



## Kompetenznetzwerk Immobilisationsbedingte Muskelstörungen

„KNIMS“ - Erste Jahrestagung  
8. & 9. März 2019  
:envihab, DLR Köln





# Kompetenznetzwerk Immobilisationsbedingte Muskelstörungen

## **‚KNIMS‘ Erste Jahrestagung**

**8. & 9. März 2019  
:envihab, DLR Köln**

*Muskelschwund und -schwäche sind ein Problemfeld mit stark anwachsender Bedeutung in der Medizin. In vielen Fällen sind Bewegungsmangel und fehlende Trainingsmaßnahmen Mit-Verursacher. Bisher existiert kein Fachpodium, auf dem Diagnostik und Therapie immobilisationsbedingter Muskelstörungen diskutiert wird. Ziel der Veranstaltung ist es darum, wissenschaftlich und praktisch tätige Kliniker und Grundlagenforscher in einem Netzwerk miteinander zu verbinden.*

[knims@dlr.de](mailto:knims@dlr.de) [www.dlr.de/knims](http://www.dlr.de/knims)

### **Wissenschaftlicher Beirat**

Wilhelm Bloch (Deutsche Sporthochschule Köln)  
Dieter Blottner (Charité Berlin)  
Christoph Clemen (Universität zu Köln)  
Michael Drey (Klinikum der Universität München)  
Dieter Leyk (Institut für Präventivmedizin der Bundeswehr Koblenz)  
Jörn Rittweger (Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt Köln)  
Michele Salanova (Charité Berlin)  
Eckhard Schönau (Uniklinik Köln)  
Benedikt Schoser (Klinikum der Universität München)  
Simone Spuler (Berlin)  
Christina Stark (Uniklinik Köln)  
Werner Stenzel (Charité Berlin)  
Matthias Vorgerd (Universitätsklinikum der Ruhr-Universität Bochum)

# Programm

## Freitag, 8. März 2018

12:30 **Registrierung & Imbiss**

13:30 **Jörn Rittweger:** Begrüßung & Einleitung

### Session 1:

#### Chairs: **Benedikt Schoser & Jörg Höfeld**

13:45 **Simone Spuler:** DNA double strand breaks and histone 1 loss characterize muscle stem cells in critical illness myopathy

14:15 **Sebastian Gehlert:** Der Einfluss progressiver und konstanter Krafttrainingsbeanspruchung auf die anabole Signalgebung, Autophagie und Chaperonregulation im humanen Skelettmuskel

14:30 **Lothar Seefried:** Muscle weakness and fatigue in altered phosphate metabolism

14:45 **Martin Flück:** Failed repair of torn human rotator cuff muscle is associated with the deterioration of metabolic markers of muscle activity

15:00 **Martin Schönfelder:** Vgll3: Ein Hippo Signaling-assoziiertes Regulator, der bei Muskelhypertrophie, Regeneration, muskulärer Dystrophie und im Alveolaren Rhabdomyosarkom hoch exprimiert wird

**15:15–15:45 Posterschau (mit Kaffee)**

### Session 2

#### Chairs: **Dieter Leyk & Christina Stark**

15:45 **Klaus Engelke:** Bildgebende Verfahren zur Bestimmung von Muskeleigenschaften

16:15 **Oliver Semler:** Intensive interval rehabilitation in children with Osteogenesis imperfecta

16:30 **Kai Nestler:** Volumetrie der oberen Extremität zur Quantifizierung von Atrophie- und Hypertrophieverläufen: Ergebnisse zur Reliabilität und Wiederholpräzision mittels inverser Wasserverdrängung

16:45 **Henning Wackerhage:** Transgene Mausmodelle mit einer erhöhten Ausdauerleistungsfähigkeit: Systematisches Review und bioinformatische Analyse

17:00 **Ulrich Limper:** Die klinische Perspektive: Potentiale des Ganzkörpervibrations-trainings beim Patienten mit schwerem Verbrennungstrauma

17:15 **Sebahattin Cirak:** Recessive PIEZO2 stop mutation causes distal arthrogryposis with distal muscle weakness, scoliosis and proprioception defects

**17:15–17:45 Posterschau (mit Kaffee)**

17:45 **Martin Daumer:** Mobile accelerometry in clinical trials: Towards regulatory decision making

18:15 **Dominik Pesta:** Muskelbedingte Stoffwechselstörungen

**Ab 20:00**     **Gemeinsames Abendessen im Eltzhof (auf eigene Kosten)**

## Samstag, 9. März 2018

### Session 3

**Chairs: Eckhard Schönau & Werner Stenzel**

8:30 **Michael Drey:** Therapie der Sarkopenie

9:00 **Wilhelm Bloch:** Exzentrisches Training

9:30 **Hanna Taipaleenmäki:** Pharmacological inhibition of sclerostin protects from breast cancer-induced osteolytic disease and muscle weakness

9:45 **Salem Alawbathani:** Late diagnosis of a truncating WISP3 mutation entails a severe phenotype of progressive pseudorheumatoid dysplasia

10:00 **Hülya Daimagüler:** Genotype-phenotype correlations in novel form of PYROXD1-related congenital myopathy

10:15 **Dieter Blottner:** Myotonometrie: Grundlagen und Anwendung in der Weltraummedizin

**10:30–11:00 Posterschau (mit Kaffee)**

11:00 **Christoph Clemen:** Impact of acute and chronic exercise on normal and diseased skeletal muscle tissue

11:15 **Mona Kreutzer:** Genotype-phenotype correlations in fast myosin related congenital myopathy

11:30 **Eckhard Schönau:** Muskeltraining in der pädiatrischen Rehabilitation

**12:00–12:30 Gemeinsame Diskussion**

**12:30**            **Imbiss und Verabschiedung**

# Kompetenznetzwerk

## Immobilisationsbedingte Muskelstörungen

### Wozu KNIMS?

#### **Jörn Rittweger**

Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt (DLR), Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin, Muskel- und Knochenstoffwechsel

Die Skelettmuskulatur stellt das größte Organsystem des Menschen dar. Neben ihren mechanischen Aufgaben (Aktuation, Federung, Dämpfung) ist die Muskulatur zentral in den Energie-Stoffwechsel und in endokrine Vorgänge des Körpers eingebunden. Bewegungsmangel, von der sitzenden Bürotätigkeit bis hin zur Bettlägerigkeit auf Intensiv-Stationen führt bekanntermaßen zu Muskelschwund. Weniger bekannt ist, dass auch Sauerstoffmangel dazu beiträgt. Sowohl Bewegungsmangel als auch Sauerstoffmangel führen zu Entzündungsreaktionen und Stoffwechselveränderungen die sich auf den gesamten Organismus auswirken können.

Drei wichtige Fragen für ein Kompetenz-Netzwerk sind demnach

- 1) Diagnostik: Wie können wir Muskelschwund beim Patienten erkennen?
- 2) Physiologie: Welche Stoffwechselveränderungen werden durch Muskelschwund verursacht?
- 3) Therapie: Welche physio- und pharmako-therapeutischen Optionen haben wir?

Lösung dieser drei Probleme verspricht eine deutliche Verbesserung von Gesundheit und Autonomie bei vielen Patienten. Interdisziplinäre Zusammenarbeit wird hierzu essenziell sein.

# Kompetenznetzwerk

## Immobilisationsbedingte Muskelstörungen

### Abstracts

---

1

#### **DNA double strand breaks and histone 1 loss characterize muscle stem cells in critical illness myopathy**

**Simone Spuler**<sup>1,2</sup>, Joanna Schneider<sup>1,3</sup>, Devakumar Sundaravinayagam<sup>2</sup>, Stefanie Grunwald<sup>1</sup>, Eric Metzler<sup>1</sup>, Alexander Gosdschan<sup>1,2</sup>, Andreas Marg<sup>1</sup>, Stefanie Mützel<sup>1,2</sup>, Michela di Virgilio<sup>2</sup>, Baris Tursun<sup>2</sup>

1 Experimental and Clinical Research Center, a joint cooperation of the Charité Universitätsmedizin Berlin and the Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany

2 Max Delbrück Center for Molecular Medicine within the Helmholtz Society, Berlin, Germany

3 Clinical Scientist Program of the Berlin Institute of Health, Berlin, Germany

Critical illness myopathy (CIM) is a devastating acquired muscle wasting disease caused by prolonged immobilization during critical illness. The impact on rehabilitation, hospital costs and quality of life is enormous. The exact cause is unknown, but in addition to immobilization and myosin breakdown, inflammatory and metabolic processes play a role. Notably, severe type 2 fiber atrophy, a histological hallmark of CIM, persists for many years. We asked, whether satellite cells, the stem cells of skeletal muscle, might be persistently epigenetically modified in CIM. After ethical approval we performed skeletal muscle biopsies from M. vast lat. of 50 patients free of preexisting neuromuscular disorders with very high risk of developing CIM (SOFA score  $\geq 8$  on three consecutive days) during the first five days on intensive care unit (ICU). Skeletal muscle stem cells were isolated, amplified (Marg et al. J Clin Inv. 2014) and characterized for their myogenic profile (PAX7, desmin, proliferation and fusion capacity) as well as for their epigenetic fingerprint by RNA-Seq, immunofluorescence stain of NURD complex components, for analysis of DNA breaks (DSB) and repair as well as ATACSeq analysis. CIM primary early myoblasts were also transplanted into immunodeficient NOG mice to assess their regenerative potential. We found dramatic epigenetic changes in all CIM samples as compared to normal and nonCIM-ICU controls. Loosening of the entire chromatin structure, loss of histone 1 and subsequent DSB characterized the morphology of CIM muscle stem cells. After transplantation into NOG mice, CIM early myoblasts made human muscle fibers but could not regenerate the PAX7 positive stem cell pool. In controls, repopulation of the satellite cell niche was readily found. These results demonstrate global and lasting epigenetic changes in human muscle stem cells during the first days of ICU treatment providing a good explanation for the insufficient capacity to regenerate muscle strength in CIM patients. These findings should be compared to other causes of immobilization in future studies.

## Der Einfluss progressiver und konstanter Krafttrainingsbeanspruchung auf die anabole Signalgebung, Autophagie und Chaperonregulation im humanen Skelettmuskel

**Sebastian Gehlert**<sup>1,2</sup>, **Daniel Jacko**<sup>2</sup>, **Thorsten Schiffer**<sup>4</sup>, **Käthe Bersiner**<sup>1</sup>, **Jörg Höhfeld**<sup>3</sup>, **Wilhelm Bloch**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universität Hildesheim, Institut für Sportwissenschaft; <sup>2</sup> Deutsche Sporthochschule Köln, Abteilung molekulare und zelluläre Sportmedizin; <sup>3</sup> Universität Bonn, Institut für Zellbiologie; <sup>4</sup> Deutsche Sporthochschule Köln, Ambulanz für Sporttraumatologie

**Einleitung:** Krafttraining ist ein allgemein verbreitetes Trainingsmittel zur Steigerung von Kraft und Muskelmasse. Als Indikator für eine akute anabole Signalgebung dient der Phosphorylierungszustand einzelner Proteine des mTOR Netzwerkes. Allerdings ist die durch Krafttraining induzierte mechanische Belastung auch mit einer hohen Beanspruchung und Schädigung von Strukturproteinen der Z-Scheibe verbunden. Kraftbeanspruchung des Skelettmuskels bewirkt neben einer Erhöhung der Proteinsynthese daher auch einen akut vermittelten Abbau von Proteinstrukturen über selektive Autophagie (CASA), welcher insbesondere über eine Aktivierung von Co-Chaperonen (BAG3) reguliert wird. Die Aktivierung von Chaperonen (HSP27) reflektiert zudem eine akute Stressantwort auf mechanische Beanspruchung.

**Ziel:** Hauptziel war eine Beschreibung der Regulation von Teilen dieser Mechanismen als Folge einer mehrwöchigen Krafttrainingsintervention mit progressiver und konstanter Kraftbeanspruchung.

**Hypothesen:** 1.) Die anabole Signalgebung als Folge von konstantem nicht aber progressivem Krafttraining wird über den Zeitverlauf reduziert. 2.) CASA als Folge von progressivem nicht aber konstantem Krafttraining bleibt dauerhaft aktiv und bewirkt die Zunahme von Filamin-C. 3.) Die Phosphorylierung von HSP27 bei progressivem bleibt dauerhaft erhöht, schwächt sich aber unter konstantem Krafttraining ab.

**Methodik:** 14 männliche Probanden wurden einer progressiven (n=8) und einer konstanten (n=6) Kraftbelastung über 13 Trainingseinheiten mit 3 Trainingseinheiten pro Woche unterzogen. Muskelbiopsien wurden in Ruhe sowie nach Trainingseinheit (TE) 1,3,7,10 und 13 durchgeführt. Die Expression relevanter Proteine wurde mittels Westernblotting und Fluoreszenzimmunhistochemie analysiert.

**Ergebnisse:** Die Phosphorylierung der Signalproteine p70s6k1 und rpS6 reduzierte sich signifikant in PR und KO von TE1 zu TE13. Die BAG3 vermittelte CASA Maschinerie wurde nicht in KO jedoch in PR von TE1 bis TE13 dauerhaft aktiviert, assoziiert mit einer signifikanten Zunahme von BAG3, HSPB8 und SQSTM1. Zudem kam es in PR jedoch nicht in KO zu einer signifikant erhöhten Expression von Alpha-actin und FilaminC was mit einer progressiven Reduktion der Schädigung von Z-Scheiben verbunden war. Die Phosphorylierung von HSP27 wurde über den Zeitverlauf signifikant in PR reduziert und ab TE7 kein Unterschied mehr zur Baselinesituation festgestellt. In KO wurde bereits nach T3 eine signifikante Reduktion in der Phosphorylierung von HSP27 festgestellt.

**Schlussfolgerung:** Wiederholtes Krafttraining führt zu einer schnellen Abschwächung der Initiierung der Proteinsynthese ungeachtet einer Progression der Trainingsintensität. Eine Progression bewirkt dennoch eine permanent stärkere mechanische Belastung von Z-Scheibenproteinen als bei konstanter Belastung mit der Folge einer permanent erhöhten CASA im Skelettmuskel. Diese induziert eine BAG3 vermittelte Zunahme von Struktur- und Z-Scheiben Proteinen was ein erhöhte mechanische Stabilität progressiv belasteter Strukturen bewirkt. Dies wird begleitet von einer sich im Zeitverlauf abschwächenden Phosphorylierung von Chaperonen wie HSP27. Bei der Betrachtung von Krafttraining, als Maßnahme zur Steigerung der skelettmuskulären Proteinsynthese, müssen intensitätsabhängige Mechanismen mit berücksichtigt werden die selektiven Proteinabbau regulieren, akuten mechanischen Stress indizieren und mittelfristig die Sarkomerstabilität beeinflussen sofern die Belastungsintensität ein kritisches Schwellenniveau überschreitet.



## **Muscle weakness and fatigue in altered phosphate metabolism**

***Lothar Seefried***

**Universität Würzburg**

Various disorders of altered phosphate metabolism are associated with chronic muscle weakness, fatigability and pain. Associated limitations in physical performance eventually become evident in everyday life with progressive immobility and deficits in the activities of daily living (ADL). In clinical routine, muscular deficits and dysmobility are observed in various disorders of phosphate metabolism.

Still, robust data quantifying muscular deficits and mobility issues in distinct diseases of phosphate metabolism is scarce. In order to learn about how both deficient serum phosphate as well as increased serum phosphate levels with deficient cleavage of phosphorous compounds affect muscular performance and mobility, data from two cross-sectional evaluations of patients with distinct inborn disorders of phosphate metabolism, specifically in X-linked Hypophosphatemia (XLH) and Hypophosphatasia (HPP), respectively, will be scrutinized in terms of patients' mobility deficits.

Both disease-specific as well as comparative data analysis will be presented in order to get a rough impression of underlying pathophysiologic mechanisms and learn what aspects should be included in prospective studies further evaluating these aspects.

---

## Failed repair of torn human rotator cuff muscle is associated with the deterioration of metabolic markers of muscle activity

*Flück M., Valdivieso P., Pedersen E.M., Laczko E., Hu J., Sutter R., Filli L., Gerber C.*

Department of Orthopedics, University of Zurich, Switzerland

**Background:** Tears of rotator cuff tendons affect one in five individuals above sixty years of age and may lead to an irreversible reduction in shoulder mobility and independence. Minimally invasive arthroscopic repair allows re-establishing shoulder function but in a number of cases is unsuccessful due to tendon re-rupture within the months after tendon reattachment. Inactivity is known to lead to the degeneration of the muscle tendon composite, which may affect tendon healing in the situation of rotator cuff repair, through effects on the viscoelastic properties of rotator cuff muscle.

**Hypothesis:** Unsuccessful repair of a torn supraspinatus tendon is reflected by deteriorations in activity-related molecular and cellular features of cell metabolism in the connected skeletal muscle.

**Methods:** 96 patients of the Orthopedic University Hospital at Balgrist with a single or combined tear of the supraspinatus tendon, which were scheduled for arthroscopic repair by a bone anchor, participated in the investigation after having provided their informed content. Rupture of supraspinatus tendon was identified preoperatively, three and twelve months post-surgery based on magnetic resonance imaging-based recordings of the affected shoulder. A single biopsy (~10 mg) was collected intraoperatively and used to characterize the distribution of slow, fast and hybrid type muscle fibers immunohistologically, and to quantify actin-related levels of marker proteins of oxidative phosphorylation based on western blotting. The abundance of metabolites of mitochondrial metabolism and energy charge (based on measures of high energy phosphates) was estimated with ultra-performance lipid chromatography tandem-tandem mass spectrometry. Differences in assessed muscle features between successfully and non-successfully repaired rotator cuffs were assessed statistically with univariate and multivariate ANOVAs (SPSS). The prospective clinical trial was registered under NCT02123784 at ClinicalTrials.gov.

**Results:** 20 patients demonstrated re-rupture of the repaired supraspinatus tendon. Assessed mitochondrial metabolites, proteins and fiber types were detected in all samples. Supraspinatii which repair was not successful demonstrated a reduction in the charge of high energy phosphates (0.91 vs. 0.86). Concomitantly, the abundance of metabolites feeding into mitochondrial metabolism was perturbed (i.e. +200% in arginosuccinic acid and -25% in acetylphosphate), and the levels of the proteins of oxidative phosphorylation combined (+25%), and the percentage of hybrid type fibers (2.4% vs. 4.6%) were increased in muscle of non-successful healers.

**Discussion:** The downregulation of activity-dependent markers of mitochondrial metabolism, concomitantly with the elevated contribution of hybrid fibers, implies that re-rupture is associated with an inactivity-related dysregulation of the muscle phenotype of the detached rotator cuff muscle before repair. Elevated levels of protein involved in oxidative phosphorylation indicate that compensatory, but possibly non-functional, biogenic reactions of mitochondria are induced in the detached muscles. Defects in mitochondrial factors and fiber type composition of supraspinatus muscle may provide biomarkers to identify patients that are at risk of presenting de-attachment of the repaired tendon from the site of anchor insertion.

---

## **Vgll3: ein Hippo Signalling-assoziiertes Regulator, der bei Muskelhypertrophie, Regeneration, muskulärer Dystrophie und im Alveolaren Rhabdomyosarkom hoch exprimiert wird**

***Martin Schönfelder, Henning Wackerhage***

Exercise Biology Group, TU München

Hippo-Signaltransduktionsproteine regulieren in der Muskulatur und in anderen Organen Stammzellfunktion, Regeneration, Organgröße (auch Muskelhypertrophie) und die Fehlfunktion von Hippo-Proteinen trägt zu verschiedenen Krankheiten bei, insbesondere Krebs. Hippo-Proteine funktionieren, indem sie Tead1-4 Transkriptionsfaktoren regulieren.

In dieser Studie haben wir die Regulation und Funktion von Vestigial-like 3 (Vgll3) in der Muskulatur untersucht, da Vestigial-Faktoren - wie Hippo-Proteine - Tead1-4 Transkriptionsfaktoren regulieren können. Wir hatten drei Forschungsfragen:

- 1) Wird *Vgll3* transkriptionell in der Muskulatur reguliert?
- 2) An welche Proteine bindet sich Vgll3 in der Muskulatur? An Tead1-4 Transkriptionsfaktoren? Gibt es Signalling-Proteine, die Vgll3 binden?
- 3) Welche Gene werden von Vgll3 reguliert und wie beeinflusst es das Verhalten von Muskelzellen?

Die Ergebnisse dieser Studie sind:

- 1) Vgll3 wird bei Muskelhypertrophie, Muskelregeneration nach Cardiotoxin-Verletzung, bei muskulärer Dystrophie und im Alveolaren Rhabdomyosarkom vermehrt exprimiert.
- 2) Vgll3 bindet sich – wie Strukturanalysen vorhersagen – an Tead1,3,4 Transkriptionsfaktoren, aber wir konnten keine Kinase identifizieren, die mit Vgll3 interagiert.
- 3) Vgll3 reguliert viele Gene, die auch von anderen Hippo-Proteinen reguliert werden, doch nicht als klarer Agonist oder Antagonist. Bei menschlichen Myoblasten führt ein Knockout von VGLL3 zu einem fast vollständigen Stop der Proliferation.

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass Vgll3 ein Tead1-4 Co-Regulator ist, dessen Expression sich bei Muskelwachstum, Muskelzellproliferation oder Regeneration erhöht und der in diesen Situationen u.a. Muskelzell-Proliferation reguliert.

---

## Bildgebende Verfahren zur Bestimmung von Muskeleigenschaften

**Klaus Engelke**

Universität Erlangen

Die quantitative Bestimmung von Muskeleigenschaften wie Volumen, Dichte oder Fettinfiltration ist fundamental für viele Muskelkrankheiten wie z.B. Dystrophien. In der Onkologie ist die Vermeidung der Muskelkachexie ein wichtiges Thema. Daneben ist in der letzten Zeit insbesondere die Sarkopenie in den Fokus des wissenschaftlichen Interesses gerückt. Funktionelle Kraftmessungen, seit langer Zeit etabliert, können zwar die Summe der inneren Muskelkräfte erfassen, die Pathophysiologie aber nur unzureichend erklären.

Bioimpedanzanalyse (BIA) und Dual X-Ray Absorptiometry (DXA) sind Verfahren zur globalen oder auch regionalen Bestimmung des Fett- und des sogenannten Lean-Gehaltes, können aber die Muskulatur nicht vom umliegenden Weichteilgewebe differenzieren. Dies ist die Domäne der MR (Magnetresonanztomographie) und CT (Computertomographie) Bildgebung.

Standard T1 gewichtete MR Sequenzen liefern einen guten Kontrast zwischen Muskel und adipösem Gewebe (AG) und werden vorwiegend zur Quantifizierung von Muskelfläche oder (bei 3D Bildgebung) -volumen eingesetzt. Daneben kann subkutanes AG separat quantifiziert werden. AG wird im T1 gewichteten Bild hell, die Muskulatur dagegen dunkel abgebildet. Daher kann innerhalb der Faszie auch das Volumen perimuskulären und im Rahmen der Ortsauflösung auch des intramuskulären AG bestimmt werden. Zur richtigen Quantifizierung des Fettgehaltes innerhalb der Faszie müssen allerdings Dixon-Sequenzen benutzt werden. Zur Bestimmung des Fettgehaltes individueller Muskeln müssen diese zunächst segmentiert werden. Es ist auch zu beachten, dass es unterschiedliche Dixon-Sequenzen gibt, die u.U. unterschiedliche Ergebnisse liefern.

Das CT Verfahren ist schneller und billiger und CT-Geräte sind i.a. besser zugänglich als MR-Scanner, allerdings ist CT ein röntgenbasiertes Verfahren und als solches mit einer Strahlenexposition verbunden, die aber insbesondere im peripheren Bereich relativ gering ist. Mit CT kann wie mit MR Muskelfläche und -volumen bestimmt werden, Darüber hängt die CT-Dichte gemessen in Hounsfield-Einheiten direkt mit dem prozentualen Anteil AG zusammen. Muskelmessungen der Arme und Beine lassen sich auch mit peripheren CT Geräten durchführen.

Die detaillierte Diskussion von MR und CT Verfahren zur Muskelquantifizierung ist Inhalt des Vortrages.

## Intensive interval rehabilitation in children with Osteogenesis imperfecta

**Oliver Semler<sup>1</sup>**, Heike Hoyer-Kuhn<sup>1</sup>, Ibrahim Duran<sup>2</sup>, Christina Stark<sup>1</sup>, Eckhard Schoenau<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>University of Cologne, Children's and Adolescent's Hospital, Germany

<sup>2</sup>University of Cologne, Center for Prevention and Rehabilitation, Unireha, Germany

### Introduction:

Osteogenesis imperfecta is a rare disease leading to immobility by recurrent fractures, immobilization, short stature and muscular weakness. Beside drug treatment and surgical procedures physiotherapy is the most important treatment approaches to increase mobility. The objective of our analysis was to evaluate the effect of a new standardized 12 months physiotherapy concept including whole body vibration over 6 months on motor function and bone mineral density in children with Osteogenesis imperfecta.

### Methods:

In a retrospective data analysis 53 children (32 male; mean age: 9.1 years, bisphosphonate treatment n=46; OI type 1 n=8; OI type 3 n=17; OI type 4 n=26, OI type 5 n=2) were analyzed. The 12 months concept included a period of 6 months of whole body vibration and concomitant physiotherapy, resistance training and treadmill training. The concept is structured in two in-patient stays and two periods of three months home-based vibration training. Primary outcome parameter was the Gross Motor Function Measure before and after 12 months. iDXA (GE) was used to analyze muscle and bone parameters.

### Results:

Results of the training period and the follow-up are presented in Table 1:

	Change during training	Change during follow up	Change over all
GMFM 66 [score] (mean and p-value)	3.62 <0.001	-0.42 0.60	3.20 <0.001
1-Min Walking [m] (mean and p-value)	20.25 0.002	-3.93 0.733	16.3 0.01
BMD L2-L4 [z-score] (mean and p-value)	Not measured do to radiation reduction		0.13
BMD TBLH [z-score] (mean and p-value)			-0.03
Height [cm] (mean and p-value)	2.3 <0.001	1.8 <0.001	4.1 <0.001
Height [SD] (mean and p-value)	-0.07 0.445	-0.06 0.729	-0.13 0.305
BMI [SD] (mean and p-value)	0.04 0.893	-0.06 0.275	-0.02 0.429

### Conclusions:

The physiotherapy concept including whole body vibration leads to a significant improvement on gross motor function, lean mass and bone mineral content in children with Osteogenesis imperfecta. Additionally the height of the children increased comparable to their age group and they showed no increase of their dwarfism. Therefore this therapeutic approach should be considered as part of an integrated treatment concept in children with OI.

## Volumetrie der oberen Extremität zur Quantifizierung von Atrophie- und Hypertrophieverläufen: Ergebnisse zur Reliabilität und Wiederholpräzision mittels inverser Wasserverdrängung

**Kai Nestler**<sup>1,2</sup>, **Thomas Rüter**<sup>3</sup>, **Emanuel Vits**<sup>1</sup>, **Daniel A. Veit**<sup>2</sup>, **Stephan Waldeck**<sup>2</sup>, **Dieter Leyk**<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Institut für Präventivmedizin der Bundeswehr, Abteilung A: Gesundheits- und Leistungsförderung

<sup>2</sup> Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz, Abteilung für Radiologie und Neuroradiologie

<sup>3</sup> Deutsche Sporthochschule Köln, Forschungsgruppe Leistungsepidemiologie

**Einleitung:** Die Volumetrie der oberen Extremität wird im klinischen Alltag u.a. zur Quantifizierung eines Lymphstaus bei Brustkrebstherapien genutzt. Dies erfolgt zumeist über die absolute Wasserverdrängung, bei der unspezifisch und unabhängig von anatomischen Begrenzungen das Volumen jeweils über eine konstante Länge – definiert durch die Höhe des Messgefäßes – gemessen wird. Damit eignet sich das Verfahren lediglich zur unspezifischen Verlaufsmessung. Um diskrete Volumenänderung in definierten Kompartimenten (z.B. Handvolumen, Unterarmvolumen) präzise bestimmen zu können, entwickelten und evaluierten wir ein Messverfahren, bei dem über eine inverse Wasserverdrängung das Volumen distaler Unterarmbereiche bestimmt wird.

**Methode:** 40 Probanden nahmen an der Studie teil, die von zwei Untersuchern (= Rater) jeweils zweimal vermessen wurden. Zur Unterteilung der oberen Extremität in die exemplarischen Kompartimente „Hand“ und „Unterarm“ dienen die anatomischen Referenzpunkte Processus styloideus ulnae (H<sub>1</sub>) und Epicondylus medialis humeri (H<sub>2</sub>), deren Höhe zunächst ausgehend von der anatomischen Neutralstellung gemessen wird. Der Arm wird anschließend in konstanter Position im Volumeter gehalten und dieser jeweils bis zur vorab definierten Höhe mit Wasser aufgefüllt. Über ein geeichtes Längenmaß kann die Höhendifferenz des Wasserstands nach Herausziehen des Arms (= inverse Wasserverdrängung) aus dem Präzisionsacrylglaszylinder abgelesen und das Volumen errechnet werden. Mittels Subtraktion distal gelegener Anteile ergibt sich das Volumen proximaler Kompartimente. Die Retest-Reliabilität und Interrater-Reliabilität wurde jeweils anhand des intraclass correlation coefficient (ICC) bestimmt. Die Wiederholpräzision und Richtigkeit wurde zudem anhand eines geeichten Volumenzylinders ermittelt (N = 50).

**Ergebnisse:** Beide Rater erzielten bei Messwiederholungen eine durchgehend hohe Retest-Reliabilität mit einem ICC von jeweils 1,000 (95% CI: 0,999 - 1,000) für das Hand- und Unterarmkompartiment. Die Übereinstimmung zwischen den Messdurchführenden („Interrater-Reliabilität“) erreichte jeweils einen ICC von mindestens 0,999 (95% CI: 0,999 - 1,000). Unter Beachtung der individuellen Messungenauigkeit bei der Identifikation von anatomischen Referenzpunkten ergab sich bei der Höhenbestimmung ein ICC (Interrater-Reliabilität) von 0,926 (95% CI: 0,866 - 0,960) für H<sub>1</sub> und 0,984 (95% CI: 0,963 - 0,993) für H<sub>2</sub>. Zur Quantifizierung der Wiederholpräzision wurde anhand des geeichten Volumenzylinders (1994 ml) mit 1993,6 ± 0,92 ml eine Abweichung von 0,4 ± 0,95 ml erzielt, was einer relativen Differenz von < 0,07 % entspricht.

**Ausblick/Diskussion:** Die volumetrische Messmethode weist sowohl eine hohe Wiederholpräzision als auch hochreliable Ergebnisse auf. Dadurch eignet sich das Verfahren der inversen Wasserverdrängung als Goldstandard zur Volumenbestimmung einzelner Kompartimente der oberen Extremität. In der klinischen Anwendung können etwa degenerativ oder traumatisch bedingte Atrophieverläufe quantifiziert werden. Gleiches gilt für Hypertrophiephänomene im Rahmen von Therapie und Training. Das entwickelte Volumetrieverfahren ermöglicht zudem differenzierte inter- und intraindividuelle Vergleiche. In Kombination mit etablierten Kraftmessverfahren, funktionellen Tests und bildgebenden Verfahren ergeben sich neue Möglichkeiten für die klinische Diagnostik, Trainings- und Grundlagenwissenschaften.

---

## Transgene Mausmodelle mit einer erhöhten Ausdauerleistungsfähigkeit: systematisches Review und bioinformatische Analyse

**Henning Wackerhage, Martin Schönfelder**

Exercise Biology Group, TU München

Ausdauer ist nicht nur ein leistungslimitierender Faktor in vielen Sportarten, sondern ist auch mit guter Gesundheit und niedriger Mortalität verbunden. Zwillings- und Familienstudien legen nahe, dass Ausdauerphänotypen zu etwa 50% vererbt sind. Wir wissen aber nur wenig über die Gene und DNA-Varianten, die Ausdauerphänotypen beeinflussen.

Um Gene zu identifizieren, deren Manipulation die Ausdauer in Mäusen erhöht, haben wir systematisch die Literatur analysiert, um Gene zu identifizieren, deren experimenteller Verlust oder Funktionsgewinn die Lauf- oder Schwimmausdauer bei Mäusen erhöht. Wir fanden 33 Gene, deren Manipulation die Ausdauerleistung um bis zu 1800% gegenüber Wildtyp-Kontrollen erhöht.

Gene, deren Funktionszuwachs die Ausdauer erhöht sind *Adcy5*, *Adcy8*, *Hk2*, *Ii15*, *Mef2c*, *Nr4a3*, *Pck1* (Gluconeogenetisches Enzym Pepck), *Ppard*, *Ppargc1a* (sowohl die a- als auch die b-Isoform des mitochondrialen Biogenese-Regulators Pgc-1 $\alpha$ ), *Ppargc1b*, *Ppp3ca* (Calcineurin-Untereinheit), *Scd1*, *Slc5a7* (Natrium-Cholin-Cotransporter), *Tfe3*, *Tfeb*, *Trib3* und *Trpv1*. Gene, deren Funktionsverlust die Ausdauer bei Mäusen erhöht, sind *Actn3*, *Adrb2*, *Bdkrb2*, *Cd47*, *Crym*, *Hif1a*, *Myoz1*, *Ncor1*, *Pappa*, *Pknox1*, *Pten*, *Sirt4*, *Thbs1*, *Thra* und *Tnfsf12*.

Einige dieser Gene verändern ihre Expression in der Skelettmuskulatur oder im Herzen nach Ausdauertraining, was darauf hindeutet, dass diese Gene/Proteine an der Anpassung an Ausdauertraining beteiligt sind.

## Die klinische Perspektive: Potentiale des Ganzkörpervibrationstrainings beim Patienten mit schwerem Verbrennungstrauma

*Limper U.<sup>1,2</sup>, Poels M.<sup>1</sup>, Schiefer J.L.<sup>3</sup>, Heinel A.<sup>3</sup>, Schubert H.<sup>4</sup>, Trojan S.<sup>1</sup>*

1) Klinik für Anästhesiologie und operative Intensivmedizin, Krankenhaus Köln-Merheim, Lehrstuhl der Universität Witten Herdecke

2) Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt (DLR), Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin

3) Klinik für Plastische, Rekonstruktive und Handchirurgie, Schwerbrandverletzententrum, Krankenhaus KölnMerheim, Lehrstuhl der Universität Witten Herdecke

4) Novotec Medical GmbH, Pforzheim

**Einleitung:** Ein schweres Verbrennungstrauma stellt eine komplexe Erkrankung dar, welche nahezu jedes Organsystem des menschlichen Körpers betrifft. Neben der direkten thermischen Gewebeschädigung treten sekundäre Organschäden u. a. durch Inflammationsreaktionen, Infektionen, Hypoxie, Gewebsödeme und Hypermetabolismus mit Katabolie und dem höchsten bekannten Energiebedarf bei Krankheitszuständen auf. Ein drastisch gesteigerter Muskelproteinabbau bei nur wenig gesteigerter Synthese führen zu einem rapiden Verlust von funktionellem Gewebe, der durch die lange Immobilisation während der Wundtherapie weiter verstärkt wird und mit einer Zunahme von Morbidität und Mortalität korreliert. Der Patient wird durch den erlittenen Funktionsverlust seines muskuloskelettalen Systems (MSS) an einer schnellen und kompletten Rekonvaleszenz gehindert. Kinder zeigen eine Wachstumsverzögerung noch nach einem Jahr nach Trauma. Aktuelle Gegenmaßnahmen sind frühestmögliche Exzision und Verschluss der Brandwunden, aggressive Infektionskontrolle, frühzeitige, differenzierte hochkalorische enterale Ernährung, eine pharmakologische antikatabole Therapie des Hypermetabolismus, geeignete Umweltbedingungen und frühestmögliche Physiotherapie. Trotzdem wird der Erhalt einer ausreichenden Funktion des MSS nach einem schweren Verbrennungstrauma meistens nicht erreicht. Eine mögliche Erklärung ist das Fehlen eines aktiven Trainings des MSS schon während der intensivmedizinischen Behandlungsphasen.

**Definition des Problems:** Auf der Intensivstation (ITS) für Schwerstverbrannte des Klinikums KölnMerheim wurden im Zeitraum Januar 2017 bis Oktober 2018 118 Patienten mit schwerem Verbrennungstrauma behandelt (82 % männlich). Die Letalität lag bei 14 %. 42 % der Patienten hatten eine Aufenthaltsdauer auf ITS von mehr als sieben Tagen. Für diese Gruppe lag die durchschnittliche intensivmedizinische Therapiedauer bei 32 Tagen mit einem Maximum von 159 Tagen. 42 Patienten mussten sediert und beatmet werden und hatten eine mittlere Beatmungszeit von 465 Stunden. Als kausale Therapie des Verbrennungstraumas erhielten diese Patienten u. a. eine oder mehrere Operationen. Ein kontinuierliches aktives Training zum Erhalt der Funktion des MSS stellt bei diesem Patientenkollektiv eine große Herausforderung dar und ist aktuell nicht etabliert.

**Ausblick:** Ganzkörpervibration soll als aktive Trainingsform bei Verbrennungspatienten während der intensivmedizinischen Versorgung auf der ITS für Schwerstverbrannte des Klinikums Köln-Merheim angewendet werden, um den negativen Folgen von qualitativen und quantitativen Störungen des MSS entgegen zu wirken. Obwohl die Sicherheit im Intensivpatienten in Studien belegt werden konnte [1, 2], sind die Fragen nach der Art, Frequenz und Dauer des Trainings im Verbrennungspatienten ungeklärt. Es ist außerdem unklar, welchen Effekt das Vibrationstraining auf frisch transplantierte Haut hat und ob Effekte auf Wundheilung, Ödemmobilisierung und Mediator- oder Hormonimbancen, wie Insulinresistenz, gezeigt werden können.

[1] Wollersheim T, Haas K, Wolf S, Mai K, Spies C, Steinhagen-Thiessen E et al. Whole-body vibration to prevent intensive care unit-acquired weakness: safety, feasibility, and metabolic response. *Crit Care*. 2017 Jan 9;21(1):9.

[2] Boeselt T, Nell C, Kehr K, Holland A, Dresel M, Greulich T et al. Whole-body vibration therapy in intensive care patients: A feasibility and safety study. *J Rehabil Med*. 2016 Mar; 48(3):316-21.



## Recessive PIEZO2 stop mutation causes distal arthrogryposis with distal muscle weakness, scoliosis and proprioception defects

**Sebahattin Cirak**<sup>1,3</sup>, Goknur Haliloglu<sup>2</sup>, Kerstin Becker<sup>1,3</sup>, Beril Talim<sup>2</sup>, Nalan Küçükşahin<sup>4</sup>, Matthias Pergande<sup>1,3</sup>, Susanne Motameny<sup>5</sup>, Peter Nürnberg<sup>5</sup>, Ustun Aydingoz<sup>6</sup>, Haluk Topaloglu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Cologne, Department of Pediatrics, Cologne, Germany

<sup>2</sup>Hacettepe University, Department of Pediatric Neurology, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Center for Molecular Medicine Cologne (CMMC), University of Cologne Cologne, Germany

<sup>4</sup>Hacettepe University, Department of Neurology, Ankara, Turkey

<sup>5</sup>University of Cologne, Cologne Center for Genomics, Cologne, Germany

<sup>6</sup>Hacettepe University, Department of Radiology, Ankara. Turkey

The genetic work-up of arthrogryposis is challenging due to the diverse clinical and molecular etiologies. Arthrogryposis may lead to immobility and additional muscle atrophy over time. For the rational treatment it is necessary to understand the underlying pathophysiology. To this end, we report a 183/12-year-old boy, from a 2nd degree consanguineous family, who presented at 36/12 years with hypotonia, distal laxity, contractures, feeding difficulties at birth. He required surgery for progressive scoliosis at 16 years of age, and walked independently since then with an unstable gait and coordination defects. His latest examination at 18 years of age revealed a proprioceptive defect and loss-of-joint position sense in the upper limbs. Somatosensory evoked potentials supported bilateral involvement of dorsal column-medial lemniscal sensory pathways and nerve conduction studies revealed a mild axonal neuropathy. Muscle biopsy showed myopathic changes with neonatal myosin expression. Mendeliome sequencing led to the discovery of a recessive stop mutation in piezo-type mechanosensitive ion channel component 2 (PIEZO2, NM\_022068, c.1384C>T, p.R462\*). PIEZO2 is a nonselective cation channel, expressed in sensory endings of proprioceptors innervating muscle spindles and Golgi tendon organs. Dominant PIEZO2 mutations were described in patients with distal arthrogryposis type 5 and Marden-Walker syndrome. Sensory ataxia and proprioception defect with dorsal column involvement together with arthrogryposis, myopathy, scoliosis and progressive respiratory failure may represent a distinct clinical phenotype, and indicate recessive mutations in PIEZO2.

---

## Mobile accelerometry in clinical trials: Towards regulatory decision making

**Martin Daumer**

Sylvia Lawry Centre e.V. – The Human Motion Institute

The level of patient's walking ability or impairment in the context of controlled clinical trials is usually measured by using questionnaires. Common problems are substantial, uncontrollable bias and high inter- and intra-rater variability. Invalid outcome measures and/or invalid surrogate markers in a variety of chronic disabling diseases are a well-known problem.

Physical activity in general and walking ability (distance, speed, quality) in particular play a major role as potential patient-oriented outcome measures and confounding factors in a broad range of diseases, multiple sclerosis, CD and COPD being prominent examples. Insufficient assessment of this important variable that may also be a therapeutic option in its own right may lead to unnecessary noise and even bias in the data, thereby diluting and/or diminishing a potential beneficial effect of the treatment.

We have co-developed an integrated platform to objectively assess the physical activity profile of a person using a high-tech 3D-accelerometer hidden in a belt buckle, the actibelt®. Algorithms allow to extract a variety of relevant and meaningful parameters from the data recorded by the actibelt®. Much like a miniaturized Holter recorder measures long-term ECG, the actibelt® measures high-resolution (noise <0.01 g, 100Hz in three axes) long-term accelerations close to the body's center of mass. Raw data is stored to allow novel and/or improved parameter extraction for continuous refinement and validation at any later time. We explain, based on the experience of a series of multi-center trials and research project, opportunities and challenges of extracting information from long-term recordings of accelerometry data. Platforms (such as <https://peerj.com/collections/6-humanmotionproject/>) to stimulate open and transparent collaboration of the various stakeholder are presented. Steps towards regulatory acceptance of endpoints such as "real-world walking speed" are discussed.

---

## Muskelbedingte Stoffwechselstörungen

### ***Dominik Pesta***

Institut für Klinische Diabetologie, Deutsches Diabetes-Zentrum (DDZ), Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Typ-2-Diabetes, früher auch als „nicht-insulinabhängiger Diabetes“ oder „Alters-Diabetes“ bezeichnet, zählt mit über 6,7 Millionen betroffenen Menschen in Deutschland zu den häufigsten Stoffwechselerkrankungen und ist durch einen relativen (und nicht absoluten) Insulinmangel und eine periphere Insulinresistenz gekennzeichnet. Insulinresistenz als charakteristisches Merkmal von Typ-2-Diabetes ist mit Fettleibigkeit assoziiert und spielt eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Krankheit. Sie umfasst eine verminderte Wirkung von Insulin auf die Zielorgane Muskel, Leber und Fettgewebe. Mehrere Faktoren spielen eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der Insulinresistenz. Diese manifestiert sich beispielsweise durch eine verringerte insulin-stimulierte Glukoseaufnahme und resultiert aus einer gehemmten Signaltransduktion durch Insulin und mehreren intrazellulären Defekten, einschließlich eines verminderten Glukosetransports, Glukosephosphorylierung und einer reduzierten Glukoseoxidation und Glykogensynthese.

Aber auch ein gestörter Fettstoffwechsel sowie ein erhöhter intramyozellulärer Lipidgehalt kann die Entstehung von Insulinresistenz begünstigen. Bioaktive Lipide wie Diacylglycerine oder Ceramide interagieren mit Schlüsselproteinen der Insulinsignalkaskade und können eine Hemmung des Insulinsignales und Insulinresistenz bewirken. Aktuelle Studien deuten außerdem auf eine veränderte Mitochondrienfunktion im Skelettmuskel von insulinresistenten Personen hin. Strukturelle Veränderungen der Mitochondrien sowie eine möglicherweise gestörte mitochondriale oxidative Phosphorylierung wurden bei insulinresistenten Personen beobachtet. Der Zusammenhang dieses mitochondrialen Defekts mit vermehrter intramyozellulärer Lipidakkumulation ist jedoch noch nicht vollständig geklärt.

In diesem Vortrag werden zelluläre und molekulare Faktoren diskutiert, die zur Entwicklung von Insulinresistenz im Skelettmuskel beitragen, mit besonderer Berücksichtigung von Fehlernährung, Bewegungsmangel und Adipositas. Ähnlich wie körperliche Inaktivität und Altern kann Schwerelosigkeit subklinische diabetogene Veränderungen induzieren, daher sollen deren Effekte ebenfalls Erwähnung finden.

---

## Therapie der Sarkopenie

**Michael Drey**

Ludwig-Maximilians-Universität München

Die Sarkopenie ist neben der Osteoporose eine Erkrankung des Alters, die das muskuloskelettale System betrifft und mit dem Verlust der Funktionalität und Mobilität einhergeht. Besonders stark sind Patienten betroffen, die wegen eines Sturzes eine Fraktur erleiden und deshalb häufig an Selbständigkeit verlieren.

Die Sarkopenie ist durch einen Verlust von Muskelmasse und Muskelkraft bzw. Muskelfunktion definiert. Sarkopenie weist bei älteren Patienten eine hohe Prävalenz auf und ist oft mit weiteren Komorbiditäten und einem schlechten Outcome assoziiert.

Seit 2018 ist die Sarkopenie in der deutschen Version des ICD-10-GM kodierbar (M62.50). Die Diagnostik beruht zum einen auf einer Messung der Muskelmasse entweder mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) oder besser mittels der Knochendichtemessung (DXA) zur Bestimmung der Körperzusammensetzung. Zum anderen ist eine Messung der Handkraft bzw. der Ganggeschwindigkeit zur Bestimmung der muskulären Funktion nötig. Zur Selektion in der Primärversorgung besteht die Möglichkeit mittels eines Sarkopeniefragebogens (SARC-F) gefährdete Patienten zu identifizieren. Diese können dann der o.g. weiterführenden Diagnostik zugeführt werden. Gegenwärtig besteht die Therapie aus Kraft- und Balancetraining sowie einer Ernährungsberatung mit dem Ziel einer proteinreichen Ernährung. Spezielle orale Nahrungssupplemente können in bestimmten Situationen hilfreich sein. Eine medikamentöse Behandlung der Sarkopenie ist noch nicht verfügbar. Einige Substanzen sind jedoch in der klinischen Prüfung. Am vielversprechendsten scheint die Gruppe der Myostatinantagonisten zu sein.

## **Exzentrisches Training**

***Wilhelm Bloch***

Deutsche Sporthochschule, Köln

Exzentrische Muskelarbeit bedeutet Verlängerung des Muskels unter externer Belastung und wird bei Rückstellbewegung des Muskels geleistet. Im Rahmen der exzentrischen Muskelkontraktion kommt es zu hohen Belastungen auf die myofilamentären Strukturen, die mit ultrastrukturellen und strukturellen Zerstörungen einhergehen können und damit wesentlicher Einflussfaktor für Muskelverletzungen ist.

Es wird jedoch zunehmend deutlich, dass exzentrische Kontraktionen Mechanismen induzieren, die für die Anpassung der Muskulatur von Bedeutung sein können. So werden Proteinabbau und Proteinsynthese der Muskulatur durch exzentrisches Training besonders angeregt. Darüber hinaus hat exzentrisches Training auch auf weitere akute und chronische Anpassungsprozesse in der Skelettmuskulatur bis hin zur Steuerung des Muskelfasertyps, der Extrazellulärmatrixzusammensetzung und der Gefäßversorgung Einfluss. Zellbiologische Mechanismen, die diese Anpassungen auf exzentrisches Training erklären, werden aufgezeigt.

---

## Pharmacological inhibition of sclerostin protects from breast cancer-induced osteolytic disease and muscle weakness

<sup>1</sup>*Hanna Taipaleenmäki*, <sup>1,2</sup>*Eric Hesse*, <sup>1</sup>*Saskia Schröder*, <sup>1</sup>*Diana Zarecneva*, <sup>1</sup>*Jenny Pamperin*, <sup>1</sup>*Hiroaki Saito*

<sup>1</sup>Molecular Skeletal Biology Laboratory, Department of Trauma, Hand and Reconstructive Surgery, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany; <sup>2</sup>Department of Anatomy and Cell Biology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, USA

Patients with breast cancer bone metastases present with osteolytic lesions and often suffer from muscle weakness. Current treatment includes chemotherapy, irradiation and anti-resorptive drugs that restrict bone destruction. Although patients benefit from these therapies, the disease remains irreversible and additional treatments are needed. Recent evidence suggests a role of the Wnt inhibitor sclerostin in cancer-induced bone disease.

We therefore hypothesized that targeting sclerostin in metastatic breast cancer may restrict disease progression and restore muscle function. In support of this hypothesis, we determined a significantly higher sclerostin expression in metastatic MDA-MB-231 breast cancer cells (BCCs) compared to non-metastatic MCF-7 BCCs. Osteoblast differentiation and the activity of Wnt signaling in osteoblasts was inhibited by conditioned medium (CM) from MDA-MB-231 BCCs in a dose-dependent manner. Repression of Wnt activity by CM was partially abolished upon antagonizing sclerostin in BCCs using siRNA. Reduction of sclerostin expression in BCCs also restricted cancer cell migration. This indicates that BCC-derived sclerostin impairs bone formation but supports metastatic features. To test whether sclerostin inhibition restores osteoblast function and attenuates metastatic breast cancer, MDA-MB-231 BCCs stably expressing the luciferase gene were delivered by cardiac injection in female SCID mice and metastases were allowed to form prior to treatment with vehicle or anti-sclerostin antibody (Scl-Ab, 100 mg/kg).

Weekly bioluminescence imaging revealed a reduced growth of bone metastases in Scl-Ab-treated mice compared to controls. Inhibition of sclerostin did not change the abundance of BCCs at extra-skeletal sites, indicating that BCCs did not relocate to other organs. In addition, sclerostin inhibition prevented breast cancer-induced bone destruction determined by  $\mu$ CT and histological analyses. Interestingly, although Scl-Ab treatment had no effect on muscle function in naïve mice, it protected from cancer-induced atrophy of type I and type II muscle fibers and loss of muscle function in tumor-bearing mice, and expanded the life span of these animals.

In summary, our data demonstrate that pharmacological inhibition of sclerostin reduces bone metastatic burden and relieves from the suppression of bone formation and muscle weakness with a potential future implication in treating musculoskeletal complications in breast cancer patients.

---

## Late diagnosis of a truncating *WISP3* mutation entails a severe phenotype of progressive pseudorheumatoid dysplasia

**Salem Alawbathani**<sup>1,2</sup>, Amit Kawalia<sup>1</sup>, Mert Karakaya<sup>3,4</sup>, Janine Altmüller<sup>1</sup>, Peter Nürnberg<sup>1</sup>, Sebahattin Cirak<sup>3,4</sup>

1 Cologne Center for Genomics (CCG), 50931 Cologne, Germany

2 Institute of Biochemistry I, University of Cologne, 50931 Cologne, Germany

3 Center for Molecular Medicine Cologne (CMMC), 50931 Cologne, Germany

4 University Children's Hospital of Cologne, 50931, Cologne, Germany

Rare diseases are often misdiagnosed or receive a delayed diagnosis; thus, unfortunately, affected individuals may not receive optimal medical management. Here, we report a case of two siblings with a severe phenotype of progressive pseudorheumatoid dysplasia (PPD). Their onset of symptoms began at the age of 3 yr. Both were neglected in the past, and the patients presented with a very severe phenotype and unmitigated natural history. PPD is a rare autosomal recessive skeletal dysplasia characterized by progressive joint stiffness, swelling, and pain. Because of observed muscle wasting, weakness, and the lack of laboratory testing, the case had been initially misdiagnosed by the local physicians. We aimed to provide diagnostic support by a targeted next-generation sequencing gene panel (Illumina TruSight One) for Mendelian diseases (Mendeliome), and we identified a homozygous frameshift mutation in the gene *WISP3* (c.868\_869delAG, p.Ser290Leufs\*12). Thus, early diagnosis and intervention may have decreased the severity and complication of the disease.

## Genotype-phenotype correlations in novel form of *PYROXD1*-related congenital myopathy

**Hülya Daimagüler<sup>1,2</sup>**, Kerstin Becker<sup>1,2</sup>, Beril Talim<sup>5</sup>, Gülden Diniz<sup>6</sup>, Figen Baydan<sup>6</sup>, Serdal Güngör<sup>4</sup>, Uluc Yis<sup>3</sup>, Sebahattin Cirak<sup>1,2</sup>

1 Department of Pediatrics, University Hospital Cologne, Germany

2 Center for Molecular Medicine, University of Cologne, Germany

3 Dokuz Eylül University, Izmir, Turkey

4 İnönü University Malatya, Turkey

5 Hacettepe University Ankara, Turkey

6 Neuromuscular Disease Center, Izmir Tepecik Education and Research Hospital, Turkey

Recently mutations in the gene *PYROXD1* (*pyridine nucleotide-disulphide oxidoreductase domain 1*) were shown in nine patients of five families to cause early onset myopathy with internalized nuclei and myofibrillar disorganization ([Gina L. O'Grady](#), et al., 2016). Here we present two unrelated cases with mutations in *PYROXD1*.

The first case is a female patient from a consanguineous family. She walked at 12 months of age, but presented at six years of age with generalized weakness more proximal than distal, including facial weakness and swallowing difficulties but no ptosis or ophthalmoplegia. Cardiac function was normal. A muscle biopsy showed cores in the muscle fibers and a type 2 myofibers atrophy. An affected sibling, an older brother, died of cardiomyopathy at 14 years, the other affected sibling had severe weakness at 38 years of age and can still walk with support. Until now, she is the oldest affected patient with a *PYROXD1* mutation, indicating a slow disease progression. Whole exome sequencing (WES) revealed a co-segregating homozygous missense variant in *PYROXD1* (NM\_024854, c.464A>G, p.N155S).

The second case is a male patient, only child of consanguineous parents from Turkey, who was diagnosed with congenital myopathy with normal CK levels. Muscle biopsy showed dystrophic changes with prominent interstitial fatty infiltration and marked variation in fiber size. Internal nuclei, mild endomysial fibrosis and type 1 atrophic fibers. WES led to the identification of two variants in *PYROXD1*, a known missense mutation (c.464A>G, p.N155S) and a novel frameshift variant (c.329\_332delTCTG, p.L112Vfs\*8), confirmed by sanger sequencing. This patient is at the severe end of the clinical spectrum as to one of the *PYROXD1* patient in [Gina L. O'Grady](#), et al., 2016, which are non-consanguineous, Persian Jewish patients, with the founder mutation and a splice-site mutation.

The presented patients show an overlapping *PYROXD1* phenotype, with mild limb girdle and facial weakness, nasal speech and slow progress. This phenotype is similar to patients with centronuclear myopathy without ophthalmoplegia. This second report strengthens the association of recessive mutations in *PYROXD1* and early-onset myopathy with internalized nuclei. In human muscle and zebrafish myofibers immunolocalization studies demonstrate that *PYROXD1* localizes to the nucleus and to the sarcomer. Surprisingly, a mild length-dependent axonal sensory neuropathy was also shown for *PYROXD1* patient earlier and deep tendon reflexes were absent in all patients including ours. *PYROXD1* is a nuclear-cytoplasmic pyridine nucleotide-disulphide reductase (PNDR). PNDRs are flavoproteins (FAD-binding) and might catalyze pyridine-nucleotide-dependent (NAD/NADH) reduction of thiol residues in other proteins. The underlying mechanisms leading to muscle degeneration remains elusive and represent a novel pathway.



## Myotonometrie | Grundlagen und Anwendung in der Weltraummedizin

### **Dieter Blottner**

Charité Universitätsmedizin Berlin, Vegetative Anatomie, Neuromuskuläres System Zentrum für Weltraummedizin Berlin

Die nicht-invasive Myotonometrie ist ein relativ schnelles, leicht zu handhabendes und zudem mobiles Messprotokoll zur Bestimmung des aktuellen Status des Neuromuskulären und Myofaszialen Systems des menschlichen Bewegungsapparates nach akuter und/oder chronischer Entlastung (z.B. Bettruhe, Parabelflug, Schwerelosigkeit) sowie vor und nach physischen Trainingsprotokollen in der weltraummedizinischen Grundlagenforschung. Bisher wurde das Messprinzip erfolgreich in Bettruhe (RSL Studie 2015, Köln) und im Parabelflug (2013) getestet. Seit 06/2018 ist ein myotonometrisches Verfahren erstmals im Einsatz an Astronauten der ISS (Myotones Experiment).

Die Messmethode beruht auf der Detektion natürlicher Oszillationsmechanismen biologischer Weichgewebe sowie vorhandener visko-elastischer Gewebecharakteristika oberflächlicher Muskeln, Sehnen und Faszien des menschlichen Körpers unter Ruhebedingungen, des sog. *Human Resting Muscle Tone* (HRMT) Systems. Die biomechanischen Signale ([Hz], [N/m], log decrement, [ms]) werden mit Hilfe eines kleinen handlichen Messgerätes (MyotonPRO) über einen auf die Hautoberfläche gesetzten farbkodierten Sensor unter geringster Vorstimulation (*precompression*, 0.40N Impuls) im Millisekundenbereich (*ms*) durch anschließende kurze Mehrfachstimulation (d.h. 5 Einzel-compressions, 0.4Nm Impulse, 5x 0.8ms *intervals*) detektiert, digitalisiert, gespeichert und z.B. über *USB / bluetooth* auf ein Laptop übertragen und anschließend per *software* statistisch und grafisch ausgewertet. Die Rohdaten entsprechen z.B. dem Muskeltonus und -steifigkeit sowie der vorhandenen Visko-Elastizität im entsprechenden Weichgewebe. Die zugrunde liegenden strukturellen und molekularen Mechanismen der biomechanischen Signale *in vivo* sind bisher nicht hinreichend erforscht.

Die als „digitale Palpation“ zu bezeichnende Messmethode wurde bisher in mehreren klinischen Pilotstudien zur objektiven Analyse gesunder Probanden, bei Alterungsprozessen, bei neurologischen Erkrankungen (M. Parkinson, Schlaganfall) sowie in der Rehabilitation mit Erfolg eingesetzt und kann die bisher übliche manuelle (subjektive) Palpation bei der körperlichen Untersuchung und Befundaufnahme in vielen klinischen Fachdisziplinen sinnvoll ergänzen.

Die ersten Daten aus dem Myotones Experiment auf der ISS geben Anlass zur Hoffnung, dass die digitale Palpation als ein aussagekräftiges Messprinzip zur Bestimmung des akuten Muskelstatus in Schwerelosigkeit und des individuellen Trainingszustandes bei Astronauten vor, während und nach einem Flug mit relativ geringer *crewtime* (ca 30 min pro *session*) an 5-10 ausgesuchten Körpermesspunkten zukünftig eingesetzt werden kann.

Schoenrock B et al., *Front Physiol* 9:810, 2018; Schneider S et al., *Med Biol Eng Comput* 53:57-66, 2015; Demangel R et al., *J Physiol* 595: 4301-15, 2017.

## **Impact of acute and chronic exercise on normal and diseased skeletal muscle tissue**

**Christoph S. Clemen**<sup>1,2</sup>, *Rolf Schröder*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology, Heimer Institute for Muscle Research, University Hospital Bergmannsheil, Ruhr University Bochum

<sup>2</sup>Centre for Biochemistry, Institute of Biochemistry I, Medical Faculty, University of Cologne

<sup>3</sup>Institute of Neuropathology, University Hospital Erlangen

Which etiological factors significantly aggravate the disease progression in genetically determined forms of myopathies? In the present study we are currently investigating the influence of acute and chronic exercise on skeletal muscle structure function in two patient-mimicking mouse models for protein aggregate myopathies, i.e. W2711X filamin-C and R349P desmin knock-in mice. The purpose of the study is to unravel the disease aggravating or ameliorating effects of muscle exercise on force development, myofibrillar damage, protein quality control, and mitochondrial function (Clemen et al., 2015; Chevessier et al., 2015; Winter et al., 2016; Winter et al., in press; Schuld et al., submitted for publication).

## Genotype-phenotype correlations in fast myosin related congenital myopathy

**Mona Kreutzer**<sup>1,2</sup>, Hülya-Sevcan Daimagüler<sup>1,2</sup>, Joachim Weis<sup>5,6</sup>, Gilbert Wunderlich<sup>3,4</sup>, Sebahattin Cirak<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Pediatrics, University Hospital Cologne, Germany

<sup>2</sup> Center for Molecular Medicine Cologne, Cologne, Germany

<sup>3</sup> Department of Neurology, University Hospital Cologne, Germany

<sup>4</sup> Zentrum für seltene Erkrankungen Köln (ZSEK)

<sup>5</sup> Institute of Neuropathology, RWTH University Hospital, Aachen, Germany

<sup>6</sup> Institute of Neuropathology, JARA-BRAIN, Jülich, Germany

Myosin heavy chains represent a major structural component of the striated muscle contractile apparatus. The myosin heavy chain 2 gene (*MYH2*) encodes the isoform, which is expressed in fast type 2A muscle fibers in skeletal muscle. Recently heterozygous, compound heterozygous, and homozygous mutations in *MYH2* were linked with proximal myopathy and ophthalmoplegia, a muscle disorder characterized by mild-to-moderate muscle weakness and ophthalmoplegia with childhood onset and slow or no progression.

Here we present three unrelated cases with novel mutations, two with severe *MYH2*-related congenital myopathy. An 11-year-old boy of Serbian descent presented with severe tetraplegia, respiratory insufficiency, inability to speak and ophthalmoparesis. The boy was never able to sit without support. He developed ventilator-dependent respiratory insufficiency. Symptoms had a neonatal onset with a history of neonatal asphyxia, hypoxic-ischemic encephalopathy, and a slow psychomotor development. CK levels were normal. Electromyography revealed myopathic changes as accelerated recruitment of motor units with minimal activity in the thigh muscles. We performed Mendeliome sequencing and found a heterozygous mutation in *MYH2* (c.3112G>T, p.D1038Y) in the coiled-coil tail that may disrupt the coil. We classified it as likely pathogenic (ACMG 2015).

The second patient is a 6-year-old girl of Turkish descent presenting with axial muscle weakness, myopathy, and mild ophthalmoplegia. The girl is able to walk, but has difficulties running and climbing stairs. Also chewing and swallowing is affected. In early childhood she had delayed motor milestones. CK levels were normal. Mendeliome sequencing revealed two compound heterozygous missense mutations in *MYH2*, confirmed by Sanger sequencing of the parents. The first mutation c.326G>A, p.R109H is located in the myosin motor head domain. The second mutation (c.1416+5G>T) is part of an intronic splice region. The ACMG criteria prediction is likely pathogenic.

The third 44-year-old patient of Sri Lankan descent suffered from external ophthalmoplegia, dysphagia, and tetra paresis. Symptoms had first been noted in childhood with progression around age 30. Increased CK levels of 400-600 U/l and myopathic electromyography were detected. Muscle biopsy revealed chronic necrotizing myopathy with focal myofibrillary changes, varied fiber size, and marked type 1 fiber predominance. We found a homozygous mutation in the *MYH2* (c.4046T>C, p.L1349P) applying whole exome sequencing. This mutation is predicted to disrupt the tail coiled coil. We classified the variant as likely pathogenic (ACMG2015).

To summarize, the phenotype of patient 1 and patient 3 suffering from a severe tetraparesis with inability to walk exceeds the clinical findings reported so far. Ophthalmoplegia and tetra paresis together with marked type 1 fiber predominance are highly suggestive for a recessive fast myosin heavy chain 2 myopathy.