

Paper of the month, Januar 2019

DNA Methyltransferase 1 Controls Nephron Progenitor Cell Renewal and Differentiation

Nicola Wanner, Julia Vornweg, Alexander Combes, Sean Wilson, Julia Plappert, Gesa Rafflenbeul, Victor G. Puelles, Raza-Ur Rahman, Timur Liwinski, Saskia Lindner, Florian Grammer, Oliver Kretz, Mary E. Wlodek, Tania Romano, Karen M. Moritz, Melanie Boerries, Hauke Busch, Stefan Bonn, Melissa H. Little, Wibke Bechtel-Walz and Tobias B. Huber

JASN January 2019, 30 (1) 63-78; DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2018070736>

Die funktionelle Einheit der Niere, das Nephron, ist zuständig für die Filtration des Blutes und die Rückresorption lebensnotwendiger Elektrolyte. Bilden sich während der Nierenentwicklung zu wenige Nephronanlagen, bedeutet dies ein höheres Risiko für Bluthochdruck und chronische Nierenerkrankungen, wie die fokale segmentale Glomerulosklerose (FSGS), die sich durch Proteinurie und Abnahme der Nierenfunktion bemerkbar macht. Idiopathische FSGS betrifft schätzungsweise 2000 Menschen in Deutschland und führt meist zu einem irreversiblen Nierenschaden und Dialysepflicht. Verschiedene Umwelteinflüsse, wie maternale Ernährung und bestimmte Toxine während der Schwangerschaft, wurden mit einer niedrigeren Nephronanzahl in Verbindung gebracht. In der vorliegenden Arbeit des Forschungsverbundes STOP-FSGS wird die kritische Rolle der Epigenetik für die Nephronbildung und -anzahl beleuchtet. Die Studie zeigt, dass die de novo-DNA-Methylierung zwar für die Nephronentwicklung überflüssig scheint, die mangelnde Erhaltung der DNA-Methylierung aber zu stark hypoplastischen Nieren im Mausmodell führt. Mit Hilfe der Optischen Projektionstomographie und 3D-Rekonstruktion von embryonalen und neonatalen Nieren identifizierten die Forscher in nephronspezifischen konditionalen Dnmt1 KO-Mäusen eine Dysregulation der Stammzellidentität der Nephrone, die zu einer Beeinträchtigung der Nephronendifferenzierung führt. Die RNA-Sequenzierung zeigt die im Nephron-Vorläuferzellpool regulierten Transkriptionsprogramme auf und verknüpft die DNA-Methylierung mit der Hochregulation von Keimbahngenen und endogenen retroviralen Elementen, die zu einer Interferon-Antwort und Zellzyklushemmung führen. Damit zeigt die vorliegende Arbeit zum ersten Mal die wichtige Rolle der DNA-Methylierung für die Nierenentwicklung und verknüpft Faktoren der maternalen Ernährung mit einer reduzierten Nephronanzahl.

Kommentar von: Nicola Wanner, n.wanner@uke.de

Paper of the month, January 2019

DNA Methyltransferase 1 Controls Nephron Progenitor Cell Renewal and Differentiation

Nicola Wanner, Julia Vornweg, Alexander Combes, Sean Wilson, Julia Plappert, Gesa Rafflenbeul, Victor G. Puelles, Raza-Ur Rahman, Timur Liwinski, Saskia Lindner, Florian Grahammer, Oliver Kretz, Mary E. Wlodek, Tania Romano, Karen M. Moritz, Melanie Boerries, Hauke Busch, Stefan Bonn, Melissa H. Little, Wibke Bechtel-Walz and Tobias B. Huber

JASN January 2019, 30 (1) 63-78; DOI: <https://doi.org/10.1681/ASN.2018070736>

The functional unit of the kidney, the nephron, is responsible for the filtration of the blood and the reabsorption of vital electrolytes. If too few nephrons are formed during kidney development, this results in a higher risk of high blood pressure and chronic kidney diseases, such as focal segmental glomerulosclerosis (FSGS), which manifests itself in proteinuria and a decrease in kidney function. Idiopathic FSGS affects an estimated 2000 people in Germany and usually leads to irreversible kidney damage and obligatory dialysis. Various environmental influences, such as maternal nutrition and certain toxins during pregnancy, have been associated with a lower nephron count. In the present work of the STOP -FSGS research network, the critical role of epigenetic modification for nephron formation and number is examined. This study shows that although de novo DNA methylation is dispensable for nephron development, lack of maintenance DNA methylation leads to severely hypoplastic kidneys in the mouse model. Using whole mount optical projection tomography and 3D reconstructions of embryonic and neonatal kidneys, the researchers identify a dysregulation of nephron stem cell identity leading to impaired nephron differentiation in nephron-specific conditional Dnmt1 KO mice. RNA-sequencing highlights the transcriptional programs regulated in the nephron progenitor cell pool and links DNA methylation to the upregulation of germline genes and endogenous retroviral elements, leading to an IFN response and cell cycle inhibition. The present work shows for the first time the fundamental role of DNA methylation for kidney development and the factors linking maternal nutrition to a reduced number of nephrons.

Comment by: Nicola Wanner, n.wanner@uke.de

Paper of the month, Februar 2019

Pathogenic variants in USP cause a neurodevelopmental disorder with speech delays, altered behavior, and neurologic anomalies

Fountain MD, Oleson DS, Rech ME, Segebrecht L, Hunter JV, McCarthy JM, Lupo PJ, Holtgrewe M, Moran R, Rosenfeld JA, Isidor B, Le Caignec C, Saenz MS, Pedersen RC, Morgan TM, Pfothhauer JP, Xia F, Bi W, Kang SL, Patel A, Krantz ID, Raible SE, Smith W, Cristian I, Torti E, Juusola J, Millan F, Wentzensen IM, Person RE, Küry S, Bézieau S, Uguen K, Férec C, Munnich A, van Haelst M, Lichtenbelt KD, van Gassen K, Hagelstrom T, Chawla A, Perry DL, Taft RJ, Jones M, Masser-Frye D, Dymant D, Venkateswaran S, Li C, Escobar LF, Horn D, Spillmann RC, Peña L, Wierzba J, Strom TM, Parenti I, Kaiser FJ, Ehmke N, Schaaf CP

2019 Genet Med. 2019 doi: 10.1038/s41436-019-0433-1. [Epub ahead of print]

Entwicklungsstörungen sind genetisch sehr heterogen. Die Aufklärung der zugrundeliegenden Mutationen erlaubt, neue Krankheitsbilder zu beschreiben und stellt die Grundlage für das pathophysiologische Verständnis dar und für die Erforschung von möglichen Therapien. Aufbauend auf die zuvor erfolgte Erstbeschreibung heterozygoter USP7-Mutationen in sieben Patienten mit Entwicklungsstörung beschreiben die Autoren nun eine Serie von 16 weiteren Patienten, bei denen sie mittels Genomsequenzierung und Mikroarrayanalysen Mutationen im USP7-Gen identifizierten. Alle Mutationen waren neu entstanden und lagen in einer Kopie vor, was den vermuteten molekularen Mechanismus der Haploinsuffizienz bestätigte.

USP7 kodiert für eine Protease, die Ubiquitinketten von Proteinen abspalten kann und Teil des MAGEL2/TRIM27-Ubiquitin-Ligase-Komplexes ist. Über diese Funktion ist USP7 an verschiedenen zellulären Mechanismen beteiligt, zu denen DNA-Reparatur, Transkription und das endosomale Protein-Recycling zählen.

Eine systematische Analyse der klinischen Merkmale dieser Patienten erlaubte auch im Vergleich zu den vorbeschriebenen Patienten die detailliertere Beschreibung eines klinisch wiedererkennbaren Syndroms. Als charakteristisch wurden dabei eine allgemeine Entwicklungsverzögerung bzw. Intelligenzminderung, Hypotonie, Augenanomalien, Ernährungsschwierigkeiten, gastroösophagealer Reflux, Verhaltensauffälligkeiten und Autismusspektrums-Erkrankungen gefunden. Darüber hinaus zeigten sich weitere spezifische Merkmale wie eine Sprachentwicklungsverzögerung und im MRT nachweisbare Gehirnfehlbildungen. Die klinische Manifestation scheint unabhängig von der Art der Mutation zu sein.

Die Identifikation eines weiteren Gens für Entwicklungsstörungen und die Charakterisierung des klinischen Syndroms bestätigen die Bedeutung des MAGEL2/TRIM27-Ubiquitin-Ligase-Komplexes für die Entwicklung und sind ein Beitrag zur Verbesserung der Versorgung der Betroffenen und deren Familien.

Kommentar von: Prof. Frank Kaiser, frank.kaiser@uksh.de

Paper of the month, February 2019

Pathogenic variants in USP cause a neurodevelopmental disorder with speech delays, altered behavior, and neurologic anomalies

Fountain MD, Oleson DS, Rech ME, Segebrecht L, Hunter JV, McCarthy JM, Lupo PJ, Holtgrewe M, Moran R, Rosenfeld JA, Isidor B, Le Caignec C, Saenz MS, Pedersen RC, Morgan TM, Pfothhauer JP, Xia F, Bi W, Kang SL, Patel A, Krantz ID, Raible SE, Smith W, Cristian I, Torti E, Juusola J, Millan F, Wentzensen IM, Person RE, Küry S, Bézieau S, Uguen K, Férec C, Munnich A, van Haelst M, Lichtenbelt KD, van Gassen K, Hagelstrom T, Chawla A, Perry DL, Taft RJ, Jones M, Masser-Frye D, Dymant D, Venkateswaran S, Li C, Escobar LF, Horn D, Spillmann RC, Peña L, Wierzbica J, Strom TM, Parenti I, Kaiser FJ, Ehmke N, Schaaf CP

Genet Med. 2019 doi: 10.1038/s41436-019-0433-1. [Epub ahead of print]

Developmental disorders are genetically very heterogeneous. Elucidation of the underlying mutations allows description of new clinical entities and provides the basis for the pathophysiological understanding and development of putative future therapies. In addition to the previous description of heterozygous *USP7* mutations in seven patients with neurodevelopmental phenotypes, the authors describe a series of 16 additional patients with variants in the *USP7* gene by applying genome or exome sequencing as well as chromosome microarray analyses. All variants were *de novo* and affect only one gene copy, further supporting haploinsufficiency as molecular mechanism.

USP7 encodes a deubiquitinating enzyme that is an integral component of the MAGEL2/TRIM27 ubiquitin ligase complex. By this, *USP7* is involved in various cellular mechanisms such as DNA repair, transcription and endosomal protein recycling.

Systematic analysis of clinical features of the 16 patients in comparison with the patients described before, allowed a detailed description of a clinically recognisable syndrome.

Characteristic clinical features include developmental delay or rather intellectual disability, hypotonia, eye anomalies, feeding difficulties, gastroesophageal reflux disease, behavioural anomalies, and autism spectrum disorders. In addition, more specific features such as speech delay and MRI detectable brain malformations were identified. Clinical manifestation seems to be independent of mutation type and position.

The identification of an additional gene involved in developmental delay as well as the characterization of a clinical syndrome confirm the impact of the MAGEL2/TRIM27 ubiquitin ligase complex in neurodevelopment and, therefore, contribute to an improvement of patient care and counseling.

Comment by: Prof. Frank Kaiser, frank.kaiser@uksh.de

Paper of the month, März 2019

Cost of illness in Charcot-Marie-Tooth neuropathy: Results from Germany

Schorling S, Thiele S, Gumbert G, Krause S, Klug C, Schreiber-Katz O, Reilich P, Nagels K, Walter MC

Neurology 2019 Mar 27.

Charcot-Marie-Tooth Neuropathien (CMT) gehören mit einer Häufigkeit von 1:2.500 zu den häufigsten vererblichen neuromuskulären Erkrankungen. In Deutschland leben schätzungsweise 33.000 CMT-Patienten. Das Erkrankungsbild ist heterogen und häufig gekennzeichnet durch eine Muskelschwäche und -verschmächigung, Skelettanomalien an den Füßen, Sensibilitätsstörungen und einem langsam fortschreitenden Verlauf. Da keine Heilung möglich ist, beschränkt sich die Behandlung bislang auf die Versorgung mit Hilfs- und Heilmitteln, z. B. Gehhilfen und Physiotherapie, chirurgischen Korrekturen und die medikamentöse Schmerztherapie. Ziel dieser vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Netzwerkverbundes "CMT-NET" geförderten Studie war die Ermittlung der Kosten, die mit einer CMT in Verbindung stehen. Hierfür wurden 397 Patienten mit genetisch gesicherter Diagnose aus Deutschland über das nationale Patientenregister (www.cmt-register.de) kontaktiert und unter anderem zu ihrer Inanspruchnahme gesundheitlicher Leistungen befragt. Diese Informationen wurden entweder mit standardisierten Kostensätzen oder Angaben der Patienten zu den angefallenen Kosten bewertet.

Die Gesamtkosten der CMT lagen bei \$ 22.362 (17.427 €) pro Patient und Jahr. Etwa zwei Drittel entfielen auf direkte Kosten. Einerseits fallen diese Kosten durch die Inanspruchnahme medizinischer Leistungen an. Bei CMT waren dies vor allem Hilfsmittel, Arztbesuche und Heilmittel, wobei Heilmittel wie Physiotherapie mit \$ 1.677 (1.307 €) den größten Anteil ausmachten. Andererseits zählen hierzu Kosten nicht-medizinischer Leistungen, die z. B. durch die Pflege Angehöriger entstehen. Diese sogenannte informelle Pflege war der größte einzelne Kostenfaktor mit durchschnittlich \$ 7.518 (5.859 €) pro Patient und Jahr. Indirekte Kosten stellen hingegen Produktivitätsverluste dar, die z. B. durch Arbeitsausfälle aufgrund der Erkrankung entstehen. Diese lagen bei \$ 7.610 (5.931 €). Unterschiede in den Gesamtkosten bestanden unter anderem in Abhängigkeit von Erkrankungsschwere und -dauer, vorliegenden Begleiterkrankungen sowie der subjektiv wahrgenommenen Einschränkung in Alltag bzw. Beruf. Hochgerechnet auf Deutschland ergaben sich jährliche Gesamtkosten der CMT in Höhe von \$ 735 Mio. (573 Mio. €).

Diese Kostenschätzung aus Deutschland ist die erste Berechnung der CMT-Krankheitskosten weltweit. Die Ergebnisse verdeutlichen die ökonomische Relevanz der CMT und können Anreize für die Entwicklung neuer Therapien liefern. Zudem zeigte sich, dass die durch die Patienten wahrgenommene Erkrankungsschwere in einem engen Zusammenhang mit der Inanspruchnahme der Leistungen und den damit verbundenen Kosten steht. Die Patientenperspektive sollte daher zukünftig stärker Berücksichtigung finden.

Kommentar von: Dr. Elisabeth Schorling

Paper of the month, march 2019

Cost of illness in Charcot-Marie-Tooth neuropathy: Results from Germany

Schorling S, Thiele S, Gumbert G, Krause S, Klug C, Schreiber-Katz O, Reilich P, Nagels K, Walter MC

Neurology 2019 Mar 27.

Charcot-Marie-Tooth neuropathies (CMT) is one of the most common inherited neuromuscular disorders with a prevalence of 1:2,500. Approximately 33,000 CMT patients live in Germany. CMT is associated with heterogeneous symptoms, e. g. muscle weakness and atrophy, foot deformities, sensory loss, and a slowly progressive course of the disease. There is no cure until now; therefore, the treatment encompasses medical aids and therapies such as walking aids and physiotherapy, surgical interventions and pain medication. The aim of this study, supported by the German Ministry of Education and Research (BMBF) within the network CMT-NET, was to estimate the cost associated with CMT. For this purpose, 397 patients with a genetically confirmed CMT diagnosis were contacted via the national CMT patient registry (www.cmt-register.de) and were asked, among other things, for their use of health services. This information was valued monetarily by standardized unit prices or patient reported cost.

The total cost of CMT was \$ 22,362 (17,427 €) per patient and year. About two thirds of this sum was direct cost. On the one hand, direct costs are associated with the consumption of health care interventions. In CMT the use of medical aids, medical consultations and further therapies was particularly often and expenditures for further therapies such as physiotherapy represented the highest amount with \$ 1,677 (1,307 €). On the other hand, direct nonmedical costs, for example due to care provided by relatives, are counted as direct costs. This so-called informal care was the highest single cost factor with a mean of \$ 7,518 (5,859 €) per patient and year. By contrast, indirect costs reflect productivity losses, e. g. due to an incapacity for work because of the disease. Indirect cost in CMT was estimated to be \$ 7,610 (5,931 €). Differences in total cost existed, among others, depending on severity of disease, disease duration, reported comorbidities and the subjectively evaluated impairments in daily activities or work. For Germany, annual total cost of CMT of \$ 735 million (573 million €) was extrapolated.

This estimate from Germany is the first calculation of the cost of illness of CMT worldwide. The results illustrate the economic relevance of CMT and may support the development of new therapies. Moreover, the results indicate the correlation between the subjectively evaluated severity of disease of the patient and the consumption of resources and the associated cost. Therefore, greater consideration should be paid to the patient perspective in future studies.

Comment by Dr. Elisabeth Schorling

Paper of the month, April 2019

NRG1 type I dependent autocrine stimulation of Schwann cells in onion bulbs of peripheral neuropathies

Fledrich R, Akkermann D, Schütza V, Abdelaal TA, Hermes D, Schöffner E, Soto-Bernardini MC, Götze T, Klink A, Kusch K, Krueger M, Kungl T, Frydrychowicz C, Möbius W, Brück W, Müller WC, Bechmann I, Sereda MW, Schwab MH, Nave KA, Stassart RM

Nature Communications, doi: 10.1038/s41467-019-09385-6

Die Fortsätze von Nervenzellen im peripheren Nervensystem, die Axone, sind über ihre gesamte Länge von sogenannten Schwannzellen umgeben. Diese ummanteln die Axone mit einer isolierenden fettreichen Schicht, dem Myelin, das eine schnelle Weiterleitung elektrischer Impulse ermöglicht. Bei Menschen, die an der CMT1A Neuropathie erkrankt sind, ist die Interaktion zwischen Nervenfasern und Schwannzellen gestört, was zu einer langsam fortschreitenden Nervenschädigung führt und Gehschwierigkeiten und Sensibilitätsstörungen bis hin zur Rollstuhlgebundenheit nach sich ziehen kann. Nerven betroffener Patienten weisen im Querschnitt viele Fasern mit zahlreichen fehlerhaft angelagerten Schwannzellen auf. Dieses als „Zwiebelschalenformation“ bezeichnete Phänomen ist schon seit über 100 Jahren bekannt und dient Ärzten seither als wichtiges Diagnosekriterium. Ihre Entstehung ist aber komplett unverstanden.

In der aktuellen vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Netzwerkverbundes "CMT-NET" geförderten Studie konnte mit Hilfe von genetisch veränderten Nagetiermodellen nun gezeigt werden, dass Zwiebelschalenformationen Ausdruck eines aus dem Ruder gelaufenen Reparaturversuchs sind. Das periphere Nervensystem hat die Fähigkeit, sich nach einer akuten Nervenschädigung, wie zum Beispiel einer Quetschung oder Schnittverletzung, selbst zu reparieren. Dabei ordnen sich die Schwannzellen hintereinander der Reihe nach an und bilden so ein langes Band, entlang dessen die Nervenfasern erneut auswachsen. Während dieser Zeit produzieren Schwannzellen den Wachstumsfaktor Neuregulin-1, ein zeitlich begrenztes Signal, das die Reparatur verletzter Nerven unterstützt. In der CMT1A Erkrankung kommt es hingegen zu einer dauerhaften Produktion des Neuregulin-1 Signals in erkrankten Schwannzellen. Dies führt dazu, dass die Schwannzellen zahlreiche Reparaturbänder bilden, die jedoch in dieser Menge überhaupt nicht benötigt werden. So entstehen schlussendlich die zahlreichen Zwiebelschalenformationen, die in Nervenbiopsien von Patienten nachgewiesen werden können. Die genetische Unterdrückung der Neuregulin-1 Produktion in Schwannzellen von erkrankten Mäusen verhinderte nicht nur die Zwiebelschalenformationen, sondern bewirkte auch eine drastische Verbesserung des Krankheitsverlaufs. Der andauernde Reparaturmodus der Schwannzellen, so schlussfolgern die Forscher, sei für die Funktionalität des peripheren Nervensystems demnach sehr schädlich. Da neben der CMT1A Erkrankung auch in anderen Neuropathieformen erhöhte Neuregulin-1 Werte gemessen werden konnten, wird vermutet, dass es sich hierbei um einen universellen Schädigungsmechanismus bei chronischen Nervenerkrankungen handeln könnte.

Weiterführende Studien konzentrieren sich nun darauf, die neu gewonnenen Erkenntnisse therapeutisch nutzbar zu machen.

Paper of the month, April 2019

NRG1 type I dependent autocrine stimulation of Schwann cells in onion bulbs of peripheral neuropathies

Fledrich R, Akkermann D, Schütza V, Abdelaal TA, Hermes D, Schäffner E, Soto-Bernardini MC, Götze T, Klink A, Kusch K, Krueger M, Kungl T, Frydrychowicz C, Möbius W, Brück W, Müller WC, Bechmann I, Sereda MW, Schwab MH, Nave KA, Stassart RM

Nature Communications, doi: 10.1038/s41467-019-09385-6

The nerve fibers of the peripheral nervous system are electrically insulated by a lipid rich sheath, the myelin. Myelin is produced by adjacent Schwann cells and facilitates rapid propagation of electrical impulses. In patients who suffer from the most common inherited neuropathy, CMT1A, the interaction between nerve fibers and Schwann cells is disturbed, which results in a slowly progressive deterioration of the peripheral nerves and, subsequently, in sensory and motor impairment. Transverse sections of the nerves of affected patients display large numbers of fibers with numerous Schwann cells that are incorrectly attached. Known as an “onion-bulb formation”, this phenomenon was first observed more than a century ago and has since served physicians as an important diagnostic criterion. However, scientists have remained baffled by just how it develops.

In the present study that was supported by the German Ministry of Education and Research (BMBF) within the network CMT-NET, it was discovered that onion-bulb formations are an expression of an attempt at repair over which the body has lost control. After acute nerve damage, such as a bruise or cut, the peripheral nervous system has the ability to repair itself. During this process, Schwann cells are arranged one after the other, forming a long strip along which the nerve fibres regrow. In this context, Schwann cells produce the growth factor neuregulin-1, a temporarily restricted signal that supports the repair of injured nerves. In patients suffering from CMT1A, however, the diseased cells continue to produce the neuregulin-1 signal. This causes the Schwann cells to form multiple superfluous repair strips, ultimately resulting in the numerous onion-bulb formations that can be detected in the nerve biopsies of patients. The genetic suppression of Neuregulin-1 in Schwann cells of diseased mice not only prevented Schwann cells from onion bulbing, but also led to a marked improvement of the disease course. The researchers conclude, that the continuous repair mode of the Schwann cells that is mediated by Neuregulin-1, strongly interferes with the functionality of the peripheral nervous system. Since elevated Neuregulin-1 expression levels were also detected in other forms of peripheral neuropathy, a universal disease mechanism for chronic peripheral nerve disorders may be anticipated.

Further studies now focus on making the new findings useful in therapy.

Comment by: Dr. Robert Fledrich and Dr. Ruth M. Stassart

Paper of the month, Mai 2019

Activating Mutations of RRAS2 Are a Rare Cause of Noonan Syndrome

Am J Hum Genet. 2019 May 13. pii: S0002-9297(19)30161-2. doi: 10.1016/j.ajhg.2019.04.013. [Epub ahead of print]

Capri Y, Flex E, Krumbach OHF, Carpentieri G, Cecchetti S, Lißewski C, Rezaei Adariani S, Schanze D, Brinkmann J, Piard J, Pantaleoni F, Lepri FR, Goh ES, Chong K, Stieglitz E, Meyer J, Kuechler A, Bramswig NC, Sacharow S, Strullu M, Vial Y, Vignal C, Kensah G, Cuturilo G, Kazemineh Jasemi NS, Dvorsky R, Monaghan KG, Vincent LM, Cavé H, Verloes A, Ahmadian MR, Tartaglia M, Zenker M.

Das Noonan-Syndrom ist mit einer Prävalenz von etwa 1:3000 die häufigste Erkrankung aus der Gruppe der sog. RASopathien und eine der häufigsten monogenen Erkrankungen überhaupt. Herzfehler, Wachstums- und Entwicklungsstörungen sind die führenden klinischen Symptome. Die molekulare Grundlage der RASopathien ist eine aktivierte /fehlregulierte Signalübertragung in Zellen aufgrund von Mutationen in Komponenten oder Regulatoren des RAS-MAPK-Signalwegs. Für das Noonan-Syndrom sind bereits mehrere Gene bekannt. Dennoch bleibt bislang die genetische Ursache bei einem Teil der Betroffenen (10-20%) immer noch unklar.

In dieser Arbeit, entstanden im Rahmen des BMBF-geförderten Verbundes Rasopathie-Forschung (GeNeRARE), wird erstmals gezeigt, dass spezifische Mutationen im RRAS2-Gen ein Noonan-Syndrom verursachen können. Durch Exom-Sequenzierung oder gezielte genetische Testung wurden in sechs Familien mit vorher ungeklärtem Noonan-Syndrom Varianten im RRAS2-Gen identifiziert. RRAS2 ist ein Mitglied der RAS-Familie. RAS-Moleküle haben die Funktion eines „molekularen Schalters“, indem sie zwischen einer aktiven und inaktiven Konformation wechseln können. Die genaue Bedeutung von RRAS2 in der Signalübertragung war bisher aber unklar. Die bei Patienten mit Noonan-Syndrom beobachteten Varianten betreffen Positionen, die entscheidend für die Regulierung des Aktivierungszustands sind. Die funktionellen Auswirkungen der Mutationen wurden detailliert untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Mutationen eine gesteigerte Aktivität des RAS-MAPK-Signalwegs in Zellen bewirken. Der Grad der Aktivierung für verschiedene Mutationen ist unterschiedlich und scheint mit dem Schweregrad der Erkrankung zu korrelieren. Weitere funktionelle Analysen gaben Hinweise auf Mechanismen, durch welche die Fehlregulation von RRAS2 Zellfunktionen und -eigenschaften verändert.

Die Arbeit etabliert RRAS2 als neues Gen für Noonan-Syndrom und trägt somit bei, die Möglichkeiten der genetischen Diagnostik bei RASopathien weiter zu verbessern. Allerdings scheint RRAS2 nur für einen sehr geringen Anteil der Fälle von Noonan-Syndrom (<1%) verantwortlich zu sein. Die Forschungsergebnisse tragen weiter zum Verständnis der Funktion von RRAS2 und der komplexen Regulation der RAS-MAPK-Signalkaskade bei.

Kommentar von: Prof. Dr. Martin Zenker, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, May 2019

Activating Mutations of RRAS2 Are a Rare Cause of Noonan Syndrome

Am J Hum Genet. 2019 May 13. pii: S0002-9297(19)30161-2. doi: 10.1016/j.ajhg.2019.04.013. [Epub ahead of print]

Capri Y, Flex E, Krumbach OHF, Carpentieri G, Cecchetti S, Lißewski C, Rezaei Adariani S, Schanze D, Brinkmann J, Piard J, Pantaleoni F, Lepri FR, Goh ES, Chong K, Stieglitz E, Meyer J, Kuechler A, Bramswig NC, Sacharow S, Strullu M, Vial Y, Vignal C, Kensah G, Cuturilo G, Kazemineh Jasemi NS, Dvorsky R, Monaghan KG, Vincent LM, Cavé H, Verloes A, Ahmadian MR, Tartaglia M, Zenker M.

With a prevalence of 1:2000-1:3000, Noonan syndrome is the most frequent disorder within the group of the so-called RASopathies and one of the most common monogenic diseases in general. Heart defects, growth and developmental issues are the leading clinical features. The molecular basis of RASopathies is an activated or dysregulated signal transduction in cells because of mutations in components or regulators of the RAS-MAPK signaling pathway. Several genes are known to cause Noonan syndrome, but still, the genetic cause remains unclear in a minority (10-20%) of patients.

This article, supported by the German Ministry of Education and Research (BMBF) within the network GeNeRARE, first demonstrates that specific mutations in the gene RRAS2 may cause Noonan syndrome. By either exome sequencing or targeted genetic testing RRAS2 variants were discovered in six families with previously unexplained Noonan syndrome. RRAS2 is a member of the RAS superfamily. RAS molecules generally act as molecular switches by their ability to cycle between active and inactive conformations. The precise function of RRAS2 and its role in signal transduction, however, has previously remained unclear. The identified Noonan syndrome-associated RRAS2 variants affect positions within the molecule that are critical for the regulation of its activation status. The functional consequences of RRAS2 mutations were investigated in detail. It could be demonstrated that all variants caused increased activation of RAS-MAPK signaling in cells. The degree of activation was variable for different mutations and appeared to be related to the severity of the observed disease. Further functional analyses provided hints at the mechanisms underlying the alteration of cellular functions and properties by RRAS2 dysregulation.

This work establishes RRAS2 as a novel gene for Noonan syndrome, thereby providing more efficient genetic diagnosis for patients with RASopathies. However, the contribution of RRAS2 mutations to the overall Noonan syndrome population seems to be quite low (<1%). The results of this work contribute to a better understanding of RRAS2 functions and the complex regulation of the RAS-MAPK signaling cascade.

Comment by: Prof. Dr. Martin Zenker, martin.zenker@med.ovgu.de

Paper of the month, Juni 2019

Compression of morbidity in a progeroid mouse model through the attenuation of myostatin/activin signalling.

Alyodawi K, Vermeij WP, Omairi S, Kretz O, Hopkinson M, Solagna F, Joch B, Brandt RMC, Barnhoorn S, van Vliet N, Ridwan Y, Essers J, Mitchell R, Morash T, Pasternack A, Ritvos O, Matsakas A, Collins-Hooper H, Huber TB, Hoeijmakers JHJ, Patel K

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2019 Jun; 10(3):662-686. doi: 10.1002/jcsm.12404. Epub 2019 Mar 27.

Altern ist definiert als eine mit der Zeit abnehmende Funktion von der molekularen Ebene bis hin zum Gesamtorganismus, die mit einer steigenden Morbidität und Mortalität einhergeht. Das gilt insbesondere auch für die Niere, die mit zunehmendem Alter morphologische und funktionelle Einschränkungen zeigt. Auf molekularer Ebene tragen DNA-Schädigungen, die zu zellulären Funktionseinschränkungen, Seneszenz und Zelltod führen, zum Altern bei. Der Growth hormone/insulin-like growth factor-1 (GH/IGF-1) Signalweg ist zentral in der Kontrolle von Alterungsprozessen. So wurde ein Modell des Alterns postuliert, nachdem die Häufung von DNA-Schädigungen ein Überlebensprogramm aktiviert, das den GH/IGF-1 Signalweg abschwächt und so auf zellulärer Ebene Erhaltungsmechanismen gegenüber Zellwachstum priorisiert. In der vorliegenden Studie hinterfragten die Autoren dieses Modell, nachdem im Alter Zellwachstum – insbesondere im Muskel - unvereinbar mit der systemischen Erhaltung der Gewebsstruktur und -funktion sein sollte. Zu diesem Zweck nutzten sie ein Mausmodell für Progerie, die *Ercc1^{Δ/-}* Mauslinie. Dieser fehlen Schlüsselkomponenten der DNA Reparatur. *Ercc1^{Δ/-}* Mäuse zeigen bereits früh vorzeitige Alterungserscheinungen in allen Organen und sterben nach circa 4-6 Monaten. Vor dem Einsetzen der ersten Alterungssymptome wurden die *Ercc1^{Δ/-}* Mäuse mit dem löslichen Aktivinrezeptor Typ IIB (*sActRIIB*) behandelt. *sActRIIB* neutralisiert die Wachstum hemmenden Faktoren Myostatin und Aktivin und ist so einer der potentesten Faktoren, um Muskelwachstum hervorzurufen. Das Ergebnis dieser Behandlung war im Vergleich zu unbehandelten *Ercc1^{Δ/-}* Mäusen ein signifikantes Wachstum der Skelettmuskulatur, das mit deutlicher Normalisierung der Muskelstruktur und -funktion einherging. Darüber hinaus wurde auch in anderen Organen altersabhängigen Veränderungen vorgebeugt: im Skelettsystem zeigte sich keine Osteoporose, das Auftreten und die Schwere neurologischer Symptome wurde verzögert und die Nieren zeigten weder morphologisch noch funktionell Zeichen vorzeitigen Alterns. Im Gegensatz zur gängigen Hypothese führt ein das Zellwachstum fördernde Behandlung zu einer deutlichen Senkung der Morbidität in zahlreichen Organsystemen, wobei jedoch die Lebensspanne nicht verlängert wurde. Da man annehmen kann, dass viele glomeruläre Erkrankungen einschließlich der Fokalen Segmentalen Glomerulosklerose (FSGS) durch Alterungsprozesse verstärkt werden, eröffnet die vorliegende Arbeit neue Perspektiven zur Erforschung des therapeutischen Potentials von Myostatin/Aktivin Antagonisten in der Behandlung von Nierenerkrankungen.

Autor: Oliver Kretz

Paper of the month, June 2019

Compression of morbidity in a progeroid mouse model through the attenuation of myostatin/activin signalling.

Alyodawi K, Vermeij WP, Omairi S, Kretz O, Hopkinson M, Solagna F, Joch B, Brandt RMC, Barnhoorn S, van Vliet N, Ridwan Y, Essers J, Mitchell R, Morash T, Pasternack A, Ritvos O, Matsakas A, Collins-Hooper H, Huber TB, Hoeijmakers JHJ, Patel K

J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2019 Jun; 10(3):662-686. doi: 10.1002/jcsm.12404. Epub 2019 Mar 27.

Ageing can be defined as the time-dependent decline in molecular, cellular, tissue and organismal function increasing the risk for morbidity and mortality. This holds also true for the kidney which shows progressive morphological and functional impairment with increasing age. DNA damage-induced cellular functional decline, senescence and cell death contribute to ageing. Growth hormone/insulin-like growth factor-1 (GH/IGF-1) is a central signalling axis that controls ageing. A unified model of ageing proposes that accumulation of DNA damage leads to activation of a survival response programme that attenuates the GH/IGF-1 activity and thereby prioritize of maintenance mechanisms over those that promote growth. In the present study the authors challenge the notion that tissue growth, specifically in muscle, is incompatible with the systemic maintenance of tissue structure and function during ageing. They used the progeroid *Ercc1^{Δ/-}* mutant mouse line which lack key components of several DNA repair pathways. *Ercc1^{Δ/-}* mutant mice progressively show signs of ageing in all organs from about 8 weeks of age and die at 4–6 months of age. Before the onset of first ageing symptoms *Ercc1^{Δ/-}* mice were treated with the soluble activin receptor type IIB (sActRIIB) one of the most potent reagents which massively increases muscle growth by neutralizing the muscle growth inhibitory properties of myostatin and activin. As a result the authors observed the growth of skeletal muscle accompanied by normalization of histopathological abnormalities as well as muscle strength and locomotor activity. The treatment also protects the liver from nuclear abnormalities and metabolic shift, the skeletal system from osteoporosis. It delays the development and severity of neurological abnormalities like tremors and protects the kidney from developing age related morphological alterations and proteinuria. The latter effect is either due to direct action on the kidney or via inter-organ signalling. However, although overall morbidity was attenuated the life span did not increase. Since glomerular diseases including Focal Segmental Glomerular Sclerosis (FSGS) can be considered to be superimposed by kidney ageing the present study highlights the need for future investigations focusing on assessing the therapeutic potential of antagonism of the myostatin/activin signalling cascade in sustaining renal health and quality of life until old age.

Author: Oliver Kretz

Paper of the month, Juli 2019

Mutations in SMARCB1 and in other Coffin-Siris syndrome genes lead to various brain midline defects

Filatova A, Rey LK, Lechler MB, Schaper J, Hempel M, Posmyk R, Szczaluba K, Santen GWE, Wieczorek D, Nuber UA

Nat Commun. 2019 Jul 4;10(1):2966. doi: 10.1038/s41467-019-10849-y

Das Coffin-Siris-Syndrom ist eine vermutlich viel zu selten diagnostizierte, komplexe Entwicklungsstörung mit unterschiedlichen Symptomen und verschiedenen zugrundeliegenden genetischen Veränderungen, die spontan auftreten. Typisch sind eine generelle Verzögerung der Entwicklung, eine Minderung der Intelligenz und ein reduziertes Sprachvermögen. Die Betroffenen zeigen auch körperliche Auffälligkeiten: Sie sind klein, haben unter anderem dichte Augenbrauen, einen breiten Nasenrücken, tief angesetzte Ohren, einen breiten Mund und charakteristische Veränderungen an den Finger- und Zehennägeln. Viele Betroffene leiden auch unter Epilepsie, haben Augen- oder Herzprobleme oder andere organische Symptome.

Professorin Ulrike Nuber von der TU Darmstadt hat anhand eines Mausmodells gezeigt, welche strukturellen Veränderungen bei dieser Entwicklungsstörung im Gehirn möglich sind und zusammen mit klinischen Kollegen nachgewiesen, dass solche Veränderungen auch tatsächlich bei den Betroffenen vorhanden sind, und zwar in unterschiedlichem Ausmaß. Das von dem Forscherteam zusammen mit dem BMBF-geförderten Forschungsnetzwerk Chromatin-Net erarbeitete Wissen wird helfen, die klinische Diagnosestellung zu verbessern und liefert möglicherweise Ansatzpunkte für eine Behandlung.

Nuber wollte mit dem Mausmodell klären, was genau passiert, wenn ein Gen verändert wird, dessen Proteinprodukt zu einem Komplex gehört, der die DNA für das Ablesen der Gene freiräumt. Es war bekannt, dass Mutationen in diesem Gen zu Krebs und Entwicklungsstörungen führen können. Nuber und ihr Team beobachteten, dass Mäuse, bei denen die Aktivität des SMARCB1-Gens in Gehirnstammzellen gedrosselt ist, markante Veränderungen im Gehirn zeigten. Zum einen war das Gehirn der Tiere viel zu klein, zum anderen zeigte es auffällige Mittelliniendefekte. Bei vielen Mäusen waren etwa die Nervenfaserbündel, die rechte und linke Gehirnhälfte miteinander verbinden, unterentwickelt oder fehlten ganz. Viele Mäuse hatten zudem krankhafte Veränderungen im Kleinhirn und in der Mitte des Vorderhirns. Außerdem war die Struktur, welche die Gehirnflüssigkeit produziert, zu groß.

Da SMARCB1-Mutationen bereits als krankheitsverursachende Veränderung beim Coffin-Siris-Syndrom bekannt sind, bat Nuber Professor Dagmar Wieczorek, Direktorin des Instituts für Human-genetik an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und Projektleiterin im Chromatin-Net, sowie weitere Wissenschaftler, die MRT-Scans von Betroffenen noch einmal mit Blick auf die neuen Erkenntnisse auszuwerten. Die detaillierte Analyse zeigte, dass die Betroffenen ein ähnliches Spektrum an strukturellen Veränderungen aufweisen, was in diesem Ausmaß vorher nicht bekannt gewesen ist.

Durch die Erkenntnisse aus dem Mausmodell wissen die Ärzte nun, nach was sie auf den MRT-Scans genau suchen müssen. Dies ist ein ganz wichtiges Zusatzwissen für die Diagnostik. Die Mäuse mit der gedrosselten Aktivität des SMARCB1-Gens sind auch ein wichtiges Tiermodell, um mögliche Therapieansätze zu testen.

Paper of the month, July 2019

Mutations in SMARCB1 and in other Coffin-Siris syndrome genes lead to various brain midline defects

Filatova A, Rey LK, Lechler MB, Schaper J, Hempel M, Posmyk R, Szczaluba K, Santen GWE, Wieczorek D, Nuber UA

Nat Commun. 2019 Jul 4;10(1):2966. doi: 10.1038/s41467-019-10849-y

Coffin-Siris syndrome is a complex developmental disorder that is probably far too rarely diagnosed. It is defined by specific clinical signs and mutations in a group of genes that usually occur *de novo*. Typical clinical findings are a general delay in development, intellectual disability and reduced ability to speak. Affected individuals also present with short stature, have thick eyebrows, a broad nasal bridge, low set ears, a broad mouth and characteristic changes at finger-and toenails. Many also suffer from epilepsy, eye or heart problems or other anomalies.

Professor Ulrike Nuber from the TU Darmstadt generated a mouse model for Coffin-Siris syndrome and investigated structural brain changes in these animals. Together with clinical colleagues, she demonstrated that such changes are actually also present in affected individuals. The knowledge gained by the research team together with the BMBF-funded Chromatin-Net research network will help to improve clinical diagnosis and possibly provide starting points for treatment.

Nuber used the mouse model to investigate what happens when the activity of a Coffin-Siris syndrome gene, *SMARCB1*, is reduced in brain stem cells. The *SMARCB1* protein product belongs to a chromatin remodeling complex that makes the DNA accessible so that genes can be scanned. Nuber and her team observed that the *Smarcb1* mutant mice showed significant changes in the brain. On the one hand, the brain of the animals was too small, on the other hand, it showed conspicuous midline defects. In many mice, for example, the nerve fibre bundles connecting the right and left hemispheres of the brain were underdeveloped or completely missing. Many mice also exhibited pathological changes in the cerebellum and in the middle of the forebrain. In addition, the structure producing the brain fluid was too large.

Nuber asked Professor Dagmar Wieczorek, Director of the Institute of Human Genetics at the Heinrich Heine University in Düsseldorf and project leader in the Chromatin-Net consortium, as well as other scientists to evaluate the MRI scans of patients in the light of the new findings.

Detailed analyses then revealed that individuals with Coffin-Siris syndrome demonstrate a similar spectrum of structural changes. The extent to which this is the case was previously unknown. Based on the findings from the mouse model, the physicians now know exactly what they have to look for on MRI scans. This is key additional knowledge for diagnostics and prognosis of patients. The mice with the reduced activity of the *SMARCB1* gene are also an important animal model for testing potential therapeutic approaches.

The text is courtesy of a press release by the TU Darmstadt.

Paper of the month, August 2019

Management of Tamm-Horsfall Protein for Reliable Urinary Analytics

Proteomics Clin Appl. 2019 Aug 19:e1900018. doi: 10.1002/prca.201900018. [Epub ahead of print]

Xu X, Barreiro K, Musante L, Kretz O, Lin H, Zou H, Huber TB, Holthofer H

Im Urin enthaltene extrazelluläre Vesikel (uEVs) sind kleine (30–400nm im Durchmesser), von einer Phospholipid–Doppelmembran umgebene Strukturen, die aktiv von allen Zelltypen des Nephrons und der ableitenden Harnwege sezerniert werden. Sie haben ihren Ursprung entweder im endosomalen Kompartiment oder direkt von Evaginationen der Zellmembran. Die Vielzahl unterschiedlicher uEVs, die man im Urin nachweisen kann, stellen eine Momentaufnahme pathophysiologischer Prozesse in der Niere und im gesamten Körper dar, da EVs in der Niere aus der systemischen Blutzirkulation gefiltert werden. Somit stellt die Analyse der uEVs einen vielversprechenden Ansatz dar, um dynamische molekulare Informationen zu frühen pathologischen Veränderungen unterschiedlicher (renaler) Erkrankungen, Voraussagen zu ihrem Verlauf oder dem Ansprechen auf Therapie zu erlangen. In diesem Zusammenhang hat eine Arbeitsgruppe des STOP-FSGS Konsortiums ein robustes, standardisiertes Protokoll zur Isolation von uEVs etabliert, da ein solches bislang nicht verfügbar war. Insbesondere Tamm–Horsfall Protein (THP; Uromodulin), das häufigste und glykanreiche Glykoprotein im Urin, kann eine große Menge von uEVs binden. THP stellt daher eine störende Kontamination bei der Durchführung von Urinalysen dar. In der vorliegenden Studie wurden uEVs mittels hydrostatischer Filtrationsdialyse (HFD) isoliert und mit einer definierten Harnstofflösung behandelt, um die Freisetzung von uEVs zu optimieren. Dieses Protokoll garantiert gegenüber gängigen Verfahren eine Anreicherung von isolierten uEVs, wobei gleichzeitig die Kontamination signifikant reduziert wurde, wie transmissions-elektronenmikroskopische, Western blot und Proteom-Analysen zeigten. Laut der Autoren erfüllt das Verfahren die Anforderungen eines klinischen Forschungslabors und erlaubt eine schnelle und einfache Probenaufarbeitung zur weiteren Analyse. Das Management der THP Kontamination kann einfach in jeglichen uEVs Isolierungsprozess integriert werden und bietet erhebliche Vorteile bei verschiedensten nachfolgenden Analyseverfahren. In Anbetracht der zunehmenden Bedeutung von uEVs als Biomarker renaler und systemischer Erkrankungen ist das hier im Detail beschriebene Protokoll von breitem Interesse.

Kommentar von: Oliver Kretz

Paper of the month, August 2019

Management of Tamm-Horsfall Protein for Reliable Urinary Analytics

Proteomics Clin Appl. 2019 Aug 19:e1900018. doi: 10.1002/prca.201900018. [Epub ahead of print]

Xu X, Barreiro K, Musante L, Kretz O, Lin H, Zou H, Huber TB, Holthofer H

Urinary extracellular vesicles (uEVs) are small size (30–400nm in diameter) phospholipid bilayered structures actively secreted by all cell types facing the urinary space. Originating either from the endosomal compartment or directly from evagination of the cellular plasma membrane, diversity of extracellular vesicles (EV) found in urine can be considered as a snapshot of physiopathological activity upstream in the kidney and entire body as reflected by EVs filtered from circulation through the kidney. Thus, uEV profiling represents a lucrative platform for novel biomarkers to provide dynamic molecular information for early disease mechanisms, prediction of outcome and response to therapy. In this context members of the STOP-FSGS consortium established a robust, standardized isolation protocol for uEVs which is still missing so far. Particularly, Tamm–Horsfall protein (THP; uromodulin), the most abundant and glycan-rich glycoprotein in the urine can naturally entrap a large portion of uEVs. Thus THP represents an unwanted “contaminant” in urinary assays. In the present study, uEVs were isolated by hydrostatic filtration dialysis (HFD) and treated with a defined solution of urea to optimize release of uEVs. This protocol led to an enrichment of isolated uEVs combined with significantly reduced contamination as confirmed by transmission electron microscopy, Western blotting, and proteomic profiling in mass spectrometry. The authors claim that this method meets the needs of a clinical research laboratory and allows quick and easy sample process before downstream analytics. Management of THP can be easily integrated into EV isolation process done by any method and provides major benefits for comprehensive sample analytics. With regard to the increasing relevance of uEVs as biomarkers for renal or systemic diseases, the protocol provided here in detail could be of broad interest.

Comment by: Oliver Kretz

Paper of the month, September 2019

SSBP1 mutations cause mtDNA depletion underlying a complex optic atrophy disorder

The Journal of Clinical Investigation 2019 Sep 24. doi: 10.1172/JCI128514. [Epub ahead of print]

Del Dotto V, Ullah F, Di Meo I, Magini P, Gusic M, Maresca A, Caporali L, Palombo F, Tagliavini F, Baugh EH, Macao B, Szilagyi Z, Péron C, Gustafson MA, Khan K, La Morgia C, Barboni P, Carbonelli M, Valentino ML, Liguori R, Shashi V, Sullivan JA, Nagaraj S, El-Dairi M, Iannaccone A, Cutcutache I, Bertini E, Carozzo R, Emma F, Diomedi-Camassei F, Zanna C, Armstrong M, Page MJ, Boesch S, Wortmann SB, Kopajtich R, Stong N, Sperl W, Davis E, Copeland WC, Seri M, Falkenberg M, Prokisch H, Katsanis N, Tiranti V, Pippucci T, Carelli V.

Das "Single strand binding protein 1" (SSBP1) ist ein Schlüsselprotein für die Replikation der mitochondrialen DNA (mtDNA). Zusammen mit der DNA-Polymerase POLG und der Helikase Twinkle bildet es das "minimale" Replisom. Die Komponenten des mitochondrialen Replisoms sowie der „salvage pathways“, die eine ausgewogene Verfügbarkeit von Nukleotiden gewährleisten, haben eine zweifache Bedeutung. Erstens sind diese Proteine für die Replikation von mtDNA verantwortlich, eine in den letzten Jahren viel diskutierte Aufgabe, und stellen somit entscheidende Faktoren für die Biologie dieser Organellen dar. Und zweitens hat sich in den letzten 3 Jahrzehnten herausgestellt, dass die meisten dieser Proteine auch humanpathologische Bedeutung haben. Demnach haben Mutationen in diesen Genen das Potenzial die mtDNA-Replikation zu beeinträchtigen, was zur Depletion mitochondrialer DNA führt und meist sehr schwere und tödliche Erkrankungen des Kindesalters hervorruft.

Ebenso können allelische Mutationen in den gleichen Genen mit der Zeit auch zu einer Anhäufung von mtDNA-Fehlern in post-mitotischem Gewebe führen, insbesondere zu multiplen mtDNA-Deletionen in Muskeln und im Gehirn. Bei solchen Erkrankungen handelt es sich um spät einsetzende Phänotypen, die von einer chronisch-progressiven externen Ophthalmoplegie (CPEO) dominiert werden und unter Umständen auch mit einer Multisystembeteiligung verbunden sein können.

Obwohl SSBP1 eines der ersten untersuchten Schlüsselproteine ist, fehlte es seit rund 30 Jahren in der Liste der Gene, die mit den mitochondrialen Erkrankungen aus der Gruppe der „mtDNA maintenance defects“ assoziiert sind. Die vorliegende Arbeit (und weitere Veröffentlichungen in der gleichen Journal-Ausgabe) zeigt, dass eine Erkrankung aus dem Formenkreis der Optikus-Atrophien sowie eine Transplantations-pflichtige Niereninsuffizienz bei Erwachsenen mit dominanten und bei Kindern mit rezessiven SSBP1-Mutationen auftreten kann.

Die aktuelle Studie wurde in internationaler Zusammenarbeit und mit mitoNET-Partnern durchgeführt. Die Forschungsarbeit umfasste Untersuchungen von Patienten-Geweben und Fibroblasten-Zelllinien, sowie in-vitro-Experimente. Die Autoren verdeutlichen mit den Ergebnissen, dass die identifizierten SSBP1-Mutationen zu einer reduzierten Effizienz der mtDNA-Replikation und einer teilweisen mtDNA-Depletion führen. Dies bedingt in den meisten Fällen eine funktionelle Beeinträchtigung der Mitochondrien.

Kommentar von: Holger Prokisch, TU München

Paper of the month, September 2019

SSBP1 mutations cause mtDNA depletion underlying a complex optic atrophy disorder

The Journal Clinical Investigation 2019 Sep 24. pii: 128514. doi: 10.1172/JCI128514. [Epub ahead of print]

Del Dotto V, Ullah F, Di Meo I, Magini P, Gusic M, Maresca A, Caporali L, Palombo F, Tagliavini F, Baugh EH, Macao B, Szilagyi Z, Péron C, Gustafson MA, Khan K, La Morgia C, Barboni P, Carbonelli M, Valentino ML, Liguori R, Shashi V, Sullivan JA, Nagaraj S, El-Dairi M, Iannaccone A, Cutcutache I, Bertini E, Carozzo R, Emma F, Diomedi-Camassei F, Zanna C, Armstrong M, Page MJ, Boesch S, Wortmann SB, Kopajtich R, Stong N, Sperl W, Davis E, Copeland WC, Seri M, Falkenberg M, Prokisch H, Katsanis N, Tiranti V, Pippucci T, Carelli V.

Single strand binding protein 1 (SSBP1) is a key protein for replication of mitochondrial DNA, which together with the replicative polymerase POLG and the helicase Twinkle constitutes the “minimal” replisome. The components of mitochondrial replisome, as well as of the salvage pathways maintaining a balanced availability of nucleotides, have a two-fold relevance.

First, these proteins are instrumental to replicate mtDNA, a task that has been hotly debated in recent years, key to the biology of these organelles. Second, due to such a crucial role, the large majority of these proteins have been involved in human pathology over the last 3 decades. It is now clear that pathogenic mutations in these genes have the potential to impair mtDNA replication leading to depletion of mitochondrial genomes, usually expressed as very severe and lethal infantile phenotypes. At the same time, allelic mutations in the same genes may also lead to slow accumulation of mtDNA errors over time in post-mitotic tissues, in particular multiple mtDNA deletions in muscle and brain. These disorders are late-onset phenotypes dominated by chronic progressive external ophthalmoplegia (CPEO), which may be associated or not to a wider multisystem involvement.

SSBP1, despite being one of the first candidates to be investigated, has been missing in the list of genes associated with mtDNA maintenance human diseases for about 30 years. Now this report (and more published in the same issue of the Journal) close the full circle by demonstrating that an optic atrophy spectrum disorder, including kidney insufficiency necessitating transplantation, affects adults due to dominant and children due to recessive SSBP1 mutations. The current paper, from an international collaboration including mitoNET partners, by studying patient-derived tissues, fibroblast cell lines and by *in vitro* experiments the authors provide mechanistic evidences that the identified SSBP1 mutations lead to reduced efficiency of mtDNA replication and partial mtDNA depletion, reflected in most cases in functional mitochondrial impairment.

Comment by: Holger Prokisch, TU München

Paper of the month, Oktober 2019

Artificial intelligence in nephropathology

Nature Reviews Nephrology 2019 Oct 9. doi: 10.1038/s41581-019-0220-x. [Epub ahead of print]

Peter Boor

Der diskutierte Aufsatz wurde im Rahmen des Forschungsverbunds STOP-FSGS erarbeitet. Die Nephropathologie ist ein komplexes, hochtechnisches und diagnostisch anspruchsvolles Spezialfach der Pathologie und eine entscheidende Komponente für Diagnoseverfahren in der Nephrologie. Die Nephropathologie befasst sich hauptsächlich mit einer großen Anzahl verschiedener seltener bis sehr seltener Krankheiten, für die es eine Reihe quantitativer und semi-quantitativer Scoringssysteme gibt. Diese Systeme sollen die Vorhersagekraft in Bezug auf den Krankheitsverlauf oder die Behandlungsentscheidungen verbessern, stellen jedoch einen zusätzlichen Arbeitsaufwand für die abnehmende Anzahl von Nephropathologen dar und haben häufig eine schlechte Reproduzierbarkeit, die ihre Nützlichkeit einschränkt.

Die jüngsten Technologieentwicklungen (z.B. whole slide scanner, Rechenpower und Speicherkapazität) ermöglichen eine effektive Digitalisierung der Pathologie - weg von den Mikroskopen hin zu Computerbildschirmen und vollständig digitalen Arbeitsabläufen. Dies eröffnet enorme Möglichkeiten für die digitale Bildanalyse. Besonders vielversprechend für die Pathologiediagnostik sind hierbei Entwicklungen der künstlichen Intelligenz und vor allem das Deep Learning.

In dem hervorgehobenen Artikel erörtert der Autor die jüngsten Entwicklungen bei der Anwendung von Deep Learning in der Nephropathologie. Die Grundkonzepte des Deep Learning und insbesondere die für die Bilder verwendete Rechenarchitektur, die sogenannten Convolutional Neural Networks, werden diskutiert. Eine beispielhaft aufgeführte Anwendung ist die Automatisierung von Routineaufgaben in der quantitativen Pathologie. Dies könnte zukünftig eine erhebliche Zeitersparnis erzielen sowie eine reproduzierbare quantitative Pathologie als Grundlage für die aus der Gewebehistologie abgeleitete Präzisionsmedizin bereitstellen. Es werden auch andere Anwendungen besprochen, wie die Vorhersage molekularer Veränderungen (in der Onkopathologie), die für Pathologen bisher nicht möglich waren. Die gegenwärtig noch zahlreichen Einschränkungen in diesem neuen Forschungsbereich werden ebenfalls angesprochen. Dazu zählen auch die mangelnde Erklärbarkeit der Modelle und die fehlenden annotierten Datensätze zum Trainieren und Entwickeln von Deep Learning-Modellen. Der Bildungsbedarf für eine neue Generation von Pathologen wird diskutiert.

Schließlich fasst der Aufsatz die künstliche Intelligenz in der digitalen Pathologie als bahnbrechende Entwicklung zusammen, die die Art und Weise, wie Pathologie durchgeführt wird, verändern wird. Diese Methode bleibt dennoch, wie auch andere Techniken (z.B. die molekulare Pathologie) ein Teil der Pathologie und kann nur von oder zusammen mit Pathologen angewendet und interpretiert werden.

Kommentar von: Peter Boor, Universitätsklinikum Aachen

Paper of the month, October 2019

Artificial intelligence in nephropathology

Nature Reviews Nephrology 2019 Oct 9. doi: 10.1038/s41581-019-0220-x. [Epub ahead of print]

Peter Boor

The discussed paper was written within the STOP-FSGS research network. Nephropathology is a complex and highly technical and diagnostically demanding subspecialty of pathology and a crucial component of the diagnostic algorithm in nephrology. Nephropathology mostly deals with a large number of various rare to very rare diseases, for many of which a number of quantitative and semi-quantitative scoring systems exist attempting to improve predictive power for disease progression or treatment guidance in terms of precision medicine. However, these systems provide additional work- and time-intensive burden on the decreasing number of nephropathologists, and often have poor reproducibility limiting their utility.

The recent advancement of technologies, including whole slide scanners, computing resources and storage capacity, enables effective digitalization of pathology. Similarly to radiology, pathology now moves away rapidly from microscopes towards computer screens and fully digital workflow. This brings huge possibilities with regard to digital image analyses. In particular, the developments of artificial intelligence and particularly of deep learning, hold great promises to advance and augment pathology diagnostics in the near future.

In the highlighted article, the author discusses the recent developments in the application of deep learning in nephropathology. The basic concepts of deep learning and particularly of the computational architecture used for deep learning in images, the so-called convolutional neural networks are discussed. Potential applications of deep learning are exemplified, which include e.g. automating routine tasks in quantitative pathology as described above, that has the potential to save a significant amount of time and also provide reproducible quantitative pathology as a basis of tissue histology-derived precision medicine. Also, other unforeseen applications are discussed, such as prediction of molecular alterations (in onco-pathology), which were not previously possible for human pathologists. The current limitations, which are numerous in this emerging field are being addressed as well, including the lack of explainability of the models and missing annotated datasets to train and develop deep learning models. The need for educations for a new generation of pathologists is discussed.

Finally, the paper summarizes the exciting emerging field of artificial intelligence in digital pathology as ground-breaking emerging development that will transform the way how pathology is performed. Importantly, it should be realized, that this method similarly to molecular pathology, is a part of pathology and can only be applied and interpreted by or together with pathologists.

Comment by: Peter Boor