

# Webinar: Designing a Natural History Study und Verhage Lab Updates: Matthijs Verhage - Simon Houtman - Annemiek van Berkel - Hanna Lammertse

## Charlene:

Willkommen zu unserem heutigen Webinar. Guten Tag, meine Damen und Herren. Und guten Abend. Ich bin Charlene Son Rigby, Präsidentin und Mitbegründerin der Stiftung STXBP1. Wir haben diese Woche unsere Forschungs-Webinar Reihe begonnen. Ich freue bin sehr darüber. Dies ist Teil des STXBP1-Bewusstseins-Monats, der den ganzen September dauert. Wir begrüßen Matthijs Verhage und Mitglieder seines Labors: Simon Houtman, Annemiek van Berkel und Hanna Lammertse. Dr. Matthijs Verhage ist Leiter der Abteilung für funktionelle Genomik am medizinischen Zentrum der Universität Amsterdam und der VU-Universität Amsterdam in den Niederlanden. Dr. Verhage hat 43 wissenschaftliche Arbeiten über STXBP1 verfasst, die von molekularen bis hin zu klinischen Studien reichen. Er ist auch mit dem Karolinska-Institut in Stockholm und dem Broad Institute in Boston verbunden. Persönlich möchte ich anmerken, dass ich Matthijs und sein Team 2018 besucht habe. Er war der erste STXBP1-Forscher, den ich persönlich kennen gelernt habe, und wenn ich sein Labor besucht und sein hervorragendes Team kennen gelernt habe, erinnere ich mich lebhaft an die Hoffnung, die ich für die Zukunft unserer Kinder empfand. Deshalb freue bin ich mich sehr, dass sein Team heute präsentiert wird. Und ich möchte ihm meine Wertschätzung für seinen karrierelangen Fokus auf STXBP1 aussprechen. Wie Russ vorhin bereits erwähnte, bin ich sicher, dass Sie Fragen an die Redner haben werden. Bitte benutzen Sie die Frage-und-Antwort-Taste am unteren Rand Ihres Zoom-Bildschirms. Wenn Sie auf die Schaltflächen Q und A klicken, können Sie Ihre Fragen in das Fenster eingeben. Wir werden die Fragen bis zum Ende aller Präsentationen aufbewahren. Nun übergebe ich also die Präsentation an Matthijs.

## Verhage:

In Ordnung, vielen Dank, Charlene, und auch für Ihre freundlichen Worte, und ich heiße Sie alle zu diesem Webinar willkommen. Ich stelle Ihnen nun unsere Präsentation vor. Mein Name ist also Matthijs Verhage. Und heute werden wir Ihnen einige der Arbeiten vorstellen, die wir in Amsterdam, Niederlande, am STXBP1 durchführen, und ich werde heute zusammen mit Simon, Annemiek und Hanna präsentieren.



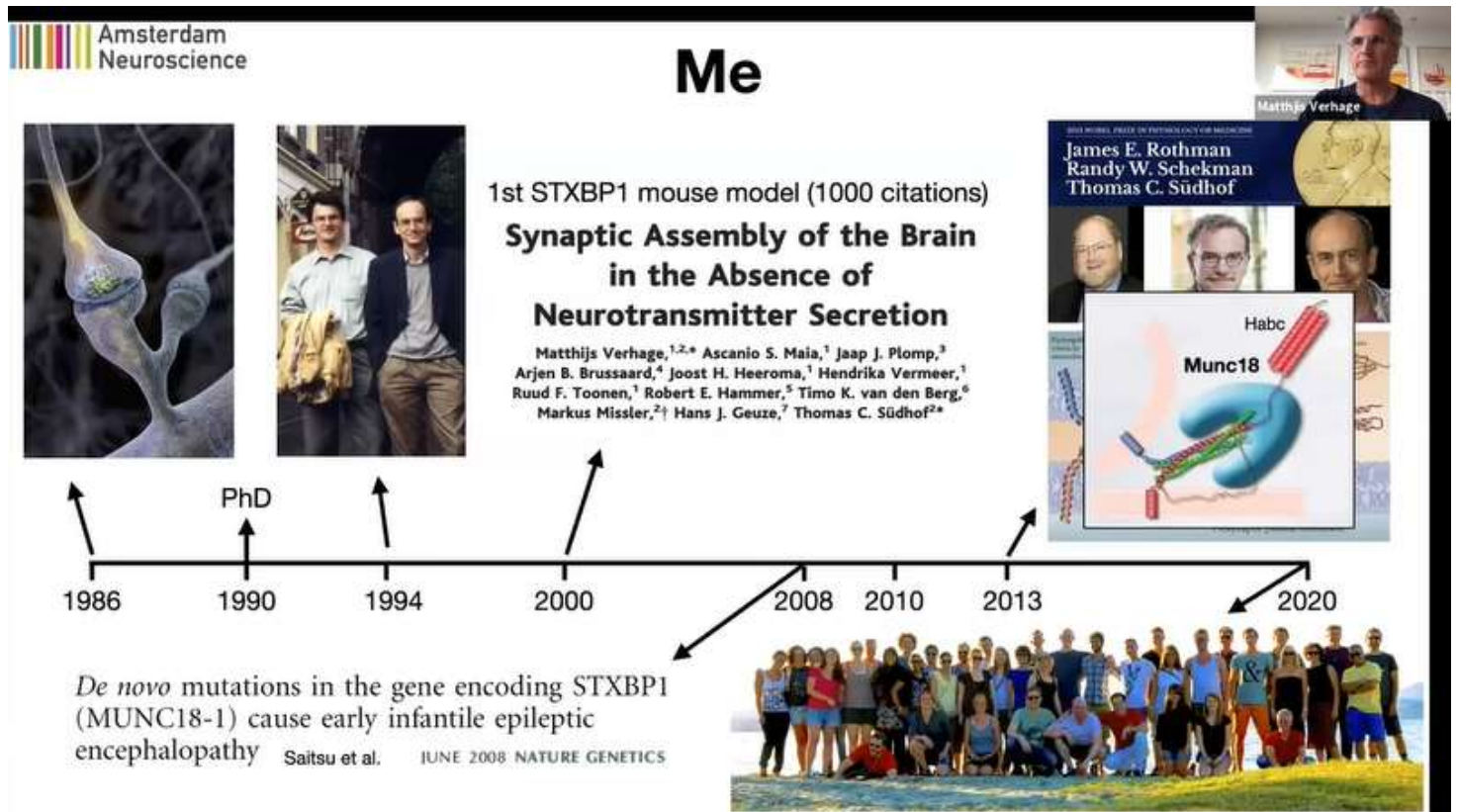
## Designing STXBP1 Natural History Study and Verhage Lab Updates



**Matthijs Verhage, CNCR**  
Vrije Universiteit & VU Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

Ich werde mit einem kurzen Überblick über einige Informationen über mich selbst beginnen, dann aber auch über die Arbeit meines Teams an STXBP1 und auch über das Design der naturwissenschaftlichen Studie. Simon wird Ihnen einige neue Ansätze zur Analyse von EEG-Daten und zum Verständnis des STXBP1-Syndroms mitteilen. Und schließlich werden Hanna und Annemiek über unsere Arbeit an menschlichen Nervenzellen in einer Schale (in vivo) berichten, die wir aus Patientenbiopsien mit Hilfe der STEM-Zelltechnologie gewonnen haben. Einige von Ihnen werden sich vielleicht noch an Hanna und Annemiek vom letzten

Jahr erinnern. Wir präsentierten auch während Ihres Treffens in Philadelphia. Ich glaube, der Rahmen war viel stilvoller als heute. Ich denke, es war ein Fünf-Sterne-Hotel-Ballsaal, aber leider werden wir dieses Jahr dank der COVID-19-Krise natürlich alle aus unseren eigenen persönlichen Käfigen heraus teilnehmen. Aber Sie können sicher sein, dass wir trotz allem unsere Arbeit vorantreiben, um mehr von diesem Syndrom zu verstehen und wir werden auch versuchen, bei der Suche nach zukünftigen Behandlungen zu helfen.

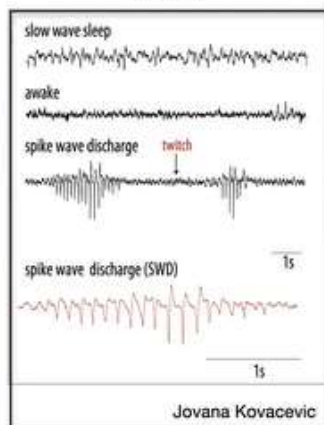


Hier ist eine Folie über mich. Ich habe mein ganzes Leben lang an Synapsen gearbeitet. Synapsen sind die Rechneinheiten des Gehirns und der Ort, an dem sich das STXBP1-Protein ansammelt und arbeitet. Aber das wusste ich 1986 noch nicht. Meinen Dokortitel erhielt ich 1990. Und 1996 trat ich in das Labor von Tom Südhof ein, damals in Dallas, Texas. Und ich begann mit der Arbeit an einem neuen unbenannten Protein, das von meinem Mitbewohner Yutaka Hata isoliert wurde. Ich stellte eine Mausmutante her, indem ich dieses unbekannte Gen inaktivierte, weil Yutaka mir sagte, dass es interessant sein könnte. Also begann eigentlich alles als ein Experiment am Freitagnachmittag. Aber das Ergebnis war eine Studie, die etwa sechs Jahre später veröffentlicht wurde und die wirklich zum ersten Mal zeigte, wie wichtig dieses Protein für die Kommunikation zwischen Nervenzellen im Gehirn ist. Es erhielt auf dem Gebiet viel Aufmerksamkeit und ist auch heute noch die stärkste Wirkung unter allen Genen, die in der Synapse inaktiviert wurden. Und das sind fast hundert. Also dieses Gen ist wirklich super, und es ist ein außerordentlich wichtiges Gen in den Synapsen und in der Kommunikation im Gehirn. Und da es so wichtig ist, ist es für uns keine Überraschung, dass Mutationen in diesem Gen viele Aspekte der Synapsen Funktion und der Gehirnfunktion beeinflussen. Das Syndrom, das Sie alle sehr gut kennen, zu entdecken, dauerte 12 Jahre, nachdem wir angefangen hatten, daran zu arbeiten. Dann weitere fünf Jahre später, wurde diesen drei Herren im Bild oben, einschließlich meines früheren Mentors Tom Südhof, der Nobelpreis verliehen für die Aufklärung von Fusionsreaktionen beim interzellulären Trafficking, insbesondere dieses hier dargestellten Komplexes, des SNARE-Komplexes. Und eine Sache, die in diesem Bild nicht dargestellt ist, ist, dass es tatsächlich ein einziges Protein gibt, das all diese Moleküle wirklich zusammenbringt, und das ist MUNC-18 oder STXBP1. Wir betrachten also STXBP1 als den Hauptregulator dieser Fusionsreaktionen. Nun, noch wichtig zu erwähnen ist, falls es Sie interessiert, dass der Nobel-Vortrag von Tom Südhof, der in den ersten fünf Minuten seines Nobel-Vortrags über MUNC-18 / STXBP1 spricht, online verfügbar ist. Wenn Sie interessiert sind, können Sie ihn online finden. Nachdem ich nach Europa zurückgekehrt bin, habe ich eine Stelle in Amsterdam angenommen und leite die Abteilung für funktionelle Genomik in Amsterdam, und mit meinem Team haben wir, wie Charlene bereits erwähnte, fast 50 Arbeiten in wissenschaftlichen Zeitschriften über STXBP1 und MUNC-18 veröffentlicht.

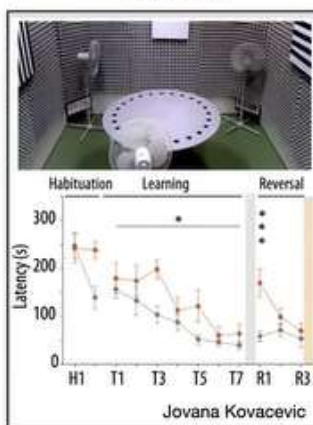
## STXBP1 mouse models



## EEG



## Learning



## Therapy

- Test existing medicine
- Test new compounds
- Test other novel therapies ('gene therapy')

Understand disease mechanisms

Suggest therapy

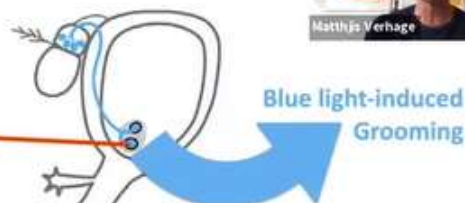
Im Laufe der Jahre haben wir mehrere zusätzliche Mausmodelle angefertigt, auch Modelle, die neben der Inaktivierung des Gens auch die Situation bei Patienten viel genauer modellieren. Und wir konnten EEG-Anomalien untersuchen, die in gewissem Umfang ähnlich sind wie die, die wir bei Patienten beobachten, und auch kognitive Beeinträchtigungen bei diesen Mäusen. Und wir haben diese Mausmodelle benutzt, um Krankheiten besser zu verstehen, aber auch, um neue Therapien vorzuschlagen. Wir haben bereits gezeigt, dass Antiepileptika wie Levetiracetam Anomalien im EEG unterdrücken können. Und wir testen derzeit mehrere weitere Medikamente, um besser zu verstehen, wie Anomalien in diesen Mausmodellen behandelt werden können. Wir testen eine sehr frühe Verabreichung von Medikamenten. Und in Bezug auf die Kognition, wir beantworten auch die Frage, ob diese Antiepileptika auch Verbesserungen im kognitiven Bereich bewirken können. Ich denke, das ist eine sehr wichtige Frage, aber auch neue Medikamente sind wichtig.

Wir arbeiten mit zwei großen Arzneimittelherstellern in Europa an Möglichkeiten, mehr Kopien des STXBP1-Gens zu liefern, indem wir dann Vektoren verwenden, die diese Kopien an die Zellen in dem Gehirn abgeben. Und wir arbeiten auch mit anderen moderneren DNA-Targeting-Technologien, ebenfalls in Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern, die später in der gleichen Webinar Reihe vorgestellt werden. Aber das ist alles sehr arbeitsintensive Arbeit mit Mäusen.

# Flies

STXBP1 (humans) = ROP (flies)

STXBP1 human mutations



Matthijs Verhage



Dr. Lucas Neukomm  
Lausanne, Switzerland



Wir haben also das große Glück, auch mit einem großen Wissenschaftler aus Lausanne in der Schweiz, Lucas Neukomm, zusammenarbeiten zu können. Er hat ein viel besser skalierbares Modell entwickelt, nämlich die Fruchtfliege. Ich glaube, Sie alle kennen sie. Es sind bekannte Organismen auch in der biomedizinischen Forschung, eigentlich schon seit fast hundert Jahren. Und Lucas hat mit diesen Fliegen einige wirklich erstaunliche Dinge erreicht. Zunächst einmal hat er einen Fluoreszenztest entwickelt, mit dem wir eine Beeinträchtigung der STXBP1-Funktion feststellen können, indem wir ein fluoreszierendes Lichtmuster im Flügel der Fliege betrachten.

Können Sie meinen Zeiger im Bild hier oben sehen? Das ist also offensichtlich der Flügel der Fliege. Und was Sie sehen können, ist ein Neuron, das auf das zentrale Nervensystem projiziert, und beim Wildtyp sehen Sie diese Ausläufer. Und wenn man diese Fortsätze entfernt, ist das Verschwinden dieser Fortsätze ein Maß für die STXBP1-Dysfunktion. Und dank der Unterstützung durch den Millionen-Dollar-Bike-Ride-Zuschuss konnten wir eine große Verbundbibliothek von Selleckchem erwerben. Und wir testen jetzt, ob dieses Muster hier, das eingezogene Fluoreszenz-ROP, die Fliegenversion des STXBP1-Gens ist.

Wir machen unsere Tests mit einer dieser Verbindungen aus dieser großen Bibliothek und schauen, ob sie in der Lage sind, dieses Zurückziehen zu unterdrücken und die Situation der normalen Situation anzunähern. Und dies wird uns helfen, Verbindungen auszuwählen, die auch in der Humantherapie relevant sein könnten. Und das Spektakulärste ist, dass Lucas einen ähnlichen Assay auch in Nervenzellen etabliert hat, die am Grooming beteiligt sind, diese kleinen blauen Kreise hier.

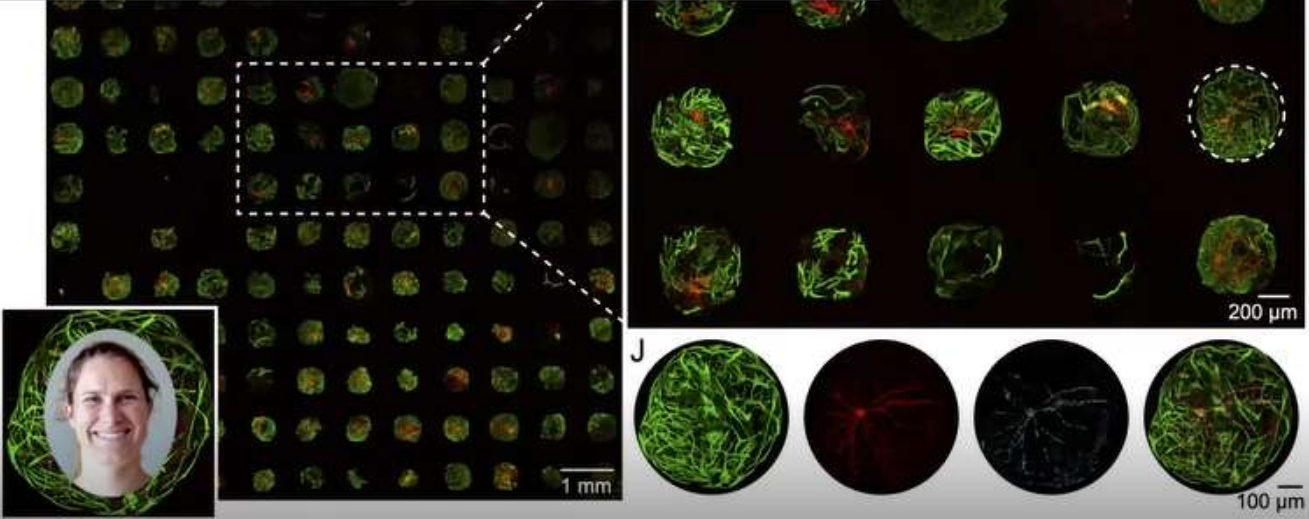
Wenn diese Nervenzellen, die Sie hier sehen, aktiviert werden, senden sie Signale an den Puls, um eine "Grooming"-Antwort zu erzeugen. Und Lucas hat nun in die Zellen ein Protein eingebaut, das auf Licht reagiert und diese Nervenzellen aktiviert, so dass die Fliegen mit dem Grooming beginnen. Wenn er also diese mutierten Fliegen mit Licht bestrahlt, beginnen diese mutierten Fliegen mit dem Grooming, was Sie in diesem Film (siehe Video) hier sehen können. Sie sehen also, wie das blaue Licht hierherkommt, und dann beginnt die Fliege mit dem Putzen. Wenn jedoch Mutationen im STXBP1 die Übertragung dieser Signale an den Puls verhindern, werden die Fliegen nicht mehr bei blauem Licht striegeln, aber wenn eine der Verbindungen, die wir diesen Fliegen zuführen, die STXBP1-Funktion wiederherstellt, beginnen die Fliegen wieder mit dem Striegeln. Wenn wir also eine Newton-Fliege sehen, die sich als Reaktion auf Licht pflegt, wissen wir, dass dieser Flug eine wirksame Verbindung erhalten hat. Hanna und Annemiek sollten ursprünglich mit Lucas gerade in Lausanne sein. Aufgrund der COVID-19-Krise hat sich dies etwas verzögert, aber die digitalen Bildschirme werden sehr bald stattfinden, wahrscheinlich Anfang nächsten Jahres. Und alle wirksamen Substanzen, die Hanna und Annemiek finden, werden nach Amsterdam gebracht und an menschlichen Neuronen getestet, über die sie in einer Minute sprechen werden.

# Cells



## A Single-Cell Model for Synaptic Transmission and Plasticity in Human iPSC-Derived Neurons

Marijke Meijer,<sup>1,8</sup> Kristina Rehbach,<sup>3,5,8</sup> Jessie W. Brunner,<sup>2</sup> Jessica A. Classen,<sup>2</sup> Hanna C.A. Lammertse,<sup>1</sup> Lola A. van Linge,<sup>2</sup> Desiree Schut,<sup>1</sup> Tamara Krutenko,<sup>3</sup> Matthias Heibisch,<sup>2</sup> L. Niels Cornelisse,<sup>1</sup> Patrick F. Sullivan,<sup>6,7</sup> Michael Peitz,<sup>3,4,\*</sup> Ruud F. Toonen,<sup>2</sup> Oliver Brüstle,<sup>3,\*</sup> and Matthijs Verhage<sup>1,2,9,\*</sup>



Parallel dazu hat mein Labor auch große Investitionen in die Entwicklung von Assays auf der Grundlage menschlicher Neuronen getätigt, die wir durch eine STEM-Zell-Technologie erhalten haben. Wir haben insbesondere in standardisierte und skalierbare Assays investiert, um groß angelegte Experimente zu ermöglichen. Auch für Neuronen, die aus Material von Patienten hergestellt werden, wie z.B. STXBP1-Mutationsträger. Wir haben dies mit Hilfe von Mikromustern erreicht, die Sie hier oben auf der Folie sehen können. Es handelt sich im Wesentlichen um einen Deckzettel aus Glas, den wir hier in grün mit kleinen Inseln von Stützzellen bestückt haben. Und wir sehen einzelne Neuronen hier in Rot, die hier in Blau Synapsen bilden, auf sich selbst. Und dieser Assay erlaubt es uns, standardisierte und skalierbare Experimente zu Veränderungen, zu Unterschieden in der Leistung von Neuronen in der synaptischen Funktion bei Trägern der STXBP1-Mutation und bei Kontrollen durchzuführen, aber auch, diese Art der Analyse für das Arzneimittel-screening zu öffnen. Obwohl wir eine grundlegende wissenschaftliche Abteilung sind, interagieren wir auch oft mit Familien von Patienten, weil sie uns besuchen, in diesem Fall zum Beispiel eine Familie aus Israel.

# Patients



Israel



The Netherlands



Italy



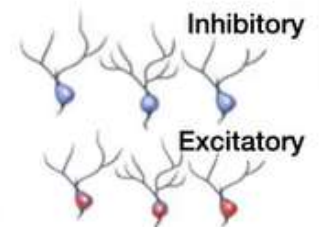
Skin biopsy (or hair...)



Pluripotent stem cells




Neural progenitors



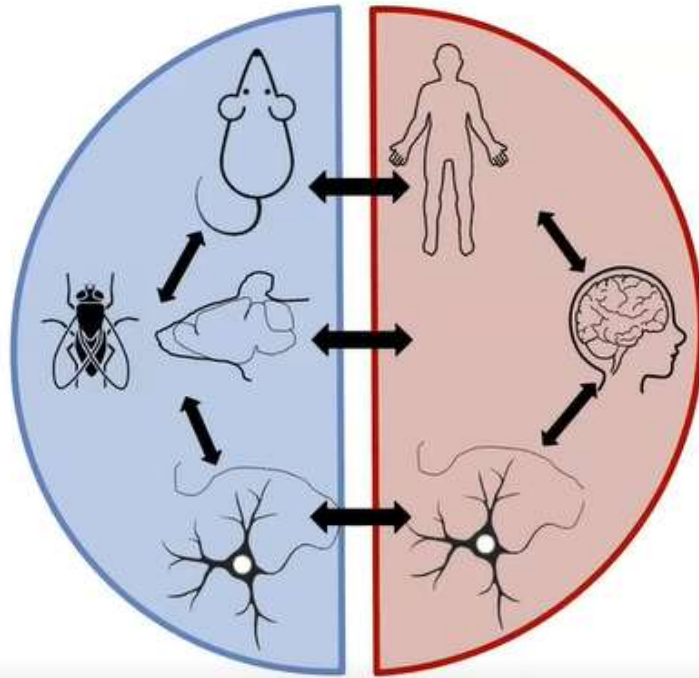
Mature neurons

Durch die Organisation von Patiententagen in unserem Krankenhaus Amsterdam und während meiner Besuche in anderen Labors weltweit, wie z.B. hier in Italien. Im Bild sehen Sie ein Patientenvertreter und die Familie, oder die Eltern dieses Trägers. Und dies ist auch für uns eine Gelegenheit, Gewebeprobe für unsere Experimente mit menschlichen Neuronen zu entnehmen. Gegenwärtig benötigen wir eine kleine Hautprobe, aber wir hoffen, in Zukunft auch Nervenzellen aus Haarzellen und vielleicht auch aus Urin züchten zu können und diese einzelnen Neuronen Modelle von vielen einzelnen STXBP1-Patienten zu generieren, wie ich es Ihnen auf der vorherigen Folie gezeigt habe.

 Amsterdam  
Neuroscience

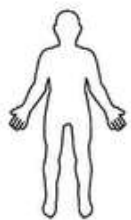


Darüber hinaus arbeiten wir auch mit Patientenfamilien und Klinikern in Europa zusammen, um viel mehr Informationen über das STXBP1-Syndrom zu erhalten und gemeinsam Therapien zu entwickeln. Wir sind der festen Überzeugung, dass wir durch die Zusammenarbeit mit Familien und Klinikern zu neuen Erkenntnissen kommen, aber auch neue Strategien entwickeln können. Und was wir derzeit tun, ist, wir testen EEG. Wie Sie hier oben sehen können, machen wir EEG mit drei tiefen Bildern, und wir machen strukturierte Fragebögen, aber wir machen auch gerne viel mehr.



Und eines unserer Hauptziele ist es, auf ein integratives Bild hinzuarbeiten, das Sie hier oben sehen können, wo wir alle unsere Ergebnisse der Grundlagenforschung in blau, rechts - links - an Zellen und Tiermodellen verknüpfen und diese mit den menschlichen Pendanten aus einzelnen menschlichen Neuronen in einer Kulturschale bis hin zu den einzelnen Patienten in Verbindung bringen können. Und für den Rest dieses Webinars werden wir in diesen roten Teil hineinzoomen.

Zunächst möchte ich ein paar Worte zu dieser naturkundlichen Studie sagen. Und dann werde ich an Simon übergeben, um noch viel mehr über EEG-Aufzeichnungen und die EEG-Analyse zu sagen, und dann schließlich an Annemiek und Hanna, um Ihnen mehr darüber zu erzählen, was wir mit menschlichen Neuronen in einer Kulturschale machen.



**Natural History study**



**Studying EEG recordings**



**Using pluripotent stem cells to study STXBP1 in patient cells**



Aber zuerst noch ein paar Worte über die naturwissenschaftliche Studie. Wir alle wissen, dass Kinder, die Mutationen von STXBP1 tragen, sich in mehrfacher Hinsicht anders entwickeln als normal entwickelnde Kinder. Und eines der Ziele der künftigen Behandlung könnte es sein, zu versuchen, diese Lücke zu verkleinern und die Leistung dieser Kinder näher an die anderer Kinder heranzuführen. Und die Eltern und Betreuer stehen an der Spitze und spielen eine wichtige Rolle bei der Priorisierung der Aspekte, die wir zuerst angehen sollten.

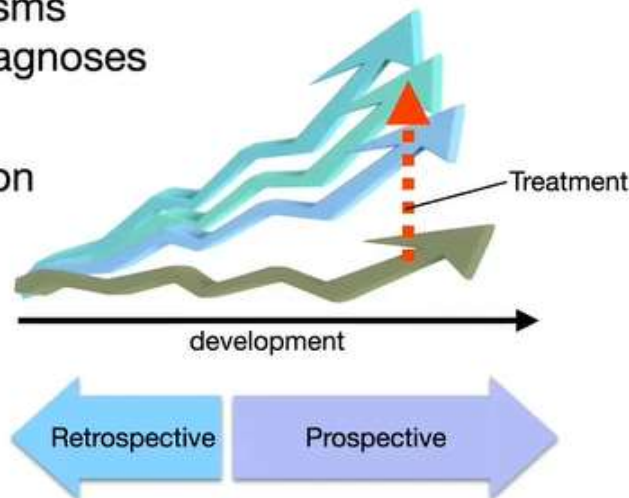
# Design natural history study

collect health information to understand how STXBP1 syndrome develops and how to treat it



Development (e.g., language, motor skills)  
Seizures, spasms  
Psychiatric diagnoses  
Behavior

Communication  
Cognition  
Quality of life



Hilgo Bruining

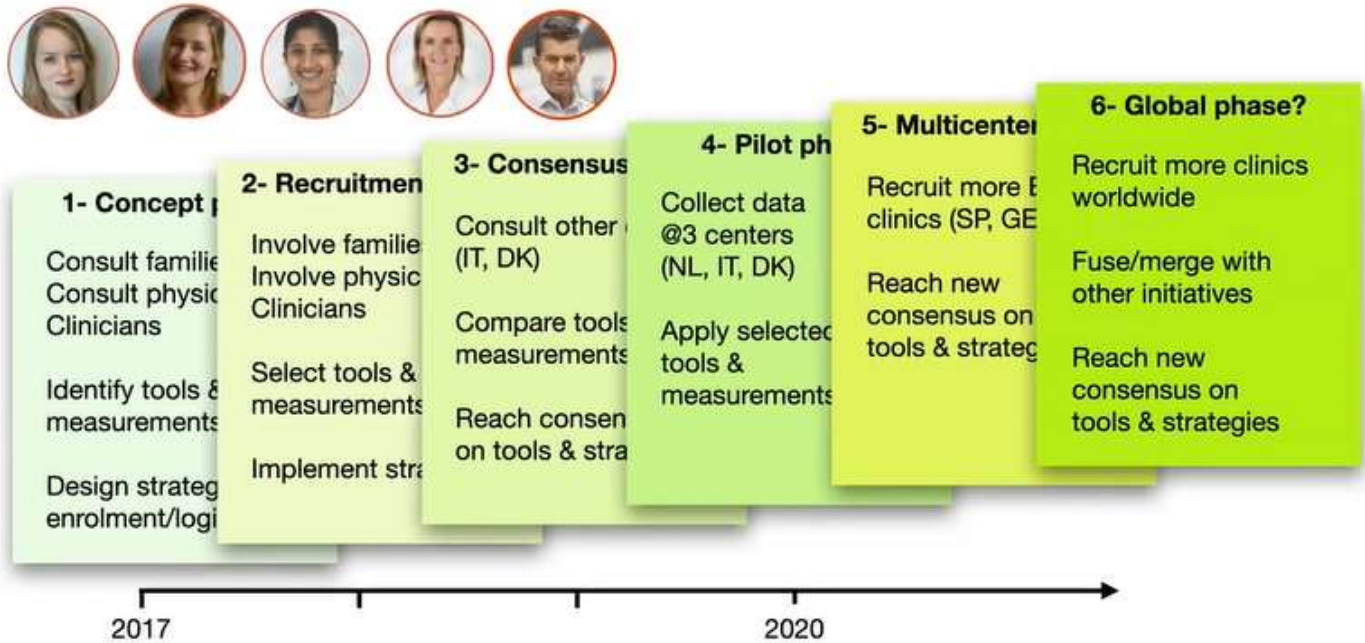


Mieke van Haelst

Aber um dies gut zu tun, brauchen wir zunächst eine genaue Beschreibung des normalen Krankheitsverlaufs, und wir brauchen Dinge, die wir wirklich genau messen können, damit wir uns damit befassen können, wie gut jeder Behandlungskandidat wirklich hilft, sagen wir zum Beispiel auf einer Skala von Null bis Hundert. Diese Skalen sind derzeit oft nicht sehr genau, vielleicht mit Ausnahme von Anfällen, vor allem bei den Fähigkeiten, die für Eltern und Betreuer wichtig sind. Die meisten sind hier unten auf dem Bild abgebildet. Und mit dieser Studie wollen wir diese Situation verbessern, aber natürlich brauchen wir viele Patienten, um ein verlässliches Bild auch von der Variation unter den Patienten zu erhalten. Und wir brauchen viel Hilfe sowohl von den Patienten und ihren Familien und Betreuern als auch von den behandelnden Ärzten, um die richtigen Ziele zu finden, die richtigen Skalen zu messen und schließlich diese Messungen durchzuführen. Wir können das tun, indem wir die derzeit verfügbaren Informationen nutzen, die zumeist aus Fragebögen und EEG bestehen. Und dies wird als retrospektive Studien bezeichnet, d.h. im Grunde genommen Stichproben von bereits vorhandenen Informationen von einzelnen Patienten. Aber unser Ehrgeiz ist es auch, mehr Messungen einzubeziehen, die zumindest Familien in Holland und Sie priorisiert haben, wie z.B. Kommunikationsfähigkeiten, kognitive Fähigkeiten und Wohlbefinden.

Und sogar Skalen zu finden, um dies wirklich zu messen und die potenzielle Verbesserung zukünftiger Therapien zu messen, ist für uns derzeit ein großes Unterfangen. Ich muss betonen, dass ich ein Grundlagenwissenschaftler bin und alle, die Sie heute hören werden, sind Grundlagenwissenschaftler. Und für uns als Grundlagenwissenschaftler sind wir nicht ausgebildet, eine solche Studie zu leiten, aber glücklicherweise haben wir zwei großartige Kliniker in Amsterdam, die uns diese Art von Studien ermöglichen werden. Und das sind Hilgo Bruining, der Kinderpsychiater und auch Kinderarzt ist, und Mieke van Haelst, die klinische Genetikerin. Und mit ihnen haben wir eine naturkundliche Studie mit einigen Kliniken in Europa begonnen.





Und wie ich schon sagte, brauchen wir eine Menge Input von vielen Menschen, und wir haben diese wenigen Schritte gemacht, beginnend mit der Konzeptphase, in der wir Familien zu den Prioritäten konsultiert haben, was zuerst behandelt werden soll, und Ärzte und Kliniker konsultiert haben, wie wir das Ganze strukturieren sollen. Wir haben Instrumente und Messungen identifiziert und Strategien entworfen. Gehen wir zu den Patienten? Laden wir Patienten an einen zentralen Ort ein? Wir haben eine Rekrutierungsphase durchgeführt, in die wir einige Familien einbezogen haben, und wir haben Instrumente getestet und unsere Strategie umgesetzt. Und wir sind zu einer Konsensphase gekommen, in der wir Kliniker in zwei anderen europäischen Ländern, in Italien und Dänemark, einbezogen haben, Instrumente verglichen und einen Konsens erzielt haben. Und im Moment befinden wir uns in einer Pilotphase, in der wir Daten von drei Zentren in Holland, Italien und Dänemark gesammelt haben. Wir haben Instrumente angewandt und Proben aus diesen verschiedenen Kliniken in diesen drei Ländern genommen. Und Simon wird auch auf eine der ersten Studien eingehen, die wir auf der Grundlage der Stichproben dieser drei Standorte konzipieren. Und da sind wir jetzt angelangt. Und dies ist auch ein Punkt, den wir ohne externe Finanzierung erreichen können, aber es ist natürlich unser Bestreben, dies auf eine multizentrische Phase auszudehnen, in der wir viel mehr Patienten einbeziehen können. Ich denke, es versteht sich von selbst, dass je mehr Patienten wir aufnehmen können, desto besser wird unser Bild davon, was genau der natürliche Verlauf dieser Krankheit ist. Und um das zu erreichen, brauchen wir natürlich viel mehr Hände. Wir brauchen Leute, die wirklich in all diese verschiedenen Kliniken gehen, die die Informationen zusammenstellen, die es bereits gibt, und die vorzugsweise auch viel mehr messen, als das, was derzeit in diesen klinischen Akten steht. Und da komme ich als Grundlagenwissenschaftlerin ins Spiel, ich kann das nicht leiten, aber ich kann ein Förderer sein und ich kann ein Motor hinter diesen Projekten sein, indem ich versuche, eine Finanzierung zu bekommen.

Und ich spreche derzeit sowohl mit nationalen als auch mit europäischen Politikern, um eine Finanzierung für diese naturkundliche Studie zu erhalten. Und in Zukunft möchten wir dies auch gerne mit einbeziehen. Auf globaler Ebene haben wir daher derzeit diese Kliniken beteiligt, und sie sind alle bereit und in der Lage, sich daran zu beteiligen.

# Design natural history study



Und wir sprechen mit einer Finanzierungsorganisation, um diese in unsere Studie einzubeziehen. Und in Zukunft würden wir auch gerne Menschen auf der anderen Seite des Ozeans einbeziehen. Wir haben bereits sehr produktive Gespräche mit Ingo Helbig und seinen Leuten bei CHOP geführt. Und wir sind optimistisch, dass wir, wenn wir das zum Laufen gebracht haben, auch diesen Schritt machen können, um den Sprung zu einer naturkundlichen Studie im globalen Maßstab zu schaffen. Das ist alles, was ich zu dieser naturkundlichen Studie sagen möchte, und für den Rest der Präsentation möchte ich Simon das Mikrofon übergeben, der Ihnen ein wenig mehr darüber erzählen wird, wie wir EEG-Aufzeichnungen im Zusammenhang mit diesem STXBP1-Syndrom analysieren. Und um das zu tun, werde ich jetzt den Bildschirm Simon übergeben.

**Simon:**

Ja. Also, hallo zusammen. Mein Name ist Simon Houtman und heute werde ich Ihnen ein wenig über die EEG-Analyse erzählen, die wir bei Kindern mit STXBP1-Syndrom durchführen. Ich untersuche also das Gehirn und habe bei diesem Syndrom auf der gesamten Hirnebene angefangen. Ich schaue mir also nicht einzelne Zellen oder Blutspiegel oder Tiere an, sondern ich benutze das EEG, um das gesamte Gehirn zu messen.



## Using EEG for better treatment decisions in STXBP1 syndrome

Simon J. Houtman

Aber bevor ich auf die Einzelheiten der Studie eingehe, die wir durchführen, möchte ich Ihnen ein wenig über meinen Hintergrund erzählen. Ich bin also Doktorand an der VU-Universität in Amsterdam und habe einen Bachelor in KI, in künstlicher Intelligenz, und danach habe ich einen Forschungs-Master in Neurowissenschaften gemacht, und jetzt versuche ich, rechnergestützte Methoden der KI mit grundlegenden Aspekten und dem EEG der Neurowissenschaften zu kombinieren, um das EEG zu finden und zu verwenden, um sinnvolle Untergruppen bei Autismus und anderen neurologischen Entwicklungsstörungen einschließlich des STXBP1-Syndroms zu finden.

### My background

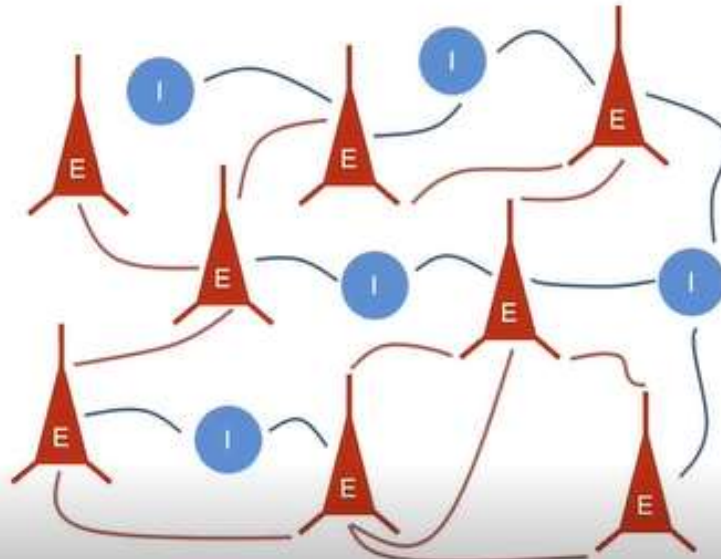


“Using EEG for finding meaningful subgroups in autism and other neurodevelopmental disorders”

Zunächst möchte ich also einige grundlegende Aspekte des Gehirns beschreiben, die für dieses Projekt interessant sind. **Im Gehirn haben wir also 100 Milliarden Zellen, und einige von ihnen sind exzitatorisch, was bedeutet, dass sie die Aktivität im Gehirn erhöhen, während andere hemmend sind. Und das bedeutet, dass sie die Hirnaktivität dämpfen.**

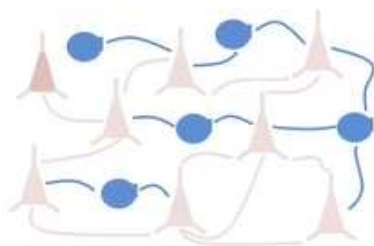
# Excitation and inhibition in the human brain

- 100 billion cells, **excitatory** and **inhibitory**
- Cells are connected and communicate
- Tight balance between excitation and inhibition



Und natürlich arbeiten diese Zellen nicht von selbst, aber **sie sind miteinander verbunden und sie kommunizieren**, und **es muss ein enges Gleichgewicht zwischen dieser Erregung und dieser Hemmung bestehen**. Und wenn man im Grunde ein Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung hat, finden wir typische Hirnwellen, und wenn es **zu viel Hemmung gibt**, dann wird die Aktivität **zu stark gedämpft**, und die Aktivität **stirbt aus**.

## Excitation and inhibition in the human brain



**Too much inhibition**



**No activity**



**Balanced E-I**



**Typical brain waves**



**Too much excitation**

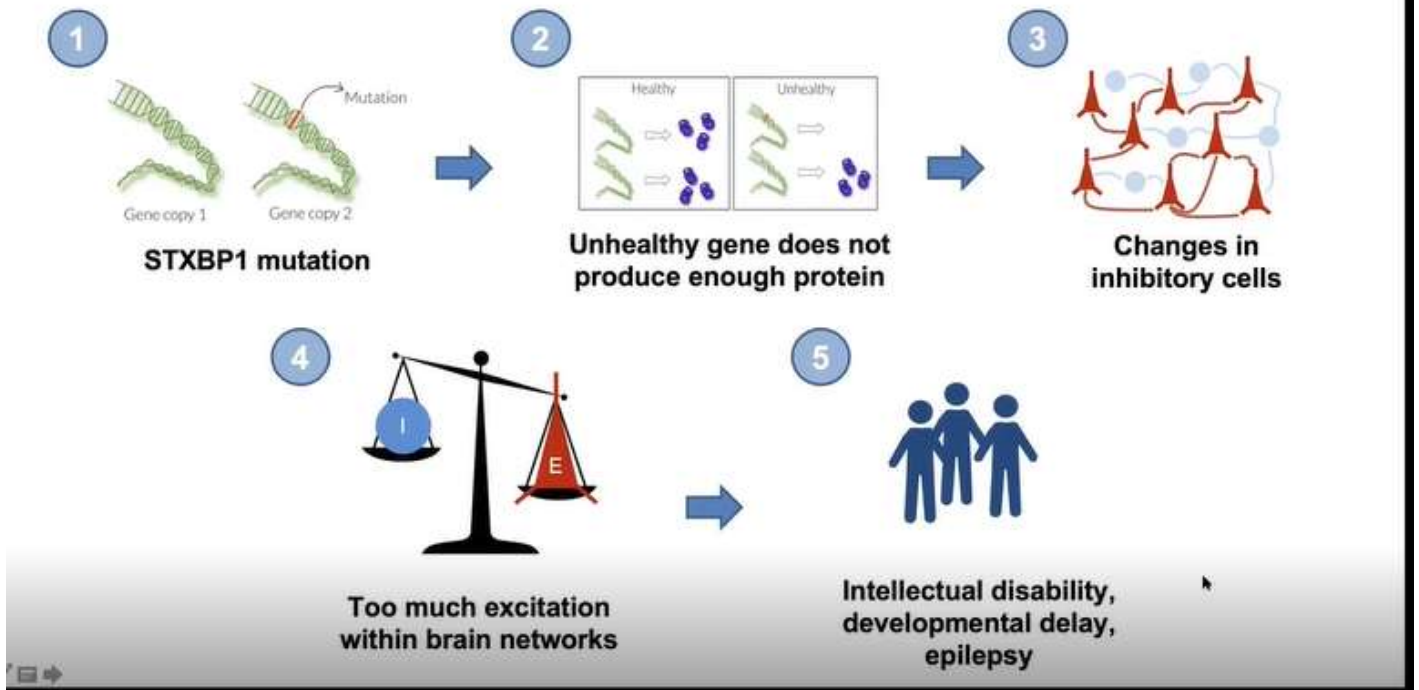


**Seizures**

Sie werden also wenig oder keine Aktivität finden. Hat man dagegen auf der anderen Seite **zu viel Erregung**, also **zu viel aktivierte Hirnaktivität**, erhält man im Grunde genommen **Anfallsaktivität oder Krampfanfälle**. Der Grundgedanke **beim STXBP1-Syndrom** ist also, dass Sie **eine Mutation auf einer der Genkopien** haben und dies zu einer **Reduktion des Proteins an der Synapse** führt.

## Changes in E-I balance in STXBP1 syndrome?

Simon Houtman

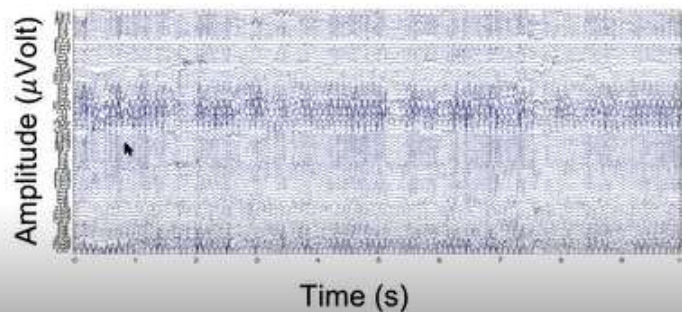
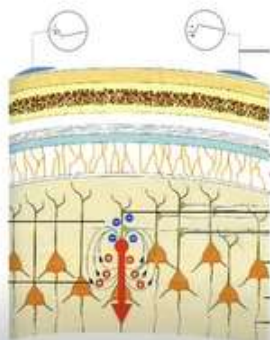


Das ungesunde Gen produziert also nicht genügend Protein für eine normale synaptische Übertragung. **Und wir glauben, dass dies zu einer Veränderung der hemmenden Zellen führt. Und wir denken, dass dies zu einer zu starken Erregung innerhalb der Gehirnetze führt,** und das könnte der geistigen Behinderung, der Entwicklungsverzögerung und der Epilepsie zugrunde liegen, die wir bei den Patienten finden. Entschuldigung, ich sehe den Bildschirm nicht mehr. Wo ist der hin? Nun, okay. Ich denke, das ist das Richtige. (Greene) Ja. Das ist sehr gut. Also, wie können wir diese Erregungs-Hemmungs-Balance messen?

## Electroencephalography (EEG)

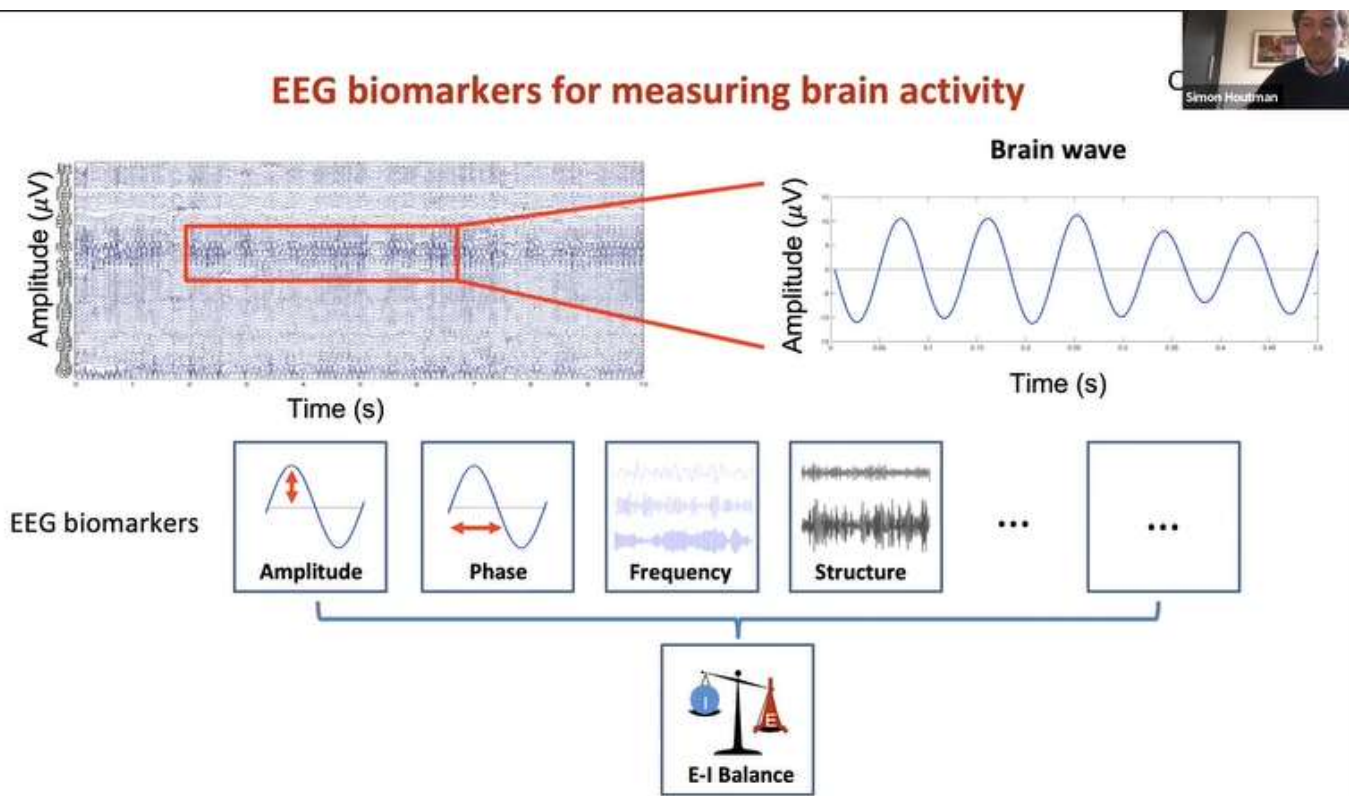
Simon Houtman

- EEG records brain waves
- Measures activity of thousands of brain cells
- Multiple electrodes on the head
- EEG is used in the clinic for STXBP1
  - Epilepsy / EEG abnormalities
  - Aim: Use EEG to inform treatment decisions



Das machen wir also mit dem EEG, und das EEG zeichnet die Gehirnwellen auf. Hier sehen Sie also im Bild oben, wie ich einem Kind ein Netz übergezogen habe, und wir messen nicht die Aktivität einzelner Zellen, sondern wir messen die Aktivität tausender Gehirnzellen. Links unten sieht man Zellen, die im Gehirn sitzen, und außen sieht man EEG-Elektroden. Wir messen die Aktivität von Tausenden dieser Hirnzellen zur gleichen Zeit. Und das tun wir mit Hilfe mehrerer Elektroden am Kopf. Und dann sieht die typische EEG-Aufzeichnung

so aus, wie das Signal rechts unten aussieht, und das EEG wird in der Klinik bereits für das STXBP1-Syndrom verwendet, aber derzeit nur zur Diagnose von Epilepsie und zum Auffinden von EEG-Anomalien. Und unser Ziel ist es, das EEG für Behandlungsentscheidungen zu nutzen. Wir wollen also aus den EEG-Aufzeichnungen quantitative Messwerte gewinnen, die wir dann für Behandlungsentscheidungen in der Klinik verwenden können. Und wie machen wir das?

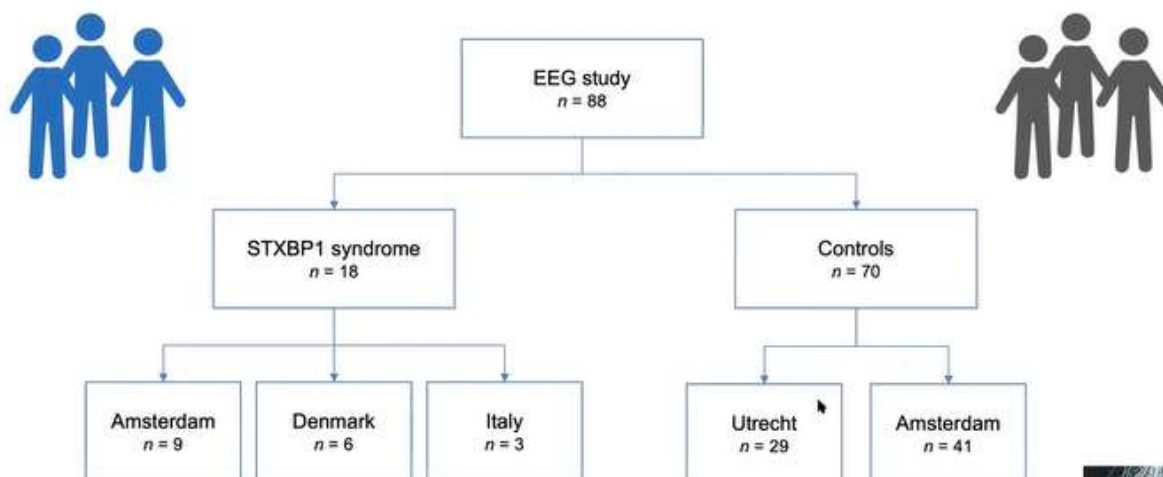


Wenn wir also eine typische EEG-Aufzeichnung haben, können wir diese im Prinzip vergrößern. Und dann sieht man, wie eine Hirnstromwelle aussieht. Und auf der Grundlage einer solchen Hirnstromwelle können wir verschiedene Messungen der EEG-Hirnaktivität ableiten, die wir EEG-Biomarker nennen. Und man hat zum Beispiel Amplituden, man hat Phase, Frequenz, aber auch Struktur innerhalb des Signals. Und es gibt viele weitere Biomarker, die man aus dem EEG ableiten kann.

Für einige dieser Biomarker wurde bereits gezeigt, dass sie bei Störungen, z.B. bei Alzheimer oder Parkinson, verändert sind. Es gibt Unterschiede bei diesen Biomarkern. Und wir wollen nun untersuchen, wie diese Biomarker beim STXBP1-Syndrom verändert sind. Und insbesondere haben wir einige vom EEG abweichende Eigenschaften kombiniert und sie zu einem Maßstab zusammengefasst, von dem wir glauben, dass es das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung messen kann.

Dies ist also unser Studiendesign.

## Study design



Wir haben viele EEG-Aufzeichnungen. Wir haben 88 Aufzeichnungen: 18 Aufzeichnungen von Kindern mit STXBP1-Syndrom, von denen neun in Amsterdam, sechs in Dänemark und drei in Italien gemessen wurden. Und dann haben wir 70 Kontrollen: 29 aus Utrecht und 41 aus Amsterdam. Und im Grunde genommen haben wir die EEG-Aufzeichnungen von all diesen Kindern. Und jetzt analysieren wir, wie dieses E-I-Balance-Maß, das wir entwickelt haben, sich zwischen diesen beiden Gruppen verändert. Damit komme ich schon zu den Hauptzielen dieses Projekts.

## Main goals

1 Understand brain changes induced by STXBP1 mutations

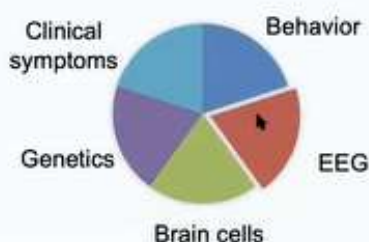
2 Investigate treatment responses

3 Use EEG for better treatment decisions

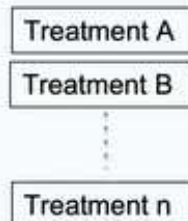
Diagnosis



Patient characterization



Personalized treatment



Das erste Ziel besteht also darin, Veränderungen im Gehirn, die durch STXBP1-Mutationen hervorgerufen werden, mittels EEG zu verstehen und auch das Ansprechen auf eine Behandlung zu untersuchen. Wenn man ihnen also ein bestimmtes Medikament oder eine bestimmte Art von Medikamenten verabreicht, wollen wir sehen, ob sich das auf diese EEG-Biomarker auswirkt. Und schließlich wollen wir das EEG auch für bessere Behandlungsentscheidungen nutzen. Wenn also ein Kind in die Klinik kommt und eine

Diagnose erhält, wollen wir eine vollständige Patientencharakterisierung auf der Grundlage der klinischen Symptome vornehmen: Verhalten, aber auch Genetik und Analyse der Gehirnzellen um dann durch das Hinzufügen des EEG, über die personalisierte Behandlung, die diese Kinder erhalten können, zu informieren. Das war also bereits das Ende meines Vortrags.



## Collaboration & acknowledgements

**The Danish Epilepsy Hospital**  
Elena Gardella  
Rikke Møller

**Amsterdam UMC**  
Hilgo Bruining  
Marc Engelen

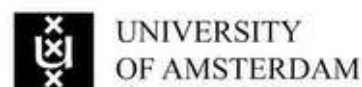
**Gaslini Institute, Genova**  
Ganna Balagura  
Federico Zara  
Pasquale Striano

**Acknowledgements**  
Simon-Shlomo Poil  
Richard Hardstone  
Arthur Avramiea  
Sonja Simpraga  
Erika Juarez

**University of Amsterdam**  
Titia van Zuijen



**VU Amsterdam**  
Simon Houtman  
Hanna Lammertse  
Annemiek van Berkel  
Klaus Linkenkaer-Hansen  
Matthijs Verhage



Natürlich machen wir das nicht allein. Hier sind also unsere Mitarbeiter und jetzt, ja. Das war's also. Wie komme ich zurück zum Zoom? Wir können Hanna jetzt fragen, ihre Präsentation zu zeigen.

### Hanna :

Ja. Okay. Wir wurden bereits von Matthijs vorgestellt. Ich heiße Hanna und werde zusammen mit Annemiek einen Vortrag halten, um Ihnen ein wenig mehr darüber zu erzählen, wie wir die Folgen von STXBP1-Mutationen auf zellulärer Ebene untersuchen. Zunächst eine ganz kurze Einführung auch über uns.



### Annemiek van Berkel

- BSc Psychobiology  
University of Amsterdam
- MSc Neuroscience & Cognition  
University of Utrecht

## Our background

### PhD Students at laboratory of Matthijs Verhage



### Hanna Lammertse

- BSc Neuroscience  
University College London
- MSc Neurosciences  
Vrije Universiteit Amsterdam





Wir haben beide einen Hintergrund in den Neurowissenschaften, sowohl einen Bachelor- als auch einen Master-Abschluss. Und derzeit sind wir Doktoranden im Labor von Matthijs Verhage. Wir sind also Neurobiologen. Wir arbeiten hauptsächlich mit Zellen, und wir betrachten die molekulare Ebene, und unser Ziel ist es, STXBP1 zu verstehen, sowohl in der Gesundheit als auch in der Krankheit im Falle von STXBP1-Mutationen.

## Our background



### Annemiek van Berkel

- BSc Psychobiology  
University of Amsterdam
- MSc Neuroscience & Cognition

### PhD Students at laboratory of Matthijs Verhage



### Hanna Lammertse

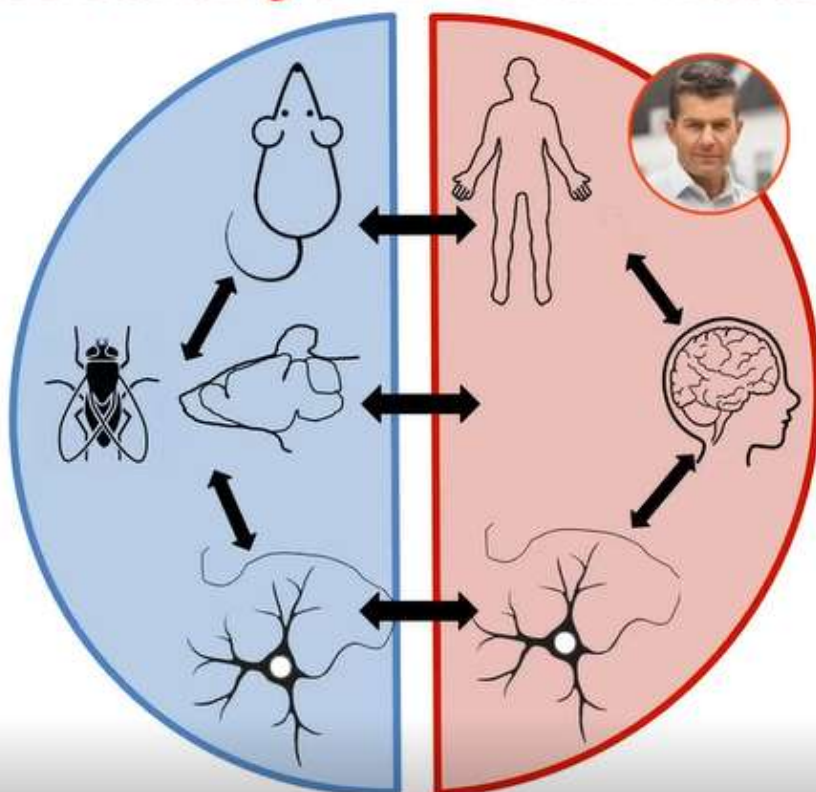
- BSc Neuroscience  
University College London
- MSc Neurosciences



## Understanding STXBP1 in health and disease

Und zwei Dinge, mit denen wir uns bereits beschäftigt haben, sind zum Beispiel, dass wir eine einzigartige Variante einer homozygoten STXBP1-Variante beschrieben haben. Das haben wir letztes Jahr veröffentlicht. Aber auch wir waren zum Beispiel sehr stark an der Erstellung einer Website beteiligt, die sowohl für Patienten als auch für Kliniker und Forscher Informationen bereitstellt. Diese Folie ist Ihnen also mittlerweile bekannt.

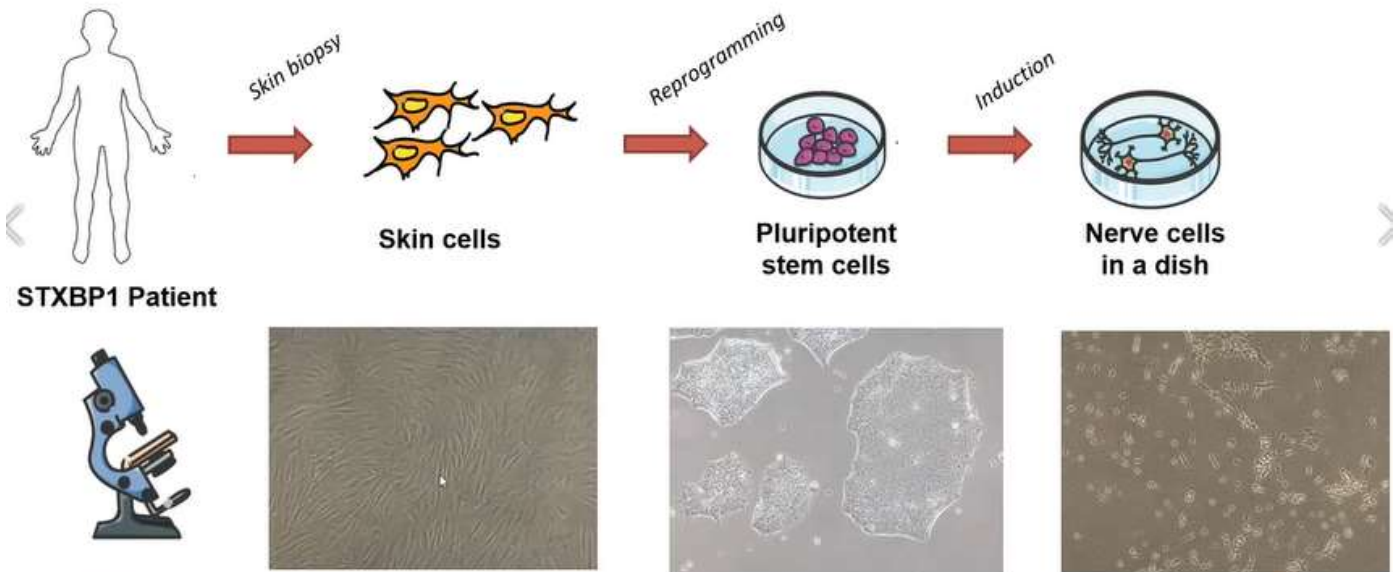
## Understanding STXBP1: from mice to men



Und wir werden uns jetzt auf die Untersuchung menschlicher Nervenzellen konzentrieren. Also ganz hier am unteren Bildschirmrand, worum es in diesem Vortrag gehen wird. Die

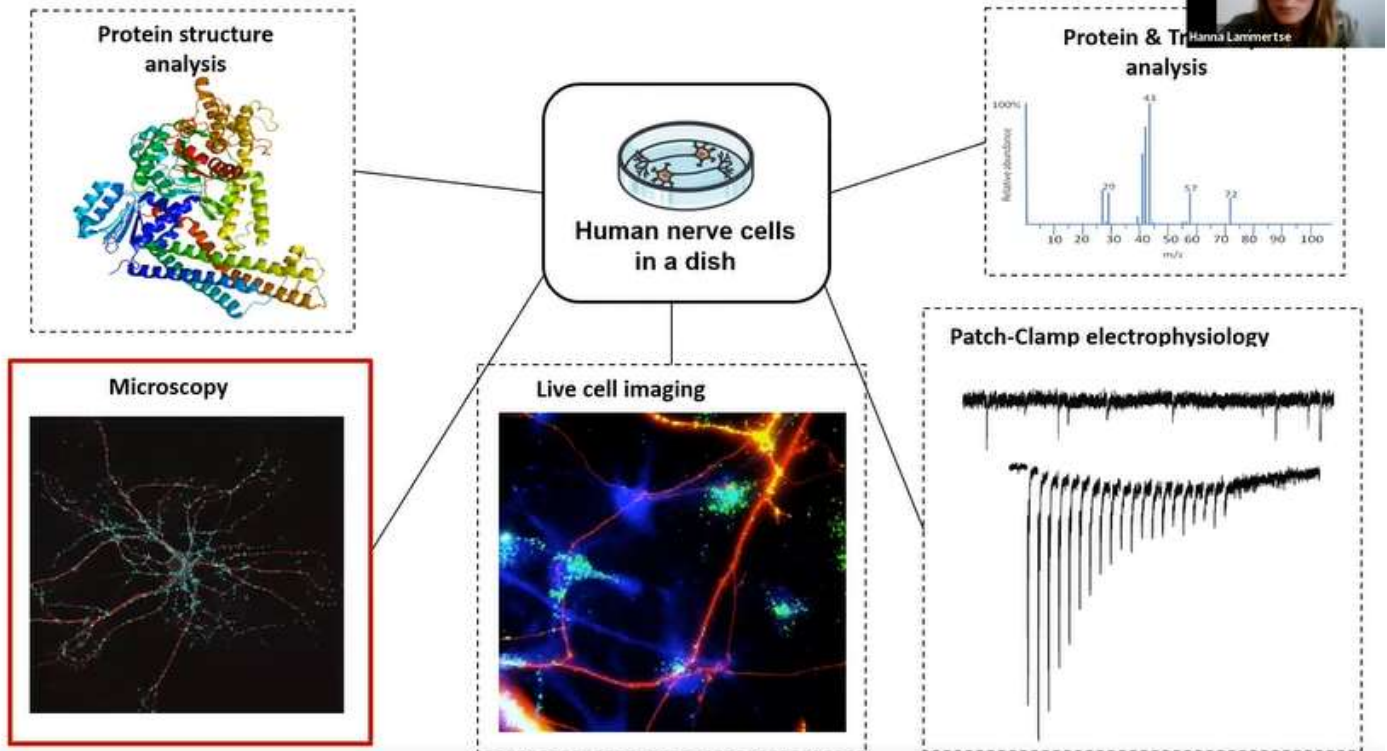
erste Frage, die wir sehr oft gestellt bekommen werden, lautet: Wie kommt man eigentlich zu menschlichen Nervenzellen, und insbesondere zu menschlichen Nervenzellen, die eine STXBP1-Mutation haben.

## Studying STXBP1 mutations in human nerve cells



Dazu verwenden wir eine Technologie, die als induzierte pluripotente STEM-Zellen bekannt ist, und kurz und schematisch sieht der Prozess in etwa so aus. Wir haben einen Patienten, der eine STXBP1-Mutation trägt und der die klinischen Symptome zeigt. Wir erhalten eine kleine Hautbiopsie oder ein sehr kleines Stück Haut. Daraus können wir dann im Labor Hautzellen isolieren, und diese Hautzellen haben dann natürlich die genetische Ausstattung der Person, die die Hautzellen gespendet hat. Durch die Reprogrammierung können wir die Hautzellen im Wesentlichen vergessen lassen, dass sie Hautzellen waren, und sie bilden eine Art von Zellen, die wir pluripotente STEM-Zellen nennen. Und diese Zellen können nun jede Art von Zelle bilden, die man in einem menschlichen Körper findet. In unserem Fall sind wir sehr interessiert an Neuronen, Nervenzellen, und wir wollen sie in unserem Labor züchten. Durch einen Induktionsprozess erzeugen wir diese STEM-Zellen, wir induzieren sie, um mit der Bildung spezialisierter Nervenzellen zu beginnen, die wir dann mit unseren zellulären und molekularen Techniken im Labor untersuchen können. Um Ihnen eine Vorstellung davon zu geben, wie das unter einem Mikroskop aussieht, habe ich hier einige Bilder zusammengestellt. Sie sehen hier oben im Bild ein Beispiel, ein Bild von einigen Hautzellen, die wachsen. Sie sehen diese sehr länglichen Formen rechts. Nach der Reprogrammierung sieht das Aussehen dann ganz anders aus wie im Bild in der Mitte. Wir sehen diese Art von Kolonien, wir nennen diese pluripotenten STEM-Zellen. Wenn wir dann die Induktion durchführen, sehen wir tatsächlich, dass sie wieder ganz anders aussehen, und jetzt bilden sie Nervenzellen aus wie im Bild rechts. Wir sehen also diese kleinen Blöcke und sie beginnen diese sehr typischen Fortsätze zu bilden, von denen wir wissen, dass sie Neuronen sind. Sobald wir also diese menschlichen Nervenzellen in unserer Schale haben, verwenden wir eine Vielzahl verschiedener Techniken, um diese STXBP1-Mutationen zu betrachten und zu untersuchen. Wir werden Sie durch diese Techniken führen. So schauen wir uns zum Beispiel die Struktur des Proteins selbst an, aber wir schauen uns auch die Zellen an.

# Studying STXBP1 mutations in human nerve cell



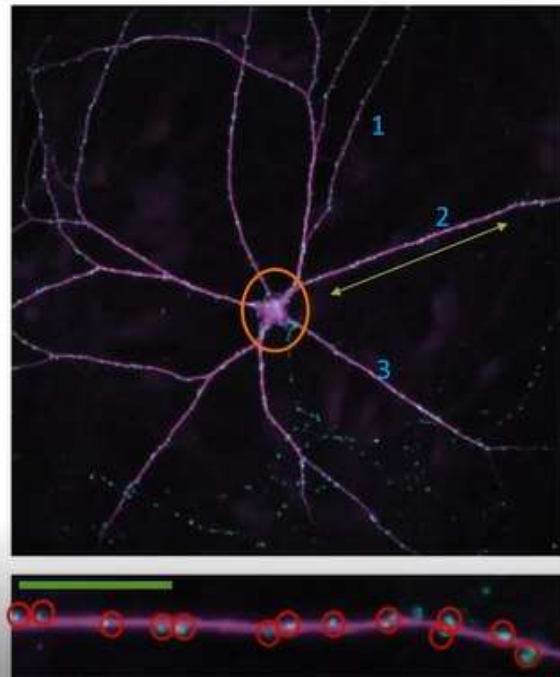
Welche Art von Proteinen exprimieren sie? Und auch welche Art von Transkripten exprimieren sie? Wir schauen mit Mikroskopie. Wir schauen uns die Struktur oder die Form der Zellen an, und wir schauen uns die Zellen auch funktionell an. Also wie sie tatsächlich funktionieren. Und dafür verwenden wir Patch, Clamp, Elektrophysiologie und die Bildgebung lebender Zellen. Zunächst ein wenig zur Mikroskopie.

## Studying nerve cells using microscopy



**Do patient nerve cells look different from control cells?**

- Size of the cell body
- Number of extensions ('neurites')
- Length of neurites
- Number of synapses

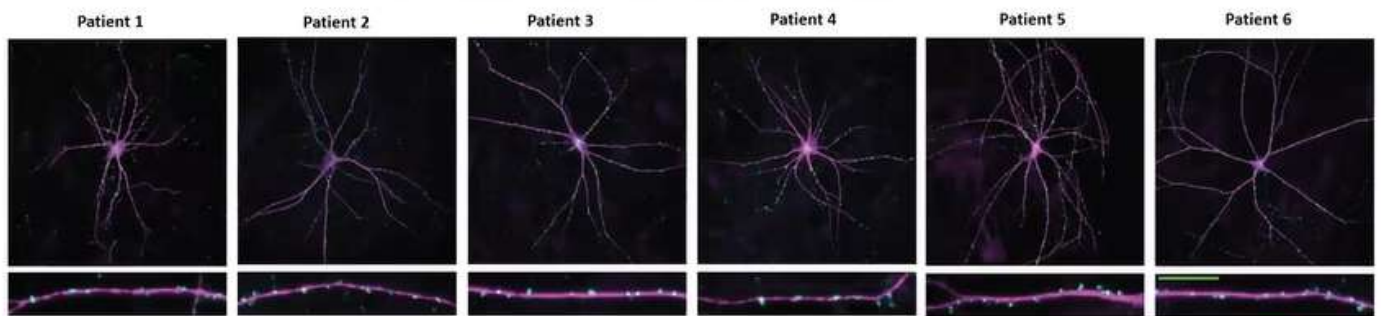
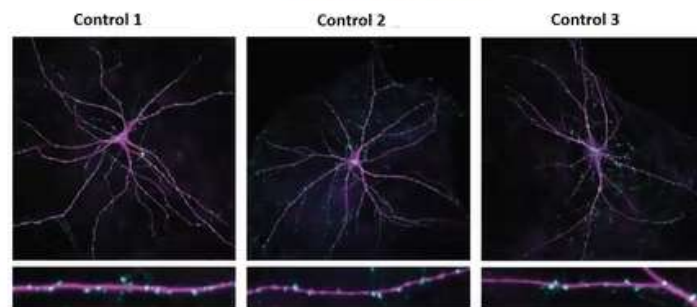


Wenn wir Nervenzellen mit Hilfe der Mikroskopie untersuchen, stellen wir im Wesentlichen die Frage, ob die Nervenzellen des Patienten anders aussehen als die Kontrollzellen. Deshalb habe ich hier ein Bild als Beispiel dafür gegeben, wie eine Zelle, ein Neuron, für uns unter dem Mikroskop aussieht. Und dann können wir viele verschiedene Dinge betrachten. Zum Beispiel sehen wir uns die Größe des Zellkörpers an, der im Wesentlichen das Zentrum der Zelle ist und den ich hier im Bild oben in orange dargestellt habe. Aber wir sehen uns auch die Anzahl der Erweiterungen an, die diese Neuronen machen. Wir

nennen sie Neuriten. Und diese Ausdehnungen sind im Wesentlichen die Art und Weise, wie diese Nervenzelle sich nach anderen Nervenzellen ausstreckt, um Kontakt aufzunehmen und zu kommunizieren, was natürlich für ihr Funktionieren unerlässlich ist. Wir zählen sie also, aber wir können uns auch die Gesamtlänge ansehen, wie Sie sich vorstellen können, dass, wenn die Länge sehr unterschiedlich ist, dies einen Einfluss auf die Kommunikation mit anderen Zellen haben könnte. Wenn wir nun in eine dieser Neuriten hineinzoomen, sehen Sie diese kleinen grünen Punkte; das sind Synapsen. Das sind also die eigentlichen Kontaktpunkte, an denen die eine Zelle mit der nächsten kommuniziert. Und dies ist die Seite, von der wir wissen, dass STXBP1 sehr wichtig ist. Hier zeige ich Ihnen also einen Überblick über das, was wir bisher wissen. Wir haben hier auf dieser Folie unten ein Beispiel, ein Bild von Zellen, von drei verschiedenen Kontrollpersonen in der oberen Reihe.



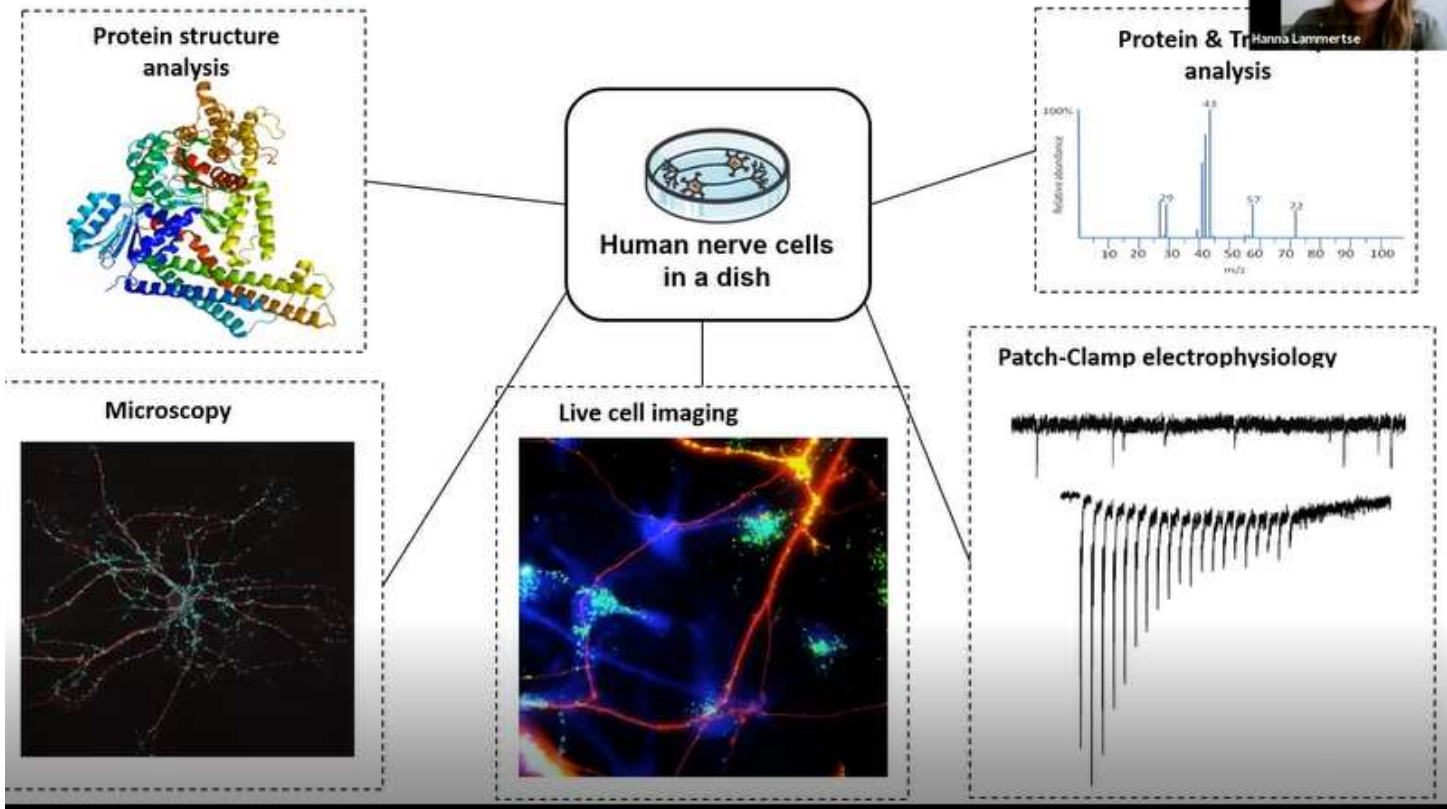
## Induced nerve cells from 6 different STXBP1 patients and individuals



Und in der unteren Reihe sehen Sie ein Beispiel von Nervenzellen von sechs verschiedenen STXBP1-Patienten. Und Sie werden wahrscheinlich erkennen können, dass jede dieser Zellen herauswächst.

Es sieht also wie ein schönes, reifes Neuron aus, das in der Lage ist, die Synapsen zu bilden, die wir auch auf dem vorherigen Bild gesehen haben. Jetzt, da wir also wissen, dass wir diese schönen, reif aussehenden menschlichen Nervenzellen bilden können, untersuchen wir sie auch mehr auf der funktionellen Ebene.

# Studying STXBP1 mutations in human nerve cells



Es gibt zwei Möglichkeiten, wie wir das tun. Erstens, wenn wir uns ansehen, wie Nervenzellen kommunizieren, konzentrieren wir uns wieder auf diese Synapsen. Und schematisch sieht eine Synapse so aus, dass wir einen Teil von der sendenden, der präsynaptischen Zelle haben, dann die Seite, auf der Informationen übertragen werden, und dann einen Teil der postsynaptischen Zelle, der empfangenden Zelle.

## How do nerve cells communicate - and how do we study that?



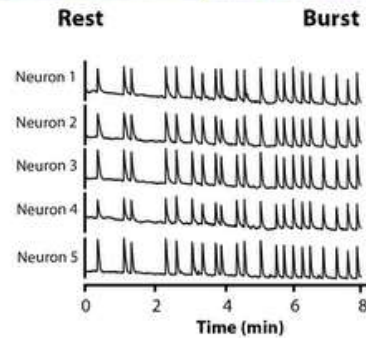
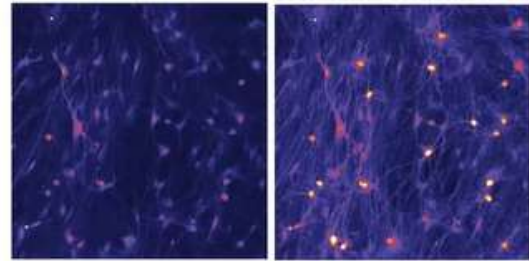
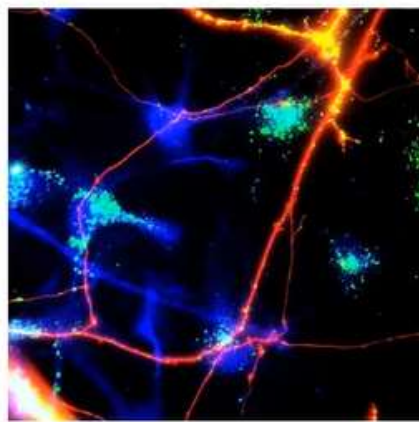
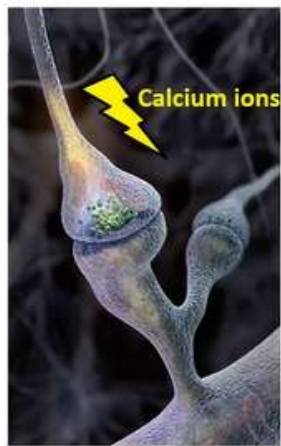
**Control**

**Patient**

Nervenzellen speichern und übertragen ihre Informationen mit Hilfe von Elektrizität. Und das ist etwas, das wir im Labor verwenden können. Wenn es sich also schematisch um eine Nervenzelle in unserer Schale handelt, haben wir die Nervenzelle mit ihrem Zellkörper und den Neuriten, und diese roten Punkte im Bild oben stellen Synapsen dar. Mit einer sehr kleinen Glaspipette können wir eine sehr enge Verbindung mit der Oberfläche der Zelle herstellen. Und wenn wir diese Verbindung haben, können wir genau messen, welche elektrischen Ströme in dieser Zelle fließen. Also ändert sich sogar der elektrische Strom. Das bedeutet, dass die Zelle tatsächlich ein Signal empfängt. Ich habe hier also

einige Beispiele angeführt, um Ihnen zu zeigen, wie das im Labor aussieht. Hier sehen Sie also diese kleinen nach unten gerichteten Spitzen. Diese Spitzen bedeuten, dass die Zelle tatsächlich ein Signal empfängt. In diesem Fall, im obersten Fall, sehen wir uns an, was das Neuron tut, wenn wir das System nicht stören, aber wir können die Zelle auch stimulieren und dann sozusagen kontrollieren, wie wir stimulieren, und sehen, wie das Neuron darauf reagiert. Und ein Beispiel dafür ist hier unten zu sehen, wo man sehen kann, dass wir sehr schnell und wiederholt stimulieren und das Neuron immer wieder darauf reagiert. Daran arbeiten wir derzeit, und wir wollen unsere Kontrollneuronen mit den Neuronen der Patienten vergleichen. Es gibt noch eine zweite Möglichkeit, wie wir die Kommunikation betrachten können.

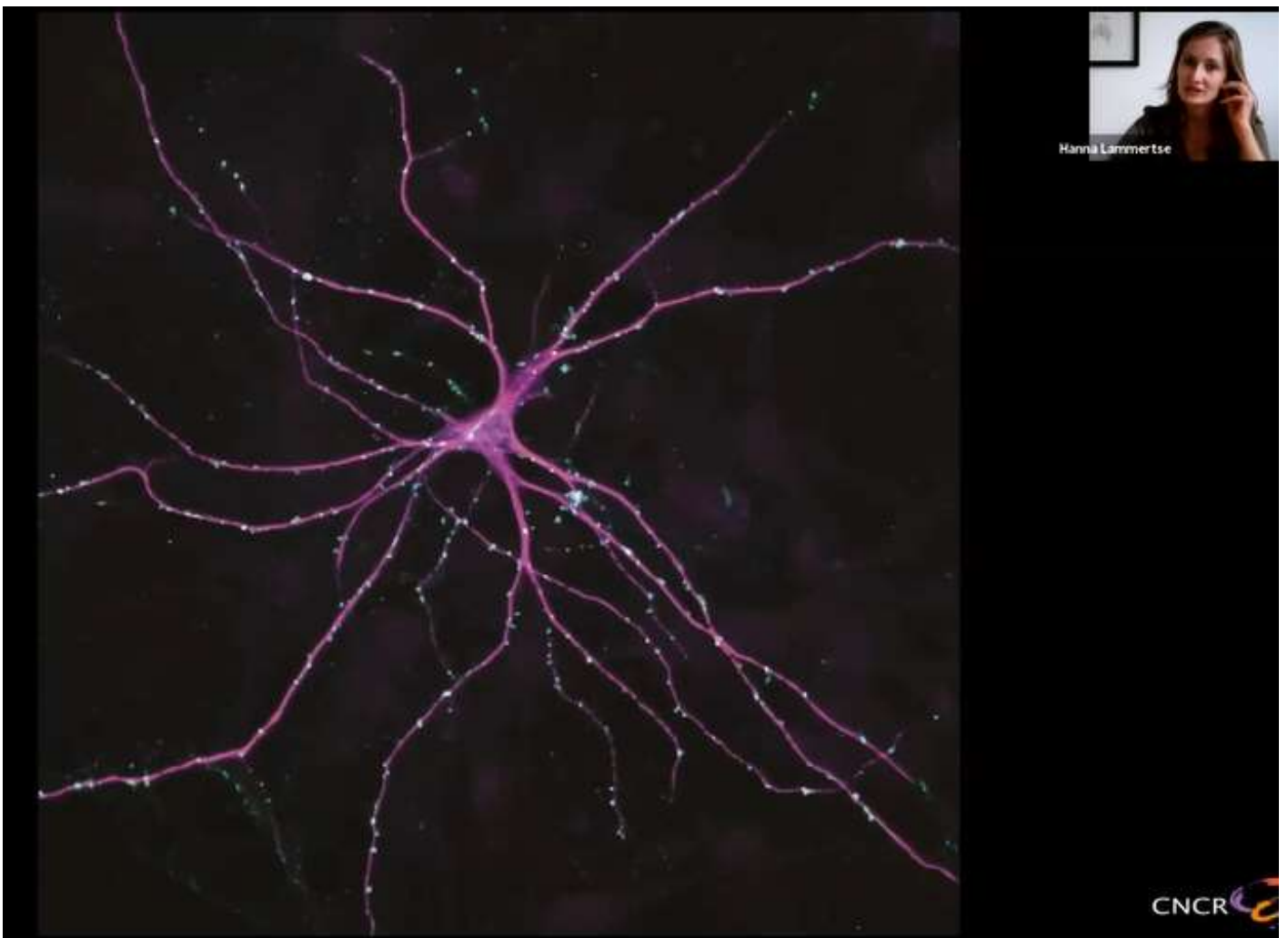
## How do nerve cells communicate - and how do we see that?



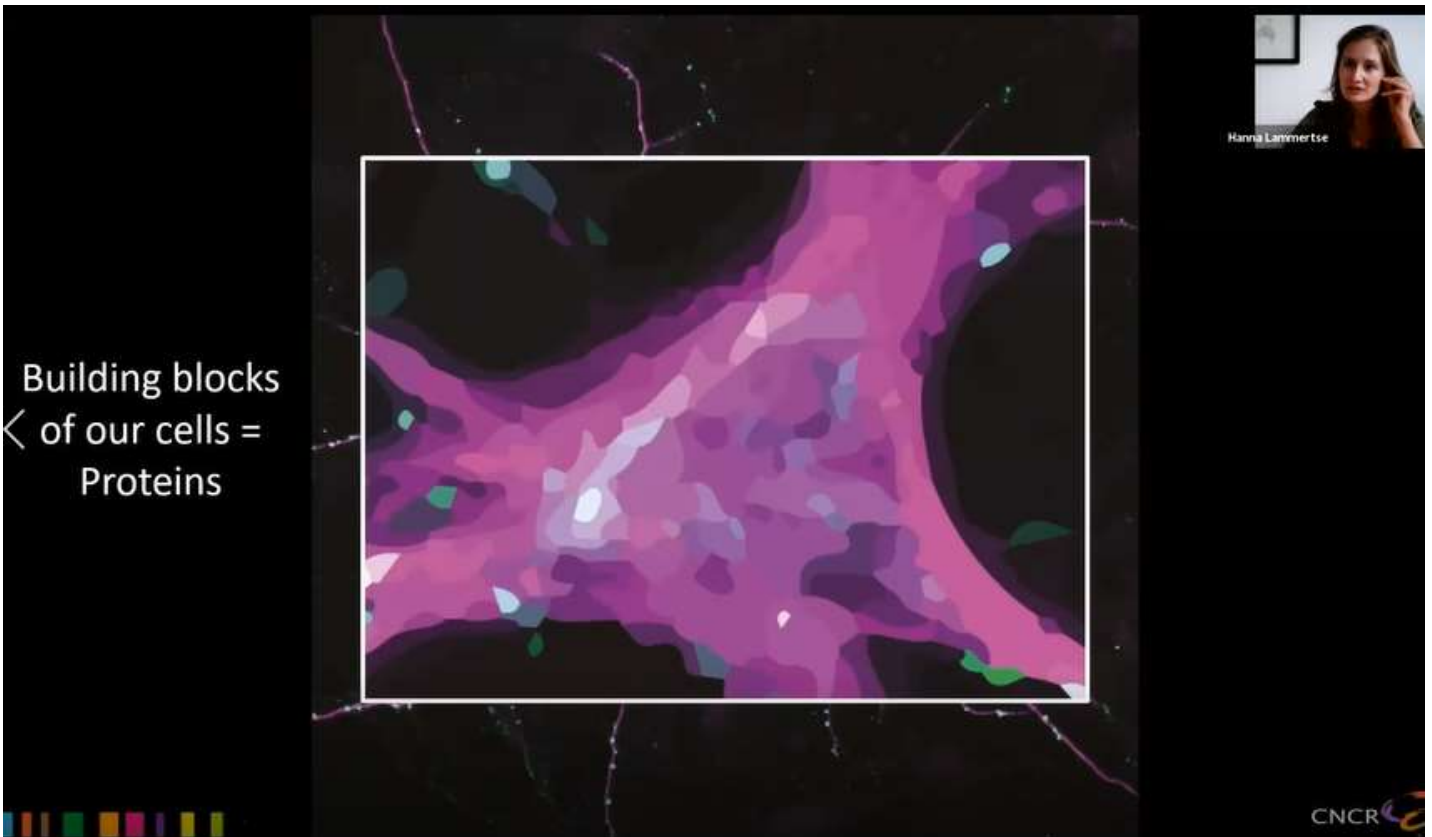
Ich erwähnte, dass diese Neuronen elektrische Ströme verwenden, und zum Teil werden diese elektrischen Ströme durch Kalzium Ionen übertragen. Und Kalzium-Ionen ist etwas, das wir mit einem ganz speziellen Farbstoff unter dem Mikroskop sichtbar machen können. Hier ist also ein Video davon (siehe Video), wie das hier aussieht. Sie sehen diese Zellen, und Sie sehen, dass es in diesen Zellen Veränderungen in der Fluoreszenz gibt, was im Wesentlichen bedeutet, dass in diesem Moment mehr oder weniger Kalzium vorhanden ist, je nachdem, wie die Veränderung verläuft, was bedeutet, dass diese Neuronen tatsächlich aktiv miteinander kommunizieren. Im Labor können wir diese Art von Videos aufnehmen und dann können wir viele verschiedene Zellen, die in einem Netzwerk zusammengeschlossen sind, analysieren und betrachten und sehen, wie sie miteinander kommunizieren. Im nächsten Teil wird Ihnen meine Kollegin Annemiek etwas über die Proteinstrukturanalyse erzählen.

### Annemiek:

Hallo zusammen, danke Hanna. Deshalb möchte ich auch etwas von der Arbeit mit diesen menschlichen Nervenzellen, die wir in einer Schale haben, mit Ihnen teilen. Denn eine unserer Techniken, die wir haben, ist sehr gut darin, einen guten Überblick darüber zu geben, was in Zellen von Patienten tatsächlich anders ist als bei gesunden Menschen. Dieses Bild unten ist also wieder ein Bild von einer dieser Nervenzellen, das Hanna zuvor gezeigt hat.



Eigentlich ist diese Nervenzelle aus allen kleinen Bausteinen aufgebaut, und diese Bausteine werden Proteine genannt. Und hier zeichne ich es irgendwie schematisch, um Ihnen zu zeigen, dass diese Bausteine zusammen sehr wichtige Teile davon sind, wie sich die Zelle verhält und wie sie funktioniert.



**Eine Gehirn- oder Nervenzelle hat also über 50.000 einzigartige Proteine.** Sie können also ermesen, wie komplex all diese Proteine zusammenwirken, um mit allen Proteinen zu kommunizieren und ihre Arbeit zu erledigen.



Hanna Lammertse

Building blocks of our cells = Proteins



1 brain cell has 15.000 unique proteins

CNCR

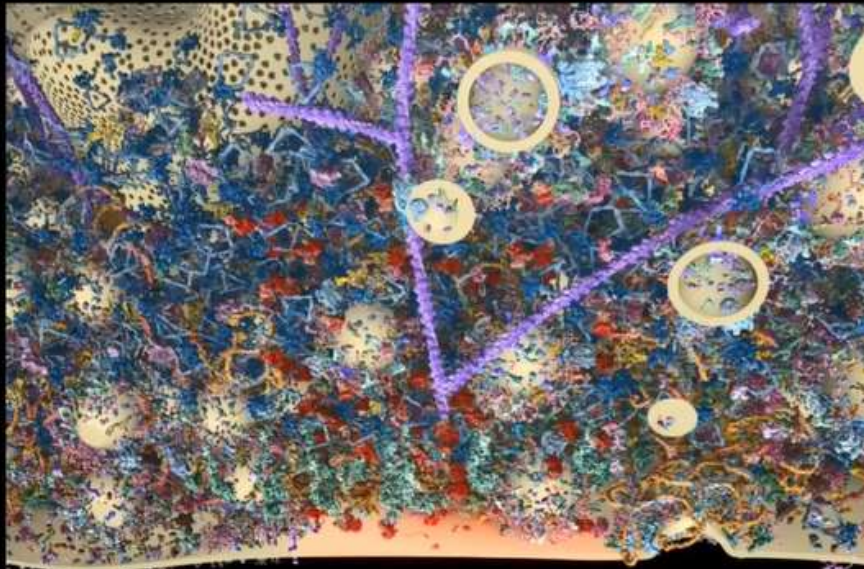
Um ein besseres Gefühl für diese Komplexität zu vermitteln, hat vor einigen Jahren eine schöne Forschungsgruppe ein Video über die Komplexität der Synapsen gedreht. Wir haben also schon einmal von Synapsen gehört, das ist der Kommunikationspunkt zwischen Neuronen, und sie machten einen wirklich guten Überblick darüber, wie komplex eine Synapse bereits ist.



Hanna Lammertse

The camera moves above the active zone. Cytosolic proteins are shown only if they are within -100 nm from the plasma membrane.

All proteins in a synapse



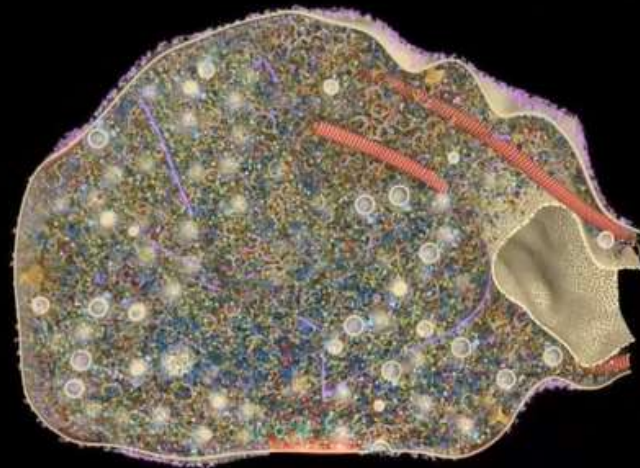
STXBP1 is light-purple



The camera zooms out and shows again the synapse view containing all proteins.

Hanna Lammertse

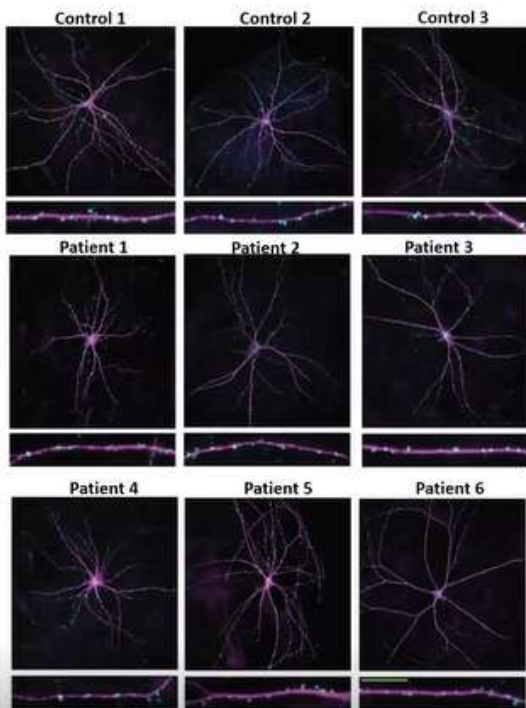
All proteins in a synapse



STXBP1 is light-purple

Alle Proteine in diesem Video oben (siehe Video) mit den verschiedenen Farben sind alle verschiedene Proteine. Und ich denke, Sie können ermessen, wie komplex dies ist. Jetzt haben wir eine sehr fortschrittliche Maschinerie. Wir können also tatsächlich alle Proteine, die wir gemacht haben und die sich in den Zellen befinden, kartieren und schauen, was zwischen gesunden Nervenzellen und Nervenzellen von Patienten unterschiedlich ist.

Hanna Lammertse



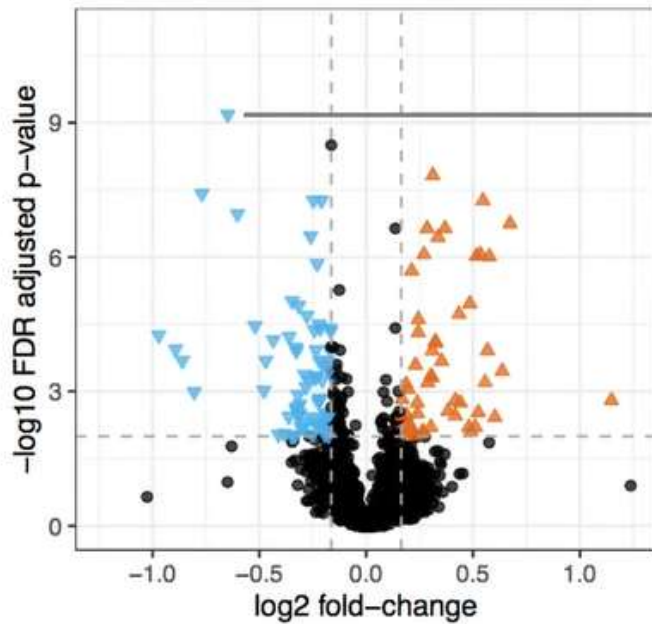
Mass spectrometer machine



Und wir tun dies mit einem Massenspektromete. Das eine sehr große Maschine, wie Sie auf dem Bild oben sehen können. Wir setzen einfach diese Gehirnzellen in eine Maschine und erhalten dann eine Menge Daten von allen Proteinen in diesen Zellen. Wir haben also eine Menge Daten aus diesem Massenspektrometer erhalten. Und ich möchte dieses spezielle Diagramm, das zeigt, welche Proteine bei Patienten mit einer STXBP1-Mutation im Vergleich zu gesunden Personen tatsächlich anders sind.



### Proteins different in STXBP1 patients



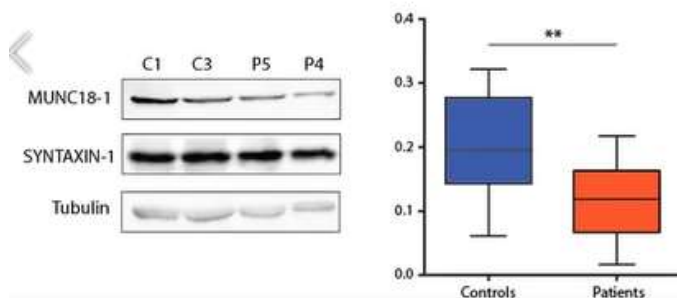
**STXBP1** 

Und hier können Sie im Bild oben alle kleinen Punkte sehen, und jeder Punkt ist eines dieser 50.000 einzigartigen Proteine. Hier auf der linken Seite im Bild oben sehen Sie Proteine, die bei Patienten weniger vorhanden sind, und hier in Orange sehen Sie Proteine, die bei Patienten höher sind. Und insgesamt haben wir festgestellt, dass bei Patienten, die STXBP1-Mutationen haben, 128 Proteine tatsächlich unterschiedlich sind. Ich möchte also nur einige dieser Proteine und Proteingruppen hervorheben, die wir gefunden haben und die uns wirklich helfen, besser zu verstehen, was in den Gehirnen von Patienten mit einer STXBP1-Mutation tatsächlich anders ist. Und tatsächlich stellen wir jetzt zum ersten Mal in Gehirnzellen von Patienten fest, dass die Expression des STXBP1-Proteins bei diesen Patienten tatsächlich geringer ist, wie Sie hier sehen können. Deshalb wird es hier destilliert. Damit ist das STXBP1-Protein gemeint. Nun, dies wird schon seit vielen Jahren von allen möglichen Forschungsgruppen vorgeschlagen, unter Verwendung von Mausmodellen und anderen Modellen, aber es ist tatsächlich das erste Mal, dass wir dies tatsächlich in Gehirnzellen von Patienten zeigen können.

### Brain cells from patients have less STXBP1



#### Confirmed with another technique:



→ First time shown in patient-derived brain cells

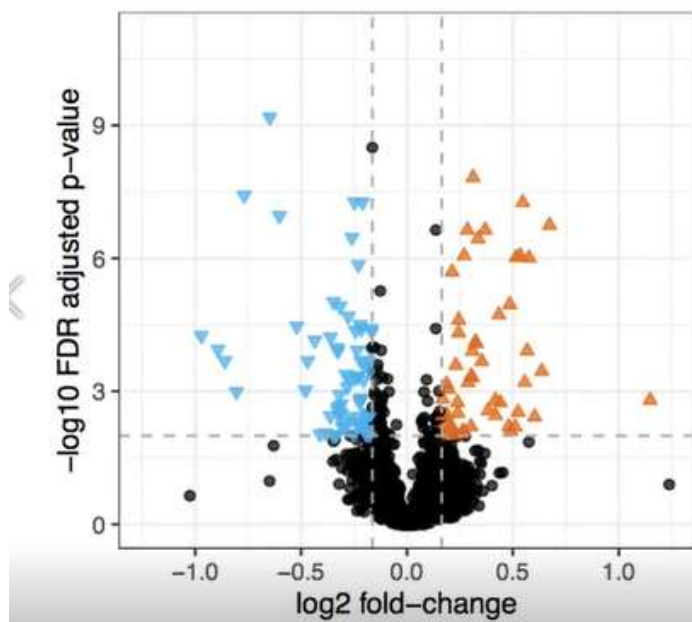
→ Confirms earlier research on haploinsufficiency as underlying disease mechanism

Wir haben dies nun auch mit einer anderen Technik bestätigt, bei der wir sehen, dass diese Patienten tatsächlich weniger STXBP1 haben. Wie ich bereits sagte, ist es also das erste Mal, dass wir dies an diesen von Patienten abgeleiteten STEM-Zellen, also Gehirnzellen, zeigen konnten. Und es bestätigt die frühere Forschung, dass diese

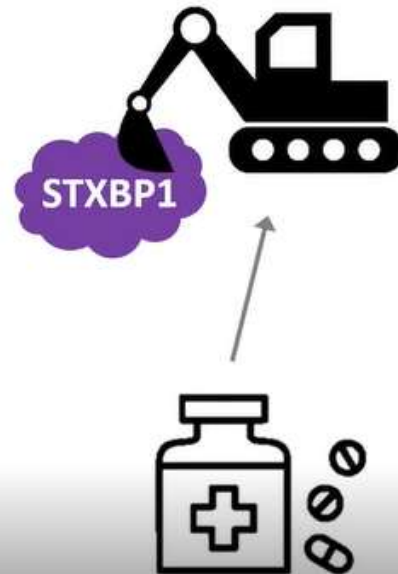
niedrigeren Werte tatsächlich der Krankheit zugrunde liegen. Wir haben also viel mehr Proteine, die anders sind. Ich möchte noch eine Sache hervorheben:



### Proteins different in STXBP1 patients



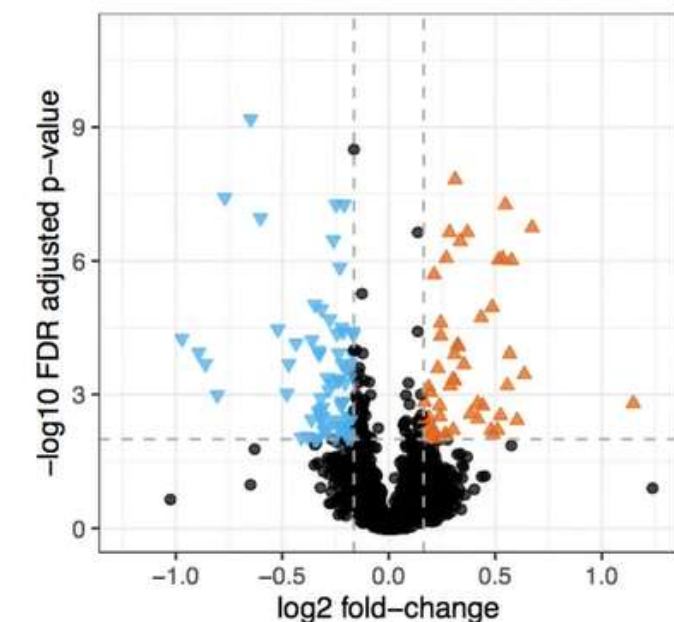
### Proteins clearing STXBP1



Wir finden auch Proteingruppen, die mit der Aufklärung dieses STXBP1 assoziiert sind und zu diesen niedrigeren Werten führen. Und das ist sehr wichtig für uns, um besser zu verstehen, was tatsächlich vor sich geht, und um auch neue Angriffspunkte für Behandlungsmöglichkeiten, Ansätze zur Behandlung der Patienten zu finden.



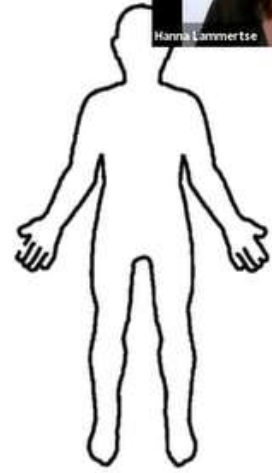
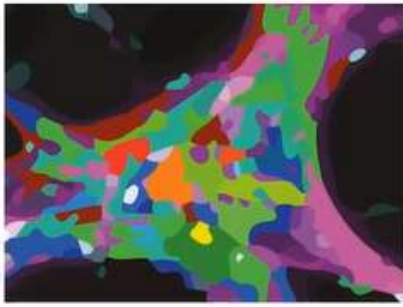
### Proteins different in STXBP1 patients



### Proteins working together in the synapse



Und schließlich ist für uns auf einer mechanistischen Ebene sehr interessant, dass wir auch viele andere Proteine in der Synapse finden, die bei diesen Patienten anders sind. Und das ist für uns sehr wichtig, um zu verstehen, was tatsächlich in der Synapse von STXBP1-Patienten vor sich geht.



Ich habe Ihnen also gezeigt, dass die Gehirnzellen aus allen kleinen Bausteinen, diesen Proteinen, zusammengesetzt sind, und dass wir diese bei Patienten im Vergleich zu gesunden Individuen tatsächlich abbilden können. Und das hilft uns wirklich, zurück auf die Hirnebene zu gehen und besser zu verstehen, was im Gehirn von Patienten mit einer STXBP1-Mutation vor sich geht, um den Phänotyp des Patienten besser zu verstehen. Und wie ich schon bei den Techniken sagte, die Hanna und ich jetzt zeigen, sind sie wirklich wichtig, um neue therapeutische Optionen zu finden, aber auch, um den Mechanismus dieser Krankheit besser zu verstehen. Und als letzten Punkt möchte ich noch eine Studie hervorheben, die wir im letzten Jahr ebenfalls begonnen haben. Wir zoomen uns gerade wirklich auf ein Proteinniveau von MUNC-18 oder STXBP1 heran. Denn jetzt stellen wir fest, dass auch mit diesen neuen Daten, mit diesem Massenspektrometer, dass es sich bei diesem reduzierten STXBP1 wirklich um die zugrunde liegende Krankheit handelt. Und wir versuchen wirklich zu verstehen, wie das bei diesen Patienten tatsächlich vor sich geht. Und zu diesem Zweck beginnen wir jetzt auch neue Kooperationen mit anderen Gruppen, und wir sind sehr froh, dass auch diese Gruppen uns helfen, diese Patienten besser zu verstehen.



## Zooming in on STXBP1 protein structure



Thomas Sollner



Timon Andre



Christian Freund

Freie Universität



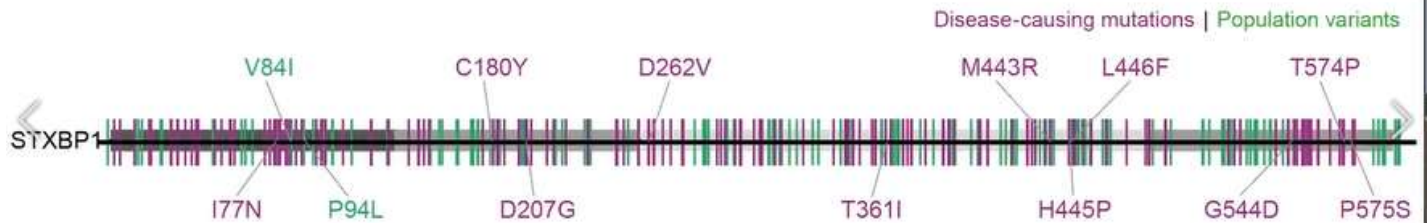
Berlin

Das ist also oben im Bild die Gruppe von Thomas Sollner und Christian Freund, beide in Deutschland, das sind beides Gruppen von Strukturbiologen, die STXBP1 auf der Strukturebene wirklich verstehen. Und in diesem Projekt wirklich zu versuchen zu

verstehen, warum einige Mutationen im STXBP1 diese schwere Krankheit verursachen, aber auch andere Mutationen, die bei gesunden Menschen gefunden werden, keine Krankheit verursachen.

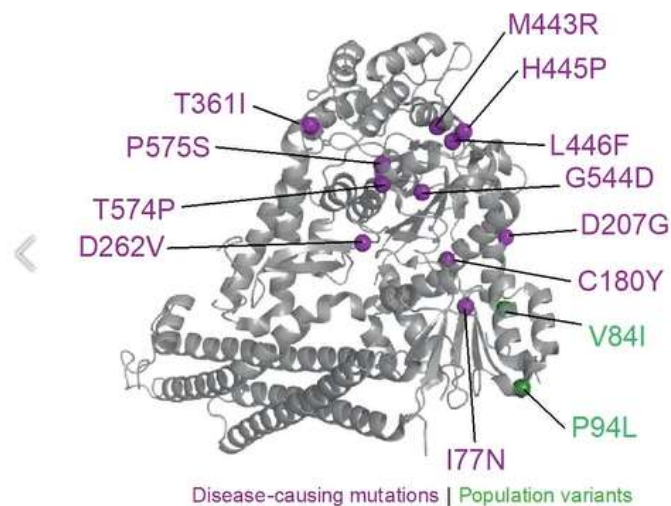


## What is the difference between disease mutations and population mutations?



Und diese nennt man Populationsmutationen, und wir wissen, dass sie auftreten und dass sie keine Krankheit verursachen, aber wir verstehen eigentlich nicht wirklich, warum, was der Unterschied zwischen diesen beiden Arten von Mutationen ist.

Was wir also in dieser Studie tun, ist, dass wir eine Liste von Mutationsstellen gesammelt haben, oder hier sehen Sie oben im Bild das STXBP1-Gen, und jeder Streifen ist eine Mutationsstelle, wie man sie bei Patienten oder gesunden Personen findet, hier in grün. Und hier unten im Bild sind es dieselben Mutationsstellen, die jetzt in der Struktur des STXBP1 in grau dargestellt sind, und diese Strukturbiologen helfen uns wirklich dabei, besser zu verstehen, was diese Veränderung, diese Mutation auf der Ebene der Proteine bewirkt.



Protein stability



Vesicle fusion



Aggregation



Was tun wir also? Wir wollen uns die Stabilität der Proteine näher ansehen. Was ist also der Unterschied zwischen der violetten und der grünen Mutation oben im Bild? Wir wollen die Funktion des STXBP1, welches eine Vesikelfusion in der Synapse ist, wirklich näher betrachten und besser verstehen, was diese Mutationen tatsächlich bewirken. Und außerdem konzentrieren wir uns jetzt auch sehr stark darauf, ob diese Mutationen eine Aggregation zeigen. Vielleicht ist Ihnen bekannt, dass es jetzt auch einige Berichte gibt, die zeigen, dass es bei einigen Mutationen Aggregationsphänotypen geben könnte, und das ist für uns sehr wichtig, um besser über therapeutische Optionen nachdenken zu können. Und jetzt konzentrieren wir uns wirklich auch darauf, ob wir das auch sehen können. Und ob das auch ein Teil der Mechanismen dieser Krankheit ist. Und diese drei Punkte korrelieren wir jetzt auch mit Computer-Vorhersagen, die von maschinellen Lernwerkzeugen

gemacht werden, die vorhersagen, wie schlimm eine bestimmte Mutation ist, und dass uns das wirklich helfen wird, die Krankheit besser zu verstehen.

**Protein stability**

**Vesicle fusion**

**Aggregation**

**Computer predictions**

Mit diesem Projekt versuchen wir also wirklich, den Unterschied zwischen Krankheitsmutationen und Populationsmutationen bei gesunden Menschen zu verstehen. Und wie ich schon sagte, hilft uns das wirklich, diese Krankheit besser zu verstehen, aber auch, neue Gründe für die Behandlung zu finden. Und besonders dieser Teil mit diesen Computer-Vorhersagen ist wirklich wichtig, um auch zukünftige Diagnosen von neuen Mutationen zu unterstützen und Patienten zu verstehen, also was die Ursache der Krankheit ist.

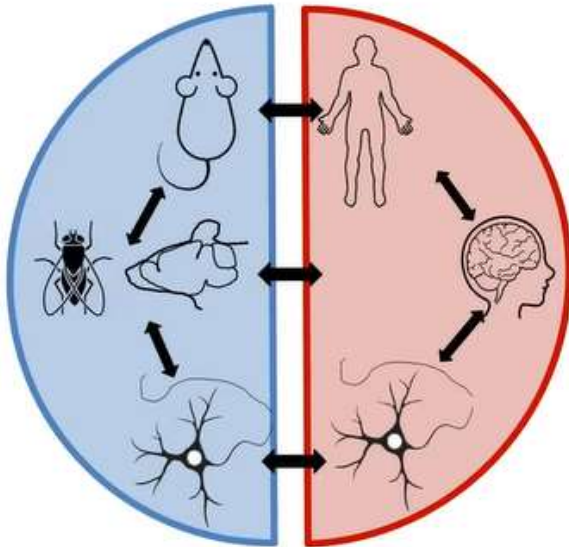
**What is the difference between disease mutations and population mutations?**

- Better understand the disease
- Rationales for new treatments
- Improve future diagnosis

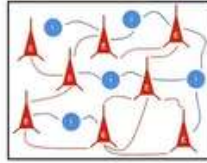
**Computer predictions**

Für das letzte Dia möchte ich also Matthijs das Wort geben und Ihnen für Ihre Aufmerksamkeit danken.

# Understanding STXBP1: from mice to men



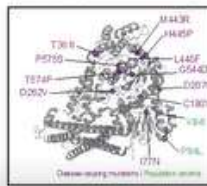
- Natural history study



- Brain activity analysis (EEG)



- Cellular analysis on brain cells



- STXBP1 structure analysis



## Verhage:

Vielen Dank, Annemiek und auch Hanna und Simon. Heute haben wir Ihnen also einen Vorgeschmack auf die vielen Dinge gegeben, die in Amsterdam geschehen und die wir versuchen, mit anderen Partnern in Europa zu organisieren. Wir sprachen über das Studie der Naturgeschichte, sprachen über die neue EEG-Analyse. Wir sprachen über die Zellanalyse und über die Strukturanalyse der STXBP1-Mutationen. Und zusammen denke ich, dass diese Studien uns helfen werden, einen besseren Einblick in die biologische Funktion dieses Proteins zu bekommen, darüber, wie Mutationen diese Funktion beeinflussen und wie dies zu Krankheiten führen wird. Ich denke, wir sollten hier aufhören. Und ich möchte das Wort an Charlene zurückgeben, damit sie unsere Diskussion moderiert. Aber erst, wenn ich Ihnen alle Personen in Amsterdam vorstelle, die an dieser Studie beteiligt waren. Sie haben die ersten beiden gesehen. Unser Team besteht auch aus anderen Personen.



## STXBP1 team

Hanna Lammertse  
Annemiek van Berkel  
Jovana Kovačević  
Mala Misra-Isrie  
Jessica Bos  
Miriam Ottl

Matthijs Verhage  
Ruud Toonen  
Marieke Meijer  
Mieke van Haelst

Marc Engelen - Neurology  
Melanie van Oort - 3D Photography  
Nathalie Bogaards - Dermatology  
Simon Houtman - EEG

International collaborators



STXBP1 Research team Amsterdam - October 13th, 2018

Do you have any questions about our research?

Contact us at [stxbp1@amsterdamumc.nl](mailto:stxbp1@amsterdamumc.nl) or visit our website [www.stxbp1.cncr.nl](http://www.stxbp1.cncr.nl)



Das Tolle ist, dass wir Kliniker haben, wir haben Genetiker, klinische Genetiker. Wir haben Leute aus der Abteilung für Neurologie, der Abteilung für Dermatologie und der Abteilung für Psychiatrie, und sie alle arbeiten zusammen, um ein besseres Bild dieses Syndroms zu bekommen. Damit möchte ich schließen und das Wort an Charlene zurückgeben.

**Charlene:**

Nun, ich danke Ihnen allen. Wir haben viele Fragen, die eingegangen sind, und wir danken unseren Diskussionsteilnehmern, die einige davon bereits im Frage- und Antwortmodul, dem Frage- und Antwortfenster, beantwortet haben. Ich wollte mit ein paar Fragen zur Naturgeschichte beginnen. Deshalb kombiniere ich hier zunächst ein paar Fragen zur Teilnahme und dann zu den EEG-Daten.

**Die erste Frage lautet also: Wie kann unsere Familie teilnehmen? Müssen wir persönlich hingehen? Und wenn wir nicht in den Niederlanden sind, gehen wir über eine Partnerklinik oder direkt zur FE?**

**Verhage:**

Ich muss also noch einmal betonen, dass wir uns noch im Aufbau befinden. Es gibt also keine festen Regeln und Vorschriften für diese Studie. Und ich befürchte, das hängt auch sehr stark von der Finanzierung ab, denn in einer idealen Welt würden wir einzelne Familien aus den teilnehmenden Ländern erreichen. Wenn wir also Kliniker einbeziehen, die in diesen Ländern ansässig sind, und die entweder diese Menschen einladen würden, in eine örtliche Klinik zu kommen und dann in einem dieser örtlichen Krankenhäuser eine Probe von allem zu nehmen. Vielleicht würden wir sogar, wenn die Finanzierung ausreicht, gerne Familien in ihren Privatwohnungen besuchen. Aber das würde natürlich viel mehr Aufwand von unserer Seite erfordern, wenn Menschen mit mobilen Geräten unterwegs sind. Ich glaube, dass wir viele dieser Geräte mobil machen können, aber das ist etwas, was mit der derzeitigen Finanzierungssituation im Moment noch unerreichbar ist.

**Charlene:**

Danke. Und dann ist die nächste Frage, glaube ich, für Simon. Und wieder kombiniere ich ein paar Fragen.

**Können wir für Ihre Art der EEG-Analyse die vorhandenen EEG-Daten meines Kindes verwenden, oder gibt es ein spezielles EEG-Protokoll für die inhibitorische exzitatorische Analyse?**

**Simon:**

Das ist eine gute Frage. Ja, theoretisch kann man alle EEG-Aufstellungen zur Berechnung der E-I-Bilanz verwenden. In unserer Studie verwenden wir jetzt drei verschiedene EEG-Anordnungen, und wir sehen, dass es möglich ist, das E-I-Maß für diese verschiedenen Anordnungen zu berechnen. Und was wirklich wichtig ist, ist, dass diese Aufzeichnungen ordnungsgemäß gereinigt werden. EEG-Aufzeichnungen enthalten also viele Artefakte, zum Beispiel Augenbewegungen oder Augenblinzeln oder Muskelbewegungen, und diese müssen zuerst entfernt werden. Ich weiß also nicht, ob das in der Klinik immer so gemacht wird, aber wenn es an einem anderen Ort als an der Universität berechnet würde, müssen diese Artefakte wirklich herausgeschnitten werden. Ja, ich denke schon. Ich glaube, um die Frage zu beantworten, ich glaube, das ist wirklich möglich.

**Verhage:**

Vielleicht Simon, es ist wichtig, das zu betonen. Ich habe einige der Fragen gesehen, die wir nach dem so genannten Ruhezustands-EEG suchen. Wir suchen also nicht nach einem EEG im Anfallsstadium. Wir suchen also nach einem EEG im Ruhezustand, vorzugsweise bei einem Kind, das mit minimaler Bewegung stillsitzt. Aber wir brauchen keine Anfallsaktivität. Tatsächlich verhindert die Anfallsaktivität die Analyse, die Simon Ihnen gerade gezeigt hat.

**Simon:**

Ja, das ist ein sehr guter Punkt. Es muss also die Aufzeichnung völlig anfallsfrei sein. Wenn Sie eine Aufzeichnung haben, bei der im Grunde genommen teilweise ein Anfall vorliegt, dann müssen Sie diese zunächst ausschneiden, und dann können Sie die anfallsfreien Zeiträume analysieren, oder wir können die anfallsfreien Zeiträume analysieren.



**Charlene:**

Also ein paar Fragen zu den Proteingehalten, die Hanna und Annemiek vorgestellt haben.

**Ist der STXBP1-Proteinspiegel auch bei Patienten mit Missense-Mutationen vermindert?**

**Hanna:**

Ja, wir sehen also tatsächlich, dass sowohl bei Missense- als auch bei Nonsense-Mutationen die Werte gesunken sind. Ich muss auch zugeben, dass wir uns noch sehr in einem Prozess des Verstehens befinden, denn ich habe auch einige Fragen dazu gesehen, ob diese Werte mit den Symptomen korrelieren. Und das ist in der Tat einer unserer Hauptinteressenpunkte an diesem Punkt, um besser sehen zu können, ob wir eine Korrelation zwischen den Symptomen sehen können. Aber dazu kann ich an dieser Stelle nichts sagen.

**Charlene:**

Und dann noch eine Frage:

**Welches Protein veränderte sich am meisten bei STXBP1-Patienten?**

**Hanna:**

Ja, das ist also eigentlich STXBP1. Ich denke, das gibt uns einen ziemlich klaren Hinweis darauf, was am stärksten betroffen ist und was tatsächlich die Ursache für die Veränderung all dieser anderen Proteine ist. Und ich denke, das ist ein wichtiger Punkt, der uns an diesem Punkt interessiert, da so viele Proteine bei diesem einen Protein verändert sind, das bei diesen Patienten anders ist.

**Charlene:**

Eine Frage zur Naturgeschichte.

**Welche Maße der Bruttomotorik und Aktivitäten des täglichen Lebens werden für die naturkundliche Untersuchung berücksichtigt?**

**Verhage:**

Ja, ich befürchte, dass wir nicht die richtigen Leute sind, um diese Frage zu beantworten. Wir haben also einen Neurologen, Marc Engelen, der an dieser Studie beteiligt ist, aber das überlassen wir der Gemeinschaft der Kliniker im Allgemeinen. Wir würden also gerne die Meinung von echten Experten einholen, nicht von Grundlagenwissenschaftlern wie uns, sondern von echten Experten, um die optimalen Skalen zu finden. Und ich denke, das Endziel ist klar, wie ich bereits sagte, wir brauchen Skalen, die uns die beste Auflösung und quantitative Messung ermöglichen, wie z.B. Skalen von eins bis 100, die es uns erlauben, selbst geringfügige Auswirkungen von Behandlungen, die wir vielleicht in Zukunft ausprobieren wollen, wirklich zu erkennen. Aber was die Skalen sind, diese Frage sollten wir wirklich an die Leute richten, die die besten Experten sind. Und das sind die Kinderneurologen, die mit diesen Kindern arbeiten, und nicht wir Grundlagenforscher.

**Charlene:**

Ich weiß, dass wir ein wenig überzogen sind, aber ich möchte **noch eine letzte Frage stellen,**

**Könnten Sie CRISPR oder die virale Transduktion oder andere Techniken zur Korrektur von STXBP1 in menschlichen pluripotenten STEM-Zellen oder Neuronen einsetzen, um dann durch Massenspektroskopie zu testen, ob die Proteinverteilung wieder zum Wildtyp zurückkehrt?**

**Annemiek:**

Ja, das ist eigentlich eine wirklich gute Frage. Und es ist etwas, mit dem wir uns im Moment beschäftigen wollen. Im Moment haben wir also Massenspektroskopien an Patientenlinien durchgeführt, die die Mutation tragen, aber es ist definitiv ein sehr interessanter Weg, um zu sehen, was passiert, wenn man die Mutation dann wieder in die Situation zurückverwandelt, die man als Kontrollindividuum sehen wird.

**Charlene:**

Ich danke Ihnen. Ich weiß, dass es noch ein paar Fragen gibt, und ich hoffe, dass wir im Laufe dieses Monats in der Lage sein werden, auf alle Fragen einzugehen. Ich danke Ihnen allen für Ihre Zeit und Aufmerksamkeit. Und vielen Dank an unsere Redner Matthijs, Simon, Annemiek und Hanna. Ich weiß Ihre Zeit und Ihre Präsentation vor der STXBP1-Gemeinschaft wirklich zu schätzen. Wir werden die Aufzeichnung dieser Sitzung in einigen Tagen auf

unserer Website veröffentlichen. Die nächste Sitzung findet am kommenden Donnerstag, dem 17. September, mit Ben Prosser von der University of Pennsylvania und Ganna Balagura von der Universität Genua statt, die einen Teil des Jahres in Matthijs' Labor arbeitet. Und sie werden über ASOs und genetische Therapien referieren. Sie können sich also für dieses Webinar und andere auf unserer Website anmelden: [STXBP1-Störungen.org](http://STXBP1-Störungen.org). Und verpassen Sie auf keinen Fall die Aktivitäten des Awareness Month in diesem Monat, einschließlich unserer vierten jährlichen Veranstaltung Move to Cure. Vielen Dank an alle und ein schönes Wochenende.

**Einige weitere Fragen, die später offline beantwortet wurden:**

**Frage aus dem Publikum:**

Verursacht eine STXBP1-Dysfunktion eine Pathologie in anderen Körpersystemen? Ich habe gelesen, dass sie zum Beispiel an der Exozytose von Insulin aus der Bauchspeicheldrüse beteiligt ist?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Sie haben Recht, dass STXBP1 die Insulinsekretion und viele andere Sekretionsprozesse reguliert, wie z.B. die Adrenalinsekretion aus der Nebenniere. Wir wissen dies aus Nullmutantenstudien, bei denen BEIDE Kopien des STXBP1-Gens inaktiviert werden. Soweit ich weiß, gibt es keine Hinweise darauf, dass Mutationen in EINER Kopie des Gens auch zu einer Pathologie führen. Bei Nervenzellen wissen wir, dass dies der Fall ist (was zum STXBP1-Syndrom führt).

**Frage des Publikums:**

Werden Sie in der Lage sein, Patienten in den USA in Ihre Studien einzubeziehen?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Wir würden das sehr gerne tun. Wir sind im Gespräch mit Ingo Helbig, um dies zu ermöglichen. Bitte denken Sie daran, dass eine solche Studie im globalen Maßstab sehr viel Geld erfordert. Der erste Schritt besteht darin, diese Finanzierung zu erhalten.

**Frage des Publikums:**

Guten Tag, haben Sie mit Kliniken im Vereinigten Königreich zu tun? Wir würden uns gerne beteiligen. Wenn ich mich umhöre, scheint im Vereinigten Königreich nichts zu passieren.

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Wir werden uns bald an die Menschen in Großbritannien wenden. Die auf dem Gebiet der Synapsenfunktionsstörungen bekannteste Person ist Kate Baker: [kate.baker@mrc-cbu.cam.ac.uk](mailto:kate.baker@mrc-cbu.cam.ac.uk)

**Frage des Publikums:**

Benötigen Sie ein spezielles EEG-Protokoll für die Inhibition-Excitation-Analyse oder kann ein klinisches EEG-Routineprotokoll verwendet werden?

**Schriftliche Antwort von Simon Houtman:**

Das Gleichgewicht zwischen Erregung und Hemmung kann für alle klinischen EEG-Routineaufzeichnungen berechnet werden. Wichtig ist, dass die Aufzeichnungen vorverarbeitet und gereinigt werden müssen, um Artefakte (z.B. Augenblinzeln oder Muskelbewegungen) zu entfernen, bevor die Messung genau angewendet werden kann. Ein weiterer Hinweis ist, dass wir das Maß für anfallsfreie Perioden des EEGs berechnen.

**Frage des Publikums:**

Glauben Sie, dass MSG (Mononatriumglutamat) das Gehirn erregt? Meine Tochter hat Anfälle, wenn sie jemals einen Anfall hat, egal ob es sich dabei um einen fabrikationsbedingten oder natürlichen Anfall handelt. Scheint das ein zu großer Zufall zu sein?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Dies übersteigt unser Fachwissen. Wir wissen, dass Glutamat im Gehirn Nervenzellen erregt, aber wir wissen nicht, wie Glutamat in der Nahrung den Glutamatspiegel im Gehirn und die Erregung von Nervenzellen beeinflusst. Bitte fragen Sie Ihren Kliniker.

**Frage des Publikums:**

Es gibt zwei Hauptisoformen von STXBP1 im ZNS. Wissen Sie, welche Isoform die Pathologie des STXBP1 antreibt?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Sehr gute Frage! Alle Experimente, die wir bisher durchgeführt haben, deuten darauf hin, dass sich die beiden Isoformen gegenseitig kompensieren und beide die gleichen synaptischen Funktionen unterstützen. Praktisch alle Mutationen treten in Teilen des Gens auf, die in beiden Isoformen vorhanden sind. Daher haben wir bisher keine Hinweise darauf, dass die eine wichtiger ist als die andere. Es könnte jedoch Unterschiede zwischen Mäusen (die wir bisher untersucht haben) und menschlichen Nervenzellen geben. Außerdem kann es mehr als 2 Isoformen geben. Wir arbeiten daran!

**Frage des Publikums:**

Müssen alle STXBP1-Patienten / STXBP1-Mutationen mit Zellen untersucht werden?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Nein. Die Arbeit mit menschlichen Neuronen ist immer noch sehr arbeitsintensiv. Wir haben jetzt genug Zeilen, um zu robusten Schlussfolgerungen zu gelangen. Für die Zukunft gehe ich davon aus, dass wir Proben von allen Patienten anfordern werden, um personalisierte Behandlungsstrategien zu verbessern.

**Frage des Publikums:**

Gibt es eine Möglichkeit, die US-Patienten in Ihre Forschung einzubeziehen? Wir führen Hautbiopsien durch und beteiligen uns an der Forschung bei CHOP. Wir haben auch Blutproben an Simons gespendet. Es scheint, dass wir unsere Anstrengungen bündeln sollten. Ich danke Ihnen allen für Ihre harte Arbeit.

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Danke. Ja, wir sind sehr an einer Zusammenarbeit mit Partnern in den USA interessiert. Wir haben gute Interaktionen mit CHOP (Ingo Helbig). Sobald wir die Studie in der EU haben, werden wir die Hand ausstrecken und versuchen, eine Verbindung herzustellen.

**Frage des Publikums:**

Haben Sie Patienten mit einer partiellen STXBP1-Teilduplikation untersucht?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Nein, wir haben keine Erfahrung damit. Meine Vorhersage wäre, dass eine partielle Duplikation kein funktionelles Protein produzieren wird. Wenn Sie wollen, können wir eine detailliertere Einschätzung abgeben, wenn Sie uns die genauen genetischen Informationen zukommen lassen.

**Frage des Publikums:**

Wie kann sich ein Patient am effektivsten an Ihren Projekten beteiligen? Direkt bei Ihnen oder über eine Partnerklinik in einem anderen Land?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Ich würde sagen: Bleiben Sie zunächst über die Stiftung und über eine Partnerklinik mit uns in Kontakt, sobald wir eine Studie im globalen Maßstab durchgeführt haben.

**Frage des Publikums:**

Haben Sie in Ihren Studien Erfolg mit irgendwelchen Medikamenten?

**Schriftliche Antwort von Matthijs Verhage:**

Wir haben Erfolg bei der Unterdrückung des abnormalen EEG in Tiermodellen mit vorhandenen Medikamenten wie Levetiracetam. Zwei Pharmakonzerne entwickeln mit unserer Hilfe neue Wirkstoffe, und neue Leitstrukturen kommen hoffentlich aus der Forschung, die wir in Fliegen machen. Aber noch nichts Konkretes.

**Frage des Publikums:**

Ist es für Forschungszwecke hilfreicher, das EEG eines Patienten seit Beginn der Diagnose zu haben, oder ist das aktuellste EEG das relevanteste?

**Schriftliche Antwort von Simon Houtman:**

Gute Frage, und schwer zu beantworten! Wir wissen noch nicht, wie sich die EEG-Biomarker beim STXBP1-Syndrom im Laufe der Zeit verändern. Daher wären EEG-Aufzeichnungen für mehrere Zeitpunkte sehr wertvoll. Aber EEG-Biomarker können für Aufnahmen zu allen Zeitpunkten berechnet werden.

**Frage des Publikums:**

Welche spezifischen Muster sehen Sie auf dem EEG?

**Schriftliche Antwort von Simon Houtman:**

Ich bin kein klinischer Neurologe oder Neurophysiologe, deshalb kann ich das nicht so gut kommentieren. In der Literatur wird von EEG-Anomalien / Spike-Wellen-Mustern bei vielen

Patienten berichtet, und ich denke, etwa 75-80% aller Patienten haben sich mit Epilepsie vorgestellt.

**Frage des Publikums:**

Für zukünftige EEG's... Gibt es etwas Bestimmtes, auf das wir den Techniker bitten können, sich zu konzentrieren, entweder direkt oder über den Neurologen des Patienten?

**Schriftliche Antwort von Simon Houtman:**

Für die EEG-Aufnahmen in der Klinik muss sich der Techniker nicht auf irgendetwas Bestimmtes konzentrieren. Es müssen also keine Routinen oder Protokolle geändert werden. Wichtig ist, dass die EEG-Aufzeichnungen für die zukünftige Berechnung von Biomarkern beschlagfrei sein müssen und dass die Aufzeichnungen während des "Ruhezustands", also während der Patient keine bestimmte Aufgabe ausführt, durchgeführt werden müssen.

**Frage des Publikums:**

Hallo, vielen Dank für die sehr interessante Präsentation und für all Ihre Arbeit! Ist der Fliegen-Assay ein Hochdurchsatz-Assay? Wie viele Verbindungen können getestet werden?

**Schriftliche Antwort von Matthjis Verhage:**

Die Bibliothek von Verbindungen, die wir mit Hilfe der [Million Dollar Bike Ride grant] Finanzierung kaufen konnten, umfasst 2400 Verbindungen. Ist das ein guter Anfang?