Studien verifiziert werden. Aufgabe der weiteren Forschung ist daher, zunächst mit anderen Färbemethoden als PKH26 zu prüfen, ob Myoblasten mit höherer Vitalität im Wasserstrahl in Medium und Kadavergewebe versprüht werden können. Zudem müssten gegebenenfalls die Parameter des Wasserstrahlverfahrens (z.B. Düse, Design, Druck, usw.) auf diese Zellen angepasst werden.

## **B-Zell-vermittelte Immunregulation – Mechanismen zur Toleranzentwicklung durch den Pathobionten *E. coli***

**C. Trostel, J. Maerz, A. Schäfer und J. Frick**

Abteilung Mukosale Immunität und Mikrobiom, AG Frick, Interfakultäres Institut für Mikrobiologie und Hygiene Tübingen

Dieses Promotionsprojekt in der Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. Julia-Stefanie Frick im Mikrobiologischen Institut in Tübingen beschäftigt sich mit den immunregulatorischen Mechanismen der Immunantwort, also der körpereigenen Immunsuppression. Zudem untersuchen wir die Effekte, die Symbionten wie *Bacteroides vulgatus* und fakultative Pathogene wie *Escherichia coli* auf die Immunhomöostase haben.

Im Speziellen beschäftigen wir uns mit der Entwicklung und dem Phänotyp verschiedener regulatorischer B-Lymphozyten (Bregs) und deren direkten und indirekten Interaktionen mit anderen Zellen des Immunsystems nach Antigenkontakt. Im Detail analysieren wir die Rolle der B-Zellen als professionelle Antigen-präsentierende Zellen und die damit verbundene Sekretion von spezifischen Botenstoffen (Zytokine).

Bisher konnten wir zeigen, dass eine Stimulation von murinen, naiven B-Zellen mit *E. coli* zu einer signifikanten Induktion von diversen Breg-Subtypen führt, im Vergleich zu einer Stimulation mit *B. vulgatus*. Diese Bregs sekretieren gesteigerte Mengen des anti-inflammatorischen Zytokins Interleukin-10. Zusätzlich konnten wir auch eine erhöhte Expression von membrangebundenen Proteinen mit anti-inflammatorischen Eigenschaften, wie bspw. PD-1-Ligand, Fas-Ligand, CD73 und Tim-1 nachweisen.

In *in vitro* Experimenten konnten wir zeigen, dass das Priming von B-Zellen mit *E. coli* und die dadurch induzierte Differenzierung zu Bregs (I.) die Aktivierung und Proliferation von T-Zellen unterdrückt, (II.) die Polarisation von T-Zell-Phänotypen beeinflusst (Th1, Th2, Th17 und Tregs) und (III.) die Maturation von zusätzlichen Antigen-präsentierenden Zellen (Dendritische Zellen), die für eine potente T-Zell-Aktivierung verantwortlich sind, verhindert.

Daraus ergibt sich die Schlussfolgerung, dass der fakultativ pathogene Bakterienstamm *E. coli* mpk in seiner Rolle als Symbiont des Organismus Gegenregulationsmaßnahmen gegen die selbst-induzierte Immunaktivierung nutzt, um Toleranz zu erzeugen. Wir sprechen daher auch von *E. coli* als einem Pathobiont.

Ziel dieser Forschung ist die Entschlüsselung von Prozessen die bei einer dysregulierten Immunreaktion beteiligt sind und die daraus resultierend nicht selten zu Autoimmunerkrankungen führen. Die Kenntnis des Zusammenwirkens aller Faktoren, die an der Homöostase der Immunantwort beteiligt sind, ist elementar für ein zukünftiges Verständnis von Autoimmunerkrankungen in den Bereichen Diagnose, Klassifikation und Therapie.

## **Evaluierung der kontaktlosen Raman-Mikrospektroskopie für das Monitoring und die Bestimmung der funktionellen Gewebepenetrationstiefe der Behandlung mit physikalischem Niedertemperaturplasma basierend auf primärem und patientenspezifischem Gewebematerial**

T. Wenzel, D. Carvajal Berrio, K. Schenke-Layland, M. Weiss

Department für Frauengesundheit, AG Schenke-Layland, Tübingen

Ziel der Studie ist es, die funktionelle Gewebepenetrationstiefe einer Behandlung mittels physikalischem Niedertemperaturplasma (CAP) zu ermitteln. Hinsichtlich einer wünschenswerten In-vivo Anwendung von CAP ist dies eine wichtige Fragestellung. Besondere Relevanz hat dieses Forschungsprojekt für die CAP Behandlung von sog. zervikalen intraepithelialen Neoplasien (CIN) der Grade I und II. Hierfür werden Patientinnen zur Prävention des Zervixkarzinoms häufig sehr invasiv und unter Vollnarkose per Konisation oder Laserverödung behandelt. Speziell für diese Gruppe stellt die CAP-Behandlung eine bedeutende Alternative dar, aufgrund der schmerzlosen, non-invasiven und ambulanten Durchführbarkeit. Darüber hinaus bietet die Exploration der Eindringtiefe auch Anhaltspunkte für eventuelle weitere Anwendungsgebiete des CAP, wie etwa in der Dermatologie und Gastroenterologie sowie für weitere Indikationen innerhalb der Gynäkologie. Das zweite Ziel dieser Studie ist die Evaluation der Raman-Mikrospektroskopie als ein geeignetes Analyseverfahren zum klinischen Monitoring der Gewebeplasmaeffekte.

Methodisch erfolgte eine dosisabhängige (2 min, 5 min) Ex-vivo Plasmabehandlung mit unterschiedlichen Plasmaquellen (kINPen med®, Neoplas tools und APCIII/ViolIII, Erbe Elektromedizin) an primärem Zervixgewebe, das im Rahmen anderweitig indizierter vaginaler Hysterektomien (zumeist Descensus uteri) steril gewonnen wurde. Die Plasma- und Kontrollbehandelten Gewebeproben wurden in geeigneten Nährmedien für maximal 24h weiterkultiviert und nach definierten Zeitpunkten mittels kontakt- und label-freier Raman-Mikrospektroskopie analysiert. Für die Untersuchungen wurde jeweils gesundes Zervixgewebe verwendet, um unkalkulierbare Effekte beispielsweise durch Neoplasien zu vermeiden und damit eine gute Vergleichbarkeit herzustellen. Aufgrund störender Autofloreszenz (z.B. Blutbestandteile) während der Raman-Messung von frischem und unfixiertem Gewebe, wurden die Gewebe vor der Analyse zunächst kryokonserviert und per Kryotom sagittale Gewebeschnitte angefertigt.

Folgende Ergebnisse konnten in der vorliegenden Arbeit erzielt werden: i) Die Raman-Mikrospektroskopie ist eine geeignete Methode um intrazelluläre Effekte nach Plasmabehandlung nachzuweisen und zu charakterisieren. ii) Intrazelluläre Veränderungen wurden nach Plasmabehandlung insbesondere auf Ebene der DNA gefunden. iii) Es konnte eine minimale funktionale Gewebepenetrationstiefe von CAP über die gesamte Breite des Zervixepithels bis hin zur Basalzellschicht gezeigt werden, und unterstreicht die Eignung von CAP zur Behandlung beispielsweise von CIN. iv) Die nicht-thermische Behandlung mit APCIII zeigt initial eine stärkere Veränderung der analysierten Zellkomponenten auf.

Insgesamt stellt die vorliegende Arbeit einen wichtigen Schritt hinsichtlich einer zukünftigen In-vivo CAP Behandlung unterschiedlicher Krankheitsbilder dar.

**Titel: Molekulare und funktionelle Charakterisierung humaner alloreaktiver memory T-Zellen in Stammzellgrafts**

Autoren: Patrick Kasteleiner, Hisayoshi Hashimoto und Karin Schilbach

Abteilung: Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin Tübingen, Abteilung für Hämatologie und Onkologie

**Zusammenfassung:**

Einen kurativen Therapieansatz für maligne hämatologische Erkrankungen stellt die allogene Stammzelltransplantation dar. Bei dieser werden dem Empfänger hämatopoetische Stammzellen eines Fremdspenders transplantiert, aus denen sich im Empfänger im Verlauf etwa eines Jahres ein vollständiges und gesundes Immunsystem entwickelt.

Eine schwerwiegende Komplikation der Stammzelltransplantation ist die Graft-versus-Host Disease (GvHD). Das Stammzelltransplantat wendet sich dabei gegen den vorbehandelten immunsupprimierten Empfänger des Transplantates und löst inflammatorische Reaktionen an umschriebenen Organen, insbesondere der Haut, dem Gastrointestinaltrakt und der Leber, aus.

Ursächlich für diese Abstoßungsreaktion sind die im Transplantat enthaltenen CD4 und CD8 positiven T-Zellen vom Typ Th1. Diese erkennen nach Transplantation im Empfänger die ihnen von Dendritischen Zellen präsentierten Fremdantigene des Patienten und greifen infolgedessen die Gewebe an und zerstören sie mittels den Zytotoxinen Granzyme B und Perforin.

Einen Ansatz zur Vermeidung einer solchen GvHD stellt die Vorbehandlung des Transplantates, durch Entfernung aller naiver (CD45RA) positiver T-Zellen aus dem Transplantat, dar. Diese besitzen potentiell die höchste T-Zellrezeptordiversität und haben statistisch die größte Wahrscheinlichkeit ein Antigen zu erkennen. Trotzdem tritt weiterhin eine GvHD in nahezu gleicher Häufigkeit auf, jedoch in abgeschwächter Form.

Unsere Arbeit beschäftigt sich mit der Rolle, die das costimulatorische Molekül CD276 für T-Zellen, hinsichtlich der T-Zell medierten GvHD, spielt. Dies wurde in vitro und in vivo untersucht.

Im in vitro Ansatz wurden mononukleare Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) zweier nicht verwandter Probanden miteinander als sog. Mixed Lymphocyte Culture (MLC) stellvertretend als Spender- und Empfängerzellen kultiviert. Die Empfängerzellen wurden subletal bestrahlt. Aus den Spenderzellen wurden die CD45RA positiven T-Zellen depletiert und untersucht, ob sich wieder T-Zellen zeigen, die den Aktivierungsmarker CD276 auf der Oberfläche exprimieren. Weiterhin wurde untersucht, ob durch die metronomische Depletion CD276 positiver T-Zellen die alloreaktive Fraktion der Gedächtniszellen erschöpft werden kann, die Proliferation der T-Zellen reduziert werden kann und ob deren Differenzierung in Th1 Effektorzellen damit günstig beeinflusst werden kann. Außerdem wurde das Zytokinprofil der alloreaktiven und verbleibenden T-Zellen untersucht. Dies wurde mittels Durchflusszytometrie (FACS) realisiert. Neben der funktionellen Charakterisierung werden die alloreaktiven und nicht alloreaktiven Fraktionen mittels quantitativer real-time PCR (qPCR) charakterisiert.

Für den in vivo Ansatz wurde ein Mausmodell gewählt, das transgen den humanen CD4+ T-Zell HLA-Liganden DR4 exprimiert und die GvHD durch die Gabe von humanen CD4 T-Zellen induziert. Dabei erhielt eine Gruppe die Gesamtheit aller T-Zellen, eine zweite Gruppe CD45RA depletierte CD4+ T-Zellen (d.h. nur Gedächtniszellen) und die dritte Gruppe CD45RA depletierte T-Zellen, aus denen nach Exposition mit Empfängergewebe noch die CD276+ T-Zellen entfernt worden waren.

Nach Erreichen der Abbruchkriterien (schwere GvHD) wurden die Tiere getötet, Organe entnommen und die Gewebe (Haut, Kolon, Lunge, Leber) diversen Analysen zugeführt. Dazu wurden die Gewebe homogenisiert, RNA daraus isoliert, cDNA synthetisiert und diese in der qPCR verwendet. Weiterhin wurden die T-Zell Rezeptor Repertoires mittels V $\alpha$  Spectratype auf ihre Komplexität untersucht.

## **Stopping Tumor Cell Proliferation at a Novel Target Point: RPA (Replication Protein A)**

**Maximilian Härtel**

AG Zender, Innere Medizin VIII & Physiologie I, Universitätsklinikum Tübingen

Nach Angaben der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sollen im Jahr 2018 etwa 9,6 Millionen Menschen weltweit an Krebs sterben. Gemessen an der Entwicklung im letzten Jahrzehnt wird mit einer Zunahme der Inzidenz um über 60% bis 2030 gerechnet. In der klinischen Praxis ist bei fortgeschrittenen Tumorleiden die Chemotherapie meist die erste Wahl. Viele aggressive Tumoren entwickeln gleichwohl Evasionsstrategien, was sich in der hohen klinischen Resistenzentwicklung und Tumorprogression solcher Standardtherapien niederschlägt. Dies untermauert die Dringlichkeit effektiverer Therapiestrategien.

Das essentielle Replikationsprotein A (RPA) bindet in seiner physiologischen Funktion während der DNA Replikation einzelsträngige DNA (ssDNA) in eukaryotischen Zellen, stabilisiert diese lokal und reguliert (über den ATR-/Chk1-Checkpoint) den Ablauf des Zellzyklus.

Die Störung der DNA Replikation führt nach unzureichender Kontrolle und DNA Reparatur in der S-Phase zu stockenden Replikationsgabeln. Die kurzzeitige anhaltende Aktivität der Helikasen generiert neue gefährdete ssDNA, welche von RPA geschützt werden muss, um weitere DNA Schäden zu verhindern. Dabei aktiviert RPA den zuvor genannten ATR-Chk1 Signalweg. Diese Ereignisse werden unter dem Phänomen des "Replikativen Stresses" zusammengefasst. Durch Inhibition von RPA hoffen wir, die Prozessierung von exponierter ssDNA in Doppelstrangbrüche zu forcieren. Dabei bedienen wir uns neu und gezielt entwickelter Inhibitoren gegen RPA (RPAi) aus der Medizinalpharmazie in Tübingen.

Erste Versuche haben gezeigt, dass replikativer Stress in Tumorzellen präsent ist. Weiterhin konnte bestätigt werden, dass RPA als potentielle Zielstruktur in der onkologischen Therapie dienen kann. Besonders die extrem niedrigen  $IC_{50}$  der RPAi deuten auf eine vielversprechende klinische Perspektive hin. Interessanterweise zeigten unterschiedliche humane Tumorzelllinien eine differentielle Sensitivität gegenüber RPAi. Leukämiezellen und Zellen des nicht-kleinzelligen Lungkazinoms zeigen z.B. eine hohe Sensitivität gegenüber RPAi ( $IC_{50}$  30-90 nM), während Melanom- und Nierenzellen nur nach höheren Konzentrationen von RPAi sterben bzw. in ihrer Proliferation beeinträchtigt werden. Im Fokus derzeitiger Untersuchungen steht die Frage, ob die differentielle Sensitivität durch unterschiedliche basale replikative Stresslevel begründet ist. Eine sich daraus ergebende Frage ist, ob durch gezielte Kombinationstherapie mit ATR-, ATM, Chk1- oder Chk2 Inhibitoren sich das Ansprechen verbessern lässt?

**Characterization of the humoral immune response following vaccination with irradiated *Plasmodium falciparum* sporozoites in malaria naïve volunteers**

F.-R. Lorenz, MAVACHE study team, P.G. Kremsner, R. Fendel, B. Mordmüller

Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen

**Background.** Immunization with attenuated, live sporozoites has been shown to evoke sterile protection against *Plasmodium falciparum* malaria. In a recent study conducted at the Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, healthy malaria naïve volunteers were vaccinated by intravenous injection of irradiated, live *P. falciparum* sporozoites (PfSPZ). Following a one-month immunization schedule (day 0, 7 and 28), three doses of 900,000 attenuated sporozoites each were administered. Vaccination efficacy was assessed via two controlled human malaria infections of both homologous and heterologous *P. falciparum* strains three and eight weeks after the third immunization. In 8 out of 12 verum vaccinees and 0 out of 6 placebos, sterile protection was observed in both challenges.

**Methods.** Antibody profiles were analysed by testing serum of 12 verum vaccinees and 4 naïve volunteers (three placebos and one negative control) on a protein microarray representing antigens selected from previous full proteome microarray analyses. Samples were withdrawn one day before the first challenge. In a multiplex assay, anti-plasmodial IgG, IgM and IgA antibodies were detected simultaneously. Levels of IgG-antibodies directed against the predominant sporozoite surface protein CSP (circumsporozoite protein) were determined throughout the study by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results.** Strong immunogenicity of CSP was observed in all vaccinees. Anti-CSP IgG considerably increased after the second and reached maximum levels after the third immunization. On the microarray, sera of fully protected vaccinees recognized a higher number of different plasmodial antigens and displayed elevated levels of IgG compared to incompletely protected vaccinees. Sterile immunity was furthermore associated with a subset of specific IgG and IgM antibodies, including surface, transport and export proteins of the sporozoite and liver stage parasite but not CSP. Patterns of IgG, IgM and IgA profiles were highly distinct.

**Conclusions.** The humoral immune response may predict protection from malaria following immunization with PfSPZ vaccine. The individual level of immunity correlates with both the breadth of the response and the presence of specific IgG and IgM antibodies.

## **CAFF- Commonly Available Fitting Facemask**

Does the commonly available facemask appropriately fit late preterm and term infants?

Dr Bianca Haase, Dr Laila Lorenz, Prof. Christian Poets,  
Ana-Maria Badinska

Neonatologie, Universitätsklinikum Tübingen

Der Übergang vom Leben im Uterus zu dem außerhalb der Gebärmutter erfordert viele anatomische und physiologische Anpassungen. Ungefähr 10 Prozent der Reif- und Frühgeborenen brauchen direkt nach dem Geburt im Kreißsaal Unterstützung bei der Atmung. Das passiert meistens mittels Beatmungsmasken. Studien haben nachgewiesen, dass die Maskenbeatmung in bis zu 50% ineffektiv ist. In einer Studie von 2016 aus dem Royal Women's Hospital in Melbourne, Australien, konnte bereits gezeigt werden, dass die kleinste Gesichtsmaske der meisten Marken für viele Frühgeborene zu groß ist. Unser Ziel ist es zum einen Referenzwerte von Gesichtsmaßen zu etablieren und zum zweiten die Passgenauigkeit herkömmlicher Masken für späte Frühgeborene und Reifgeborene zu untersuchen. Zu diesem Zweck haben wir 100 Neugeborenen aus dieser Patientenpopulation untersucht, jeweils 10-15 Kinder in jeder Schwangerschaftswoche zwischen der 34. und 42. Schwangerschaftswoche. Zusätzlich haben zwei Techniken benutzt und gegeneinander verglichen: die 3D-Fotometrie und die 2D-Fotometrie.

Von jedem der späten Früh-/Reifgeborenen wurde ein 2D- und ein 3D-Foto in Neutral-Null-Stellung des Kopfes angefertigt. Für die 3D-Fotos wurde das 3dMDface Scannersystem benutzt. Für die Auswertung der Bilder wurden mit der Software Vultus für die 3D-Bilder und der Software ImageJ für die 2D-Fotos gearbeitet um bestimmte Abstände am Gesicht zu messen.

Um die 2D-Fotometrie und die 3D-Fotometrie zu vergleichen, haben wir den Abstand zwischen der Nasenwurzel und dem Kinnende gewählt. Das ist derselbe Abstand, der in der Studie aus Australien benutzt wurde. Auf den 2D-Fotos ist die Positionierung deutlich anspruchsvoller und die Punkte sind viel schwieriger zu bestimmen. Deshalb sind die Messungen mittels 2D-Fotographie nicht sicher aussagekräftig. Bei den 3D-Aufnahmen existieren diese Probleme nicht.

Der Abstand zwischen der Nasenwurzel und dem Kinnende stellt eigentlich den maximalen Durchmesser einer Maske dar, damit sie nicht über das Kinn hinausragt und damit keine Luft ausweicht. Der Abstand, der uns am meisten interessiert, ist zwischen Nasenwurzel und dem prominentesten Punkt am Kinn. Damit eine suffiziente Maskenbeatmung erfolgen kann, sollte die Maske genau an diesen beiden Punkte liegen. Dieser Abstand kann nur anhand der 3D-Bilder gemessen werden. Der Grund dafür ist, dass die 2D-Fotos keine Einsicht in die Topografie des Gesichtes liefern.

Laut Leitlinien müssen für Reifgeborene Masken mit dem Durchmesser von 60 oder 70 mm benutzt werden und für Frühgeborene 50mm. Laut unserer Ergebnisse würden mehr als die Hälfte der Kinder von einer Maske mit dem Durchmesser von 42mm profitieren. Es gibt nur eine Firma, die Masken mit diesem Durchmesser produziert und sie sind eher selten im Erstversorgungsraum zu finden. 18 % der teilgenommenen Kinder würden sogar von einer Maske mit einem Durchmesser kleiner als 42mm profitieren.

## **Osteogene Differenzierung von Ad-MSC auf vier modifizierten Scaffolds auf Cryogelbasis im Vergleich zur 2D Kultur**

S. Deninger<sup>1</sup>, V. Häussling<sup>1</sup>, M. Ruoß<sup>1</sup>, Andreas K. Nüssler<sup>1</sup>, S. Ehnert<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siegfried- Weller Institut für unfallmedizinische Forschung der BG Klinik Tübingen

### Hintergrund

Tissue Engineering ist ein sich rasant entwickelnder Sektor in der medizinischen Forschung. Mittels körpereigener Stammzellen und geeigneter Trägermaterialien soll ein möglichst funktionstüchtiges Ersatzgewebe produziert werden, das dann transplantiert werden kann. Beim Tissue Engineering des Knochens sollen PatientInnen nach ausgedehnten Frakturtraumata oder Knochentumoren adäquat mit Knochenersatzmaterial versorgt werden. Als geeignete Stammzellen haben sich aus Fettgewebe abgeleitete mesenchymale Stammzellen (Ad-MSCs) aufgrund ihres hohen osteogenen Differenzierungspotentials erwiesen, die zugleich mit geringem Aufwand zu gewinnen sind. Als Trägermaterial können Cryogele poröse Strukturen adäquat nachbilden.

### Ziel

Im vorliegenden Projekt sollen vier verschiedene Trägermaterialien auf Cryogelbasis charakterisiert werden. Anschließend sollen aus Fettgewebe abgeleitete Stammzellen auf den Materialien ausgesät und osteogen differenziert werden. Durch Messung spezifischer Funktions- und Stoffwechselfparameter soll das osteogene Potential mit dem einer osteogen differenzierten 2D- Kultur verglichen werden.

### Methoden

Die vier verschiedenen Cryogele mit den jeweils charakteristischen Zusatzstoffen Platelet-Rich Plasma, Collagen, immunzellkonditioniertes Medium und RGD-Peptide sollen produziert und auf ihre physikalischen Eigenschaften geprüft werden. Hierzu wird die Porengröße mittels Image J bestimmt, die Steifigkeit durch biomechanische Messung und die swelling ratio um die Wasseraufnahmekapazität zu bestimmen. Parallel werden aus Fettgewebe abgeleitete Stammzellen isoliert, kultiviert und einer Qualitätskontrolle nach Domenici unterzogen. Nach anschließender Aussaat und osteogener Differenzierung auf den Trägermaterialien sollen Resazurinumsatz, Lebendfärbung mittels Calcein-AM, Glucoseverbrauchsmessung, AP-Aktivität und DNA- Quantifizierung Rückschlüsse auf Zellaktivität, -quantität und Überleben geben. Im Medium sekretierte Stoffe sollen mittels ELISA nachgewiesen werden. Zuletzt wird der Mineralisierungsgrad mittels CT-Messung und die Veränderung der Steifigkeit durch biomechanische Messung bestimmt.

### Vorläufige Ergebnisse

Die vier verschiedenen Cryogele weisen hinsichtlich der physikalischen Eigenschaften spezifische Unterschiede auf, wenngleich eine Aussaat auf allen vier Varianten grundsätzlich möglich ist. Das Collagen Trägermaterial zeigte mit durchschnittlich 75,84µm die größten Porendurchmesser, das Cryogel mit Platelet- Rich Plasma mit 40,84 kPa die höchsten Steifigkeitswerte. Im Verlauf der Differenzierung bleibt der Glucoseverbrauch nahezu konstant, alkalische Phosphatase und Resazurinumsatz entwickeln sich unterschiedlich. Die Steifigkeit der Trägermaterialien ist im Verlauf der Differenzierung abnehmend.

### Schlussfolgerung

Aufgrund der günstigeren physikalischen Eigenschaften und Funktionsparameter erweisen sich das Trägermaterial mit Platelet-Rich Plasma und Collagen als die geeigneteren Trägermaterialien im Vergleich.

## Analyse von potentiellen Biomarker in der SCA3

Patrik Pelz, Dr. Jeannette Hübener-Schmid, Prof. Dr. Olaf Riess

Institut für medizinische Genetik und angewandte Genomik, Tübingen

Die Spinozerebelläre Ataxie Typ 3 (SCA3) ist eine autosomal dominant vererbte, neurodegenerative Erkrankung. Die krankheitsauslösende Mutation ist eine Expansion von CAG-Wiederholungen im *ATXN3*-Gen, die eine Zunahme der Aminosäure Glutamin und somit ein fehlreguliertes und falsch gefaltetes Ataxin-3 Protein zur Folge hat. Daraus resultieren unterschiedliche Störungen, die vor allem die Koordination von Bewegungen betreffen. Zum heutigen Zeitpunkt wird das Voranschreiten der Erkrankung beziehungsweise die Effizienz einer möglichen Therapie beurteilt mit einem klinischen Score, welcher motorische Defizite dokumentiert, dem *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA). Es kann jedoch Jahre dauern, bis die Erkrankung des Patienten progredient voranschreitet und sich damit der SARA Score eines Patienten verändert. Erste Studien mit möglichen erkrankungsbeeinflussenden Medikamenten sind derzeit aber nur auf ein paar Wochen begrenzt. Daher werden messbare Biomarker benötigt, die in unterschiedlichen Biomaterialien schnell krankheitsbedingte Veränderungen biologischer Prozesse aufzeigen können und dadurch eine prognostische oder therapeutische Aussagekraft besitzen.

Ataxin-3 als Erkrankungsprotein und Parkin als direkter Interaktionspartner von Ataxin-3 sind zwei vielversprechende Kandidaten, um als prognostischer oder therapeutischer Biomarker für die SCA3 zu dienen. In etwa 150 Blutproben und 10 Liquor-Proben aus einer europäischen Kohorte werden die Protein-Konzentrationen von Ataxin-3 und Parkin bestimmt. Dabei wird mittels eines hoch-sensitiven und quantitativen Assay-Verfahrens, dem sogenannten *Time-resolved Förster resonance energy transfer (TR-FRET)* -Assays, in Lysaten der aus den Blutproben gewonnenen Lymphozyten und dem Liquor gemessen. Beim TR-FRET binden zwei Antikörper, die mit Donor- und Akzeptor-Molekülen Fluoreszenz-markiert sind, spezifisch am Ataxin-3 bzw. Parkin Protein. Wenn die Antikörper in nächster Nähe zueinander binden, kommt es zu einem Energietransfer. Dieser wird nach 24 Stunden Inkubation bei 4°C mittels eines TRF-Lasers detektiert. - Diese Messmethode ist sehr spezifisch und sensitiv.

Die Ergebnisse der Messungen der Proteinkonzentrationen wird mit dem SARA-Score, dem Alter bei Erkrankungsbeginn, der Erkrankungsdauer, möglichen Vorerkrankungen und der Anzahl der Glutamin-Wiederholungen korreliert. Erste Auswertungen zeigen leichte Tendenzen, die auf einen Zusammenhang zwischen den ersten Messwerten für Ataxin-3 und dem SARA-Score hindeuten. Die Bedeutsamkeit und Signifikanz dieses und anderer Zusammenhänge müssen anhand des vollständigen Datensatzes bestätigt werden.

Falls sich Ataxin-3 und/oder Parkin als Biomarker etablieren lassen, ist es möglich die SCA3 präziser zu prognostizieren und ein therapeutisches Konzept effizienter zu validieren.

**Von der Mutter zum Kind – die Rolle von myeloiden Suppressorzellen aus der Muttermilch für die Immunantwort Neugeborener**

**L. Flaig, S. Dietz, J. Schwarz, C. Schoetensack, B. Spring, Ch. Gille, Ch. Poets, N. Köstlin**

Abt. f. Neonatologie, Kinderklinik IV, Universitätsklinikum Tübingen

*Hintergrund*

Frühgeburtlichkeit ist die wichtigste Ursache für perinatale Morbidität und Mortalität. Die Frühgeburtenrate in Deutschland liegt bei ca. 9%; die Sterblichkeit von Frühgeborenen steigt mit sinkendem Gestationsalter auf bis zu 40% an. Nach respiratorischen Komplikationen sind generalisierte bakterielle Infektionen und die nekrotisierende Enterokolitis (NEC) die wichtigsten Todesursachen von sehr kleinen Frühgeborenen (SSW <28). Myeloide Suppressorzellen (MDSC) sind myeloide Zellen mit suppressiver Wirkung auf andere Immunzellen. Ursprünglich beschrieben wurden MDSC im Rahmen von Tumorerkrankungen, wo sie durch den Tumor induziert werden, die gegen den Tumor gerichtete Immunantwort unterdrücken und damit das Tumorstadium begünstigen. Unsere Arbeitsgruppe konnte kürzlich zeigen, dass MDSC auch in der Muttermilch reifer Neugeborener vorkommen und möglicherweise die Immunantwort des Neugeborenen beeinflussen. In der hier vorgestellten Arbeit wurde nun die Expression von MDSC in der Muttermilch Frühgeborener untersucht. Außerdem wurde in einem *in-vivo* Modell untersucht, ob MDSC aus der Muttermilch die Zirkulation des Neugeborenen erreichen und damit möglicherweise systemische Wirkung haben.

*Methoden*

In einer klinischen Studie wurde Muttermilch von Frühgeborenen <36 Schwangerschaftswochen (SSW) zweimal wöchentlich über die ersten fünf Lebenswochen gesammelt. Zelluläre Anteile wurden isoliert und der Anteil von MDSC an den Muttermilch-Leukozyten wurde durchflusszytometrisch ermittelt. Klinische Daten wurden erhoben und zwischen dem 28. und 35. Lebenstag wurde eine Stuhlprobe der Frühgeborenen gesammelt.

In einer *in-vivo* Studie wurden weibliche Mäuse, welche das Green Fluorescent Protein (GFP) in neutrophilen Zellen und deren Vorläufern (und damit auch in MDSC) (GFP<sup>+</sup>) exprimieren, mit männlichen Wildtyp-Mäusen (GFP<sup>-</sup>) verpaart. Der Teil der GFP<sup>-</sup> Jungtiere wurde für die weiteren Untersuchungen verwendet. Die Jungtiere wurden im postnatalen Alter von 1, 7, 14 und 21 getötet und der Anteil an GFP<sup>+</sup> (d.h. aus der Muttermilch stammenden) MDSC an allen MDSC in Leber, Milz, Darm und Blut untersucht.

*Ergebnisse*

Bislang konnten 53 Spendermütter von 63 Neugeborenen in die Studie eingeschlossen werden. In einer Zwischenauswertung zeigte sich, dass gemittelt über die ersten 5 Lebenswochen die Muttermilch von Frühgeborenen <28. SSW einen deutlich niedrigeren Anteil an MDSC enthielt als die Muttermilch älterer Frühgeborener. Der prozentuale Anteil von MDSC an allen Muttermilch-Leukozyten änderte sich nicht im postnatalen Verlauf.

*In-vivo* konnten wir zeigen, dass GFP<sup>+</sup> MDSC bei GFP<sup>-</sup> Jungtieren zu finden sind. Vor allem in der Leber kam es mit längerer Säugungsdauer zu einer Anreicherung der aus der Muttermilch stammenden GFP<sup>+</sup> MDSC.

*Schlussfolgerung und Ausblick*

Wir konnten zeigen, dass MDSC in der Muttermilch sehr kleiner Frühgeborener vermindert sind. Dies könnte eine Ursache für die erhöhte Anfälligkeit für Infektionen und das vorwiegende Auftreten der NEC in dieser Patientenkohorte sein. Außerdem konnten wir zeigen, dass MDSC aus der Muttermilch die Systemzirkulation des Neugeborenen erreichen und damit möglicherweise die Immunantwort des Neugeborenen beeinflussen. Eine orale Substitution von MDSC in der Nahrung von Risikopatienten könnte eine neue Maßnahme zur Prävention von bakteriellen Infektionen und der NEC bei Frühgeborenen sein.

## Untersuchung der endothelialen Dysfunktion bei ECLS/ECMO-Patienten

F. Traub, A. Neumann, H. P. Wendel

Universitätsklinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie

Hintergrund: Bei schwerem Herz-Kreislauf- oder Lungenversagen ist der Einsatz von extrakorporalen Unterstützungssystemen wie der extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO) und dem Extracorporeal Life Support (ECLS) häufig die letzte Therapieoption. So kann die Zeitspanne bis zur Implantation eines permanenten Unterstützungssystems, einer Organtransplantation oder der Rekonvaleszenz überbrückt werden. Der Kontakt des Blutes zu Fremdoberflächen führt jedoch zur Inflammation, aktiviert die Blutgerinnung und verursacht oxidativen Stress, ein Ungleichgewicht zwischen reaktiven Sauerstoffspezies und antioxidativen Enzymen und Vitaminen. Folge von oxidativem Stress ist eine Dysfunktion des Gefäßendothels. Diese Dysfunktion umfasst unter anderem eine gesteigerte Permeabilität des Endothels, eine verstärkte Adhäsion von Leukozyten und eine reduzierte NO-Produktion.

In unserer Studie soll nun evaluiert werden, welche Rolle oxidativer Stress und endotheliale Dysfunktion während der ECLS- und ECMO-Therapie und bei Bypassoperationen mit und ohne Herz-Lungen-Maschine spielen.

Methodik: In einer prospektiven Studie wird die Endothelfunktion bei 20 ECLS-Patienten, 20 ECMO-Patienten, 20 Patienten mit konventioneller Bypassoperation, 20 Patienten mit Bypassoperation ohne Herz-Lungen-Maschine (OPCAB-Verfahren) und 20 gesunden Probanden untersucht. Zu mehreren Zeitpunkten wird die flussabhängige Gefäßdilatation als Maß für die NO-Produktion des Endothels beurteilt. Hierbei werden Volumenveränderungen durch den arteriellen Puls mittels Fingerplethysmografie aufgezeichnet. Durch eine 5-minütige Unterbrechung des Blutflusses mit einer Blutdruckmanschette wird eine reaktive Hyperämie ausgelöst, die zu einem Signalanstieg in der Fingerplethysmografie führt. Durch einen Vergleich des Signals vor und nach Unterbrechung des Blutflusses wird der Reactive Hyperemia Index (RHI) berechnet.

Parallel werden Blutproben der Patienten und Probanden gesammelt. Diese werden in einem Multiplex-Immunoassay eingesetzt, um Marker für oxidativen Stress und die Endothelfunktion zu bestimmen.

Zwischenergebnisse: Bis Oktober 2018 konnten 5 ECLS-Patienten, 3 ECMO-Patienten, 12 Patienten mit konventioneller Bypassoperation, 18 OPCAB-Patienten und 20 gesunde Probanden in die Studie eingeschlossen werden.

Zwischen Patienten mit konventioneller Bypassoperation und OPCAB-Verfahren zeigte sich bislang kein signifikanter Unterschied. Die RHI-Werte lagen zu allen Messzeitpunkten in einem ähnlichen Bereich wie die der gesunden Probanden ( $1,8735 \pm 0,6283$ ). Bei ECLS- und ECMO-Patienten waren die RHI-Werte mit  $0,9950 \pm 0,4060$  bzw.  $0,9850 \pm 0,4596$  am 1. Tag nach Implantation des Systems stark erniedrigt und stiegen im Verlauf wieder an. Diese Ergebnisse weisen auf eine Endotheliale Dysfunktion zu Beginn der ECLS- und ECMO-Therapie hin.

## Bestimmung der individuellen Fraktionierungsempfindlichkeit von Prostatakarzinomen

C. Dieter<sup>1</sup>, F. Hauth<sup>1</sup>, C. De Colle<sup>1</sup>, D. Zips<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitätsklinik für Radioonkologie, Tübingen

### Hintergrund:

Das Prostatakarzinom ist die häufigste Tumorerkrankung beim Mann. Die fraktionierte Strahlentherapie stellt dabei eine wesentliche Säule der kurativen Therapie dar. Da das Prostatakarzinom fraktionierungsempfindlich ist, kann die Behandlung durch höhere Einzeldosen der Fraktionen (Hypofraktionierung) verbessert werden. Allerdings birgt diese Therapie auch höhere Nebenwirkungsrisiken. Außerdem weisen klinische Daten auf eine große intertumorale Variabilität hin, sodass nicht per se alle Patienten von einer Hypofraktionierung profitieren würden. Es existiert derzeit keine Möglichkeit die individuelle Fraktionierungsempfindlichkeit eines Prostatakarzinoms vor Bestrahlungsbeginn zu bestimmen.

### Zielsetzung:

In diesem Projekt soll die prinzipielle Machbarkeit einer individuellen Bestimmung der Fraktionierungsempfindlichkeit eruiert werden.

### Methoden:

Das Projekt gliedert sich in zwei Hauptarme, einen *in vitro*- und einen *ex vivo*-Teil. *In vitro* werden Zellen von drei Prostata-Zelllinien mit einer Gesamtdosis von 8 Gy in 1, 2, 4 oder 8 Fraktionen über einen Zeitraum von 3,5 Tagen bestrahlt. 24 Stunden nach der letzten Bestrahlung werden die Zellen fixiert und mit der  $\gamma$ H2AX-Immunfluoreszenz-Färbung gefärbt. Dadurch kann die Anzahl der residualen DNA-Doppelstrangbrüche ermittelt werden und mit Hilfe des linear-quadratischen Modells der  $\alpha/\beta$ -Wert als Maß der Fraktionierungsempfindlichkeit bestimmt werden. Analog dazu werden in Kooperation mit der Urologie und Pathologie im *ex vivo*-Teil des Projekts frische Tumorstanzen aus unbehandelten Prostatektomiepräparaten prozessiert und nach dem gleichen Bestrahlungsplan behandelt, gefärbt und ausgewertet.

### Ergebnisse:

Erste Daten zeigen eine deutlich steigende Anzahl der  $\gamma$ H2AX-Foci mit steigender Einzeldosis pro Bestrahlungsfraction. Es bestehen signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Fraktionierungen bei gleicher Gesamtdosis. Mit der beschriebenen Methodik konnte *in vitro* ein zelllinienabhängiger Fraktionierungseffekt gezeigt werden.

### Schlussfolgerung:

Erstmals konnte der Fraktionierungseffekt für das Prostatakarzinom in Zellkultur mit Hilfe des  $\gamma$ H2AX-Assays sichtbar gemacht und direkt nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse sind vielversprechend für die folgenden *ex vivo*-Experimente in Hinblick auf die Zielsetzung des Projekts.

## Abstract: Onkolytische Virotherapie des Hepatozellulären Karzinoms

Von Daniel Fischer

Universitätsklinikum Tübingen, Abt. Innere Medizin VIII – Klinische Tumorbiologie

Im Rahmen meiner Doktorarbeit forsche ich in der Arbeitsgruppe „Virotherapie“ von Herrn Prof. Dr. Ulrich M. Lauer am Universitätsklinikum Tübingen an onkolytischen Viren, die in der Krebstherapie zunehmend eingesetzt werden. *Onkolytische Virotherapie* ist ein vielversprechendes und schnell fortschreitendes Feld der modernen Krebsforschung. Das Kernprinzip beruht auf onkolytischen Viren (OVs), die selektiv Tumorzellen infizieren, in diesen replizieren und das Tumorgewebe zerstören. Zusätzlich wird eine starke und langanhaltende Immunantwort des Wirtes gegen die Tumorzellen ausgelöst. Durch diese Therapieform ließen sich in einigen Fällen bereits durchschlagende Therapieerfolge erzielen. Mein Hauptziel besteht in der Untersuchung eines rekombinanten Pocken-Impfvirus (Vaccinia) und dessen modellhafte Wirkung auf Mauszelllinien des Hepatozellulären Karzinoms (HCC). Normale Zellen besitzen spezielle antivirale Mechanismen (z.B. den Interferon-Signalweg), um sich effizient gegen Virusinfektionen zu wehren. Krebszellen hingegen verlieren durch den Prozess der malignen Transformation viele dieser Eigenschaften und sind daher besonders empfindlich gegenüber Virusinfektionen. Inwiefern eine (Re-)Aktivierung dieser Mechanismen in Krebszellen eine Rolle in der Entstehung von Resistenzen gegenüber Virotherapeutika spielt, steht im Mittelpunkt meiner Untersuchungen. Hierfür verwende ich sechs Mauszelllinien mit verschiedenen, gut definierten onkogenen Mutationen. Mittels Zellmasse- und Stoffwechsel-Tests habe ich festgestellt, dass ein Großteil der Tumorzelllinien resistent gegen das eingesetzte Vaccinia Virus ist (weniger als 25% Reduktion der Zellmasse zum Zeitpunkt 96 Stunden nach Infektion bei Verwendung einer sog. *multiplicity of infection*<sup>1</sup> (MOI) von 0,1). Nur eine murine HCC-Zelllinie erwies sich als hochgradig sensibel (> 50% Reduktion); eine weitere Zelllinie zeigte sich moderat sensibel (> 25% Reduktion). Eine nachfolgende Quantifizierung der Virusreplikation zeigte moderate Unterschiede im Vergleich „sensibel“ versus „resistent“ (maximale Titer: 122 Mio. vs. 39 Mio. PFU/mL)<sup>2</sup>. In weiteren Untersuchungen soll geklärt werden, ob in den Zelllinien nach Infektion eine Aktivierung des Interferon-Signalweges stattfindet und welche Rolle die Aktivierung des Interferon-Signalweges in der variablen Resistenz von HCC-Tumorzellen gegen das Vaccinia Virus spielt.

---

<sup>1</sup> *Multiplicity Of Infection* (MOI) ist eine Maßeinheit für das Verhältnis infektiöser Viruspartikeln zu potentiell zu infizierenden Zellen in einer Zellkultur. Ein Virus auf eine Zelle entspricht einer MOI von 1.

<sup>2</sup> *Plaque forming unit* (PFU) ist eine Maßeinheit für die Menge infektiöser Viruspartikel. PFU/mL ist die Maßeinheit für die Konzentration infektiöser Viruspartikel in einer Lösung.

**Targeting the glioma associated microenvironment in experimental glioma**

Hannes Becker<sup>1\*</sup>, Justyna Przystal<sup>1, 2\*</sup>, Denis Canjuga<sup>1</sup>, Jens Schittenhelm<sup>3</sup>, Ghazaleh Tabatabai<sup>1, 2</sup>

- 1 Interdisciplinary Division of Neurooncology, Departments of Vascular Neurology & Neurosurgery, Hertie Institute for Clinical Brain Research, University Hospital of Tuebingen, Eberhard Karls University of Tuebingen, Tuebingen, Germany
- 2 German Consortium for Translational Cancer Research (DKTK), DKFZ partner site Tuebingen, Tuebingen, Germany.
- 3 Department of Neuropathology, Institute of Pathology and Neuropathology, University Hospital of Tuebingen, Eberhard Karls University of Tuebingen, Tuebingen, Germany.

Glioblastoma is one of the most aggressive and common primary brain tumors in adults. The median overall survival is still in the range of about 1.5 years despite multimodal therapies. Novel therapeutic approaches are urgently needed. One strategy is to target the glioma-associated microenvironment.

We investigated human tissue samples for the presence of colony stimulating factor-1 receptor (CSF-1R) expression. We detected partly high expression in primary and recurrent samples. The presence of programmed death cell receptor-1 (PD-1) expression had been investigated before by other groups. We investigated here the effects of targeting CSF-1R and PD-1 in the SMA560/VMDk syngenic glioma mouse model. CSF-1R inhibition alone and in combination with PD-1 treatment led to a modification of the cellular composition of infiltrating host cells. Furthermore, the combination led to a prolongation of symptom-free survival.

Overall, our results indicate that combined CSF1R and PD1 targeting might be an interesting concept for clinical translation.

# Focal degeneration in association with gesture imitation deficits in genetically confirmed FTD

Dominik Wabersich<sup>1,2</sup>, Marc Himmelbach<sup>1</sup> und Matthis Synofzik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sektion Neuropsychologie und <sup>2</sup>Abteilung für Neurodegenerative Erkrankungen, Hertie-Institut für klinische Hirnforschung

Apraxia, as exhibited e.g. by gesture imitation deficits, is a common feature in neurodegenerative dementias, including frontotemporal dementia (FTD), yet its specific neuroanatomic substrates in neurodegenerative diseases are not known. Here, we aimed to map the focal degeneration of substrates associated with gesture imitation deficits by taking advantage of a genetically stratified cohort of genetically confirmed FTD subjects versus non- mutation intrafamilial control subjects. We hypothesize that frontal networks underlie gesture imitation deficits in FTD.

Out of the 533 subjects from the GENFI cohort, we analyzed cortical thickness in apraxic FTD mutation carriers (FTD+A+, n=31) versus age- and gender-matched non-apraxic FTD mutation carriers (FTD+A-, n=127), each at both symptomatic and presymptomatic stages, as well as age- and gender-matched non-mutation carriers (FTD-A-, n=74, total: n= 232). A surface-based analysis corrected by vertex-wise permutation statistics was conducted on T1 weighted MRI images. Findings were compared to a voxel-based lesion-symptom mapping from stroke apraxia patients.

Compared to FTD-A-, FTD+A+ showed reduced cortical thickness in the frontal, temporal and parietal lobe. Within those areas, a focal reduction in cortical thickness was found in the premotor cortex, inferior frontal and frontal opercular areas for the comparison FTD+A+ versus FTD+A-. These focal sites of degeneration associated with gesture deficits in genetic FTD overlapped with most anterior aspects of lesion-mapping derived from stroke apraxia patients, which are largely limited to middle cerebral artery strokes (MCA strokes).

Our findings indicate particular frontal areas as the specific cortical substrate underlying gesture imitation deficits in genetic FTD. They demonstrate that these areas are contributing to apraxia not only in stroke, but also in neurodegenerative damage, highlighting the frontal contributions to apraxia deficits across disease etiologies and in apraxia models.