

Aus der Klinik für Neuropädiatrie  
Direktor: Prof. Dr. U. Stephani  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian –Albrechts-Universität zu Kiel

# **Mikrodeletionen 15q13.3, 16p13.11 und 15q11.2 in Epilepsien des Kindes- und Jugendalters**

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der  
Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

**TANJA OBERMEIER**

aus Braunschweig

Kiel (2014)

1. Berichtstatter: Prof. Dr. U. Stephani
  2. Berichtstatter: Prof. Dr. Dr. G. Kuhlenbäumer
- Tag der mündlichen Prüfung: 24.04.2015

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 24.04.2015

gez.:

(Vorsitzender der Prüfungskommission)

**“Die akutesten, kraftvollsten und tödlichsten Erkrankungen und die, die am schwierigsten zu verstehen sind, entfallen auf das Gehirn.“**  
Hippocrates

für meine Eltern

# Inhaltsverzeichnis

1.	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Was sind Epilepsien? .....	1
1.1.1	Epilepsien als häufige Erkrankungen des Zentralen Nervensystems .....	1
1.2	Historischer Überblick .....	1
1.2.1	Überblick über die Geschichte der Epilepsieforschung .....	1
1.2.2	Genetik der Epilepsien – von Hippokrates bis Lennox .....	2
1.3	Neurobiologische Grundlagen epileptischer Anfälle .....	4
1.4	Klassifikation der Epilepsien .....	4
1.4.1	Idiopathisch generalisierte Epilepsien (IGE) .....	5
1.4.1.1	Absence-Epilepsie .....	6
1.4.1.2	Juvenile myklonische Epilepsie (JME) .....	6
1.5	Grundlagen der Genetik .....	6
1.5.1	Molekulargenetik .....	7
1.5.1.1	Copy Number Variations .....	7
1.6	Genetik der Epilepsien – aktueller Stand .....	8
1.6.1	Die besondere Bedeutung von Chromosom 15q in Epilepsien .....	10
2.	<b>Fragestellung</b> .....	<b>12</b>
3.	<b>Methodik</b> .....	<b>13</b>
3.1	Patientenkohorten .....	13
3.1.1	Europäische IGE-Kohorte .....	13
3.1.2	Rolando-Kohorte .....	14
3.1.3	Kieler Neuropädiatrie-Kohorte .....	14
3.1.4	POPGEN-Kontrollkohorte .....	15
3.2	Gewinnung von Blutproben und Plattenherstellung .....	15
3.2.1	Blutabnahme, Einwilligung .....	15
3.2.2	DNS- (Desoxyribonukleinsäure-)Extraktion .....	15
3.2.3	DNS-Qualitätskontrolle .....	16
3.2.4	Herstellung von Platten zur Genotypisierung .....	16
3.3	Molekulargenetische Untersuchungen .....	17
3.3.1	Real-time quantitative PCR .....	17
3.3.1.1	TaqMan®-qPCR .....	17
3.3.1.2	Quantifizierung durch qPCR .....	18
3.3.1.3	Detektion von Mikrodeletionen durch qPCR .....	19
3.3.2	Assay-Design .....	20
3.3.3	Prinzip der $\Delta\Delta C_t$ Methode .....	21
3.3.4	SDS-Software (Sequence Detection System) .....	22
3.3.5	Copy Caller-Software .....	22
3.3.6	Micro-Array-CGH (Comparative Genomic Hybridization) .....	22
3.4	Statistische Auswertung .....	23
4.	<b>Ergebnis</b> .....	<b>24</b>
4.1	Europäische IGE-Kohorte .....	24
4.2	Rolando-Kohorte .....	25
4.3	Kieler Neuropädiatrie-Kohorte .....	25
4.3.1	Ergebnisse aufgeteilt nach Mikrodeletionen .....	26
4.3.1.1	15q13.3 Mikrodeletionen-Ergebnisse .....	26
4.3.1.2	15q11.2-Ergebnis .....	32
4.3.1.3	16p13.11-Ergebnis .....	33
4.4	POPGEN-Kontrollkohorte .....	36
5.	<b>Diskussion</b> .....	<b>37</b>
5.1	Mikrodeletionen 15q13.3, 15q11.2 und 16p13.11 .....	37
5.1.1	Zusammenschau der untersuchten Kohorten .....	37
5.1.2	Gesamtaufstellung .....	38
5.1.3	Vererbte und <i>de novo</i> Deletionen .....	38
5.1.4	Kandidatengene innerhalb der Mikrodeletionen .....	39
5.2	Kritische Aspekte der Arbeit .....	39
5.3	Ausblick .....	40

5.3.1	Stellenwert der untersuchten rekurrenten Mikrodeletionen .....	40
5.3.2	Risikoabschätzung in Deletionsträgern.....	40
5.3.3	Therapiemöglichkeiten .....	40
5.4	Zusammenfassung.....	41
6.	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>42</b>
7.	<b>Anhang .....</b>	<b>49</b>
7.1	PCR-Protokoll .....	49
7.2	Primersequenzen .....	49
7.2.1	CHRNA7 .....	49
7.2.2	NDE1.....	50
7.2.3	CYFIP1.....	50
8.	<b>Publikationen .....</b>	<b>51</b>
9.	<b>Danksagung .....</b>	<b>52</b>
10.	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>53</b>

# **1. Einleitung**

## **1.1 Was sind Epilepsien?**

### **1.1.1 Epilepsien als häufige Erkrankungen des Zentralen Nervensystems**

Epilepsien betreffen bis zu 1% oder 60 Millionen Menschen in Europa (The Lancet Neurology 2010). Hiermit zählen Epilepsien zu den häufigsten Erkrankungen des zentralen Nervensystems und stellen ein großes gesundheitspolitisches Problemfeld dar.

Epilepsien sind charakterisiert durch wiederkehrende epileptische Anfälle und benötigen oft eine antiepileptische Behandlung. Epileptische Anfälle können verschiedene klinische Manifestationen haben, angefangen bei nur subjektiv wahrnehmbaren epileptischen Auren oder kurzen, fast unbemerkten Absencen, bis hin zu prolongierten, lebensgefährlichen generalisiert-tonischen Anfällen.

Obwohl in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte in der Diagnostik und Behandlung von Epilepsien erreicht wurden, leiden Patienten mit Epilepsien noch immer unter Stigmatisierungen und Einschränkungen in vielen Lebensbereichen und der Lebensqualität.

Die Epilepsien stellen sowohl ätiopathogenetisch wie auch klinisch ein äußerst heterogenes Krankheitsbild dar, was eine Herausforderung an Klassifikation und Behandlung darstellt. Die Suche nach genetischen Faktoren für Epilepsien ist mit der Hoffnung verbunden, pathophysiologische Zusammenhänge besser verstehen zu können und hiermit neue diagnostische und therapeutische Möglichkeiten zu eröffnen.

## **1.2 Historischer Überblick**

### **1.2.1 Überblick über die Geschichte der Epilepsieforschung**

Der einschneidende Charakter der Epilepsien hat seit mehreren Jahrtausenden Ärzte und Wissenschaftler veranlasst, zur Entstehung epileptischer Anfälle Theorien und Gedankenmodelle zu entwickeln, welche auszugsweise in diesem Kapitel aufgegriffen werden sollen.

Ein erster Versuch, Epilepsien als organische Krankheit zu verstehen, findet sich bei Hippokrates von Kos (von 460 v. Chr bis 370 v. Chr). Hippokrates legte Wert darauf, dass Epilepsien keinen göttlichen oder übersinnlichen Ursprung haben, sondern als Erkrankungen des Gehirns aufzufassen sind: „Nach meiner Ansicht ist diese Krankheit in gar keiner Beziehung göttlicher und heiliger als die anderen Krankheiten, sondern das Wesen ihrer Entstehung ist dasselbe...Schuld an diesem Leiden ist das Gehirn“ (Grensemann 1968).

Ein nächster wichtiger Schritt war die Unterscheidung der Epilepsien in Entitäten verschiedener Ätiologien, z.B. die Unterscheidung in „idiopathische“ und „sympathische“ Formen der Epilepsien von Simon Auguste André David Tissot (von 1728 bis 1797) in (Tissot 1771). Dieser Grundsatz stellt konzeptionell eine wichtige Unterscheidung dar, welcher sich zu einem gewissen Teil auch heute noch in den Einteilungen zwischen idiopathischen und symptomatischen Epilepsien abbildet und eine wesentliche Grundlage für das Verständnis bildet, dass manche, aber nicht alle Epilepsien eine genetische Grundlage besitzen.

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts konnten durch die von Hans Berger (von 1873 bis 1941) entwickelte Elektroenzephalographie (EEG) erstmals epileptische Anfälle aufgezeichnet werden. Dies schaffte die Voraussetzung, Absencen oder „Petit-Mal-Anfälle“ als epileptische Anfälle zu erkennen und neue Krankheitsbilder als elektro-klinische Entitäten zu definieren. Mit dieser neuen Methodik konnten Krankheitsbilder wie z.B. die kindliche Absence-Epilepsie (CAE) abgegrenzt werden, welches ab der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts das Verständnis von genetisch bedingten Epilepsien maßgeblich prägte.

### 1.2.2 Genetik der Epilepsien – von Hippokrates bis Lennox

Gleichzeitig zur Entwicklung des Krankheitsbegriffes der Epilepsien findet sich ein konstanter Verweis auf das mögliche Vorhandensein genetischer Faktoren für Epilepsien. Parallel zu der Erklärung von Epilepsien als körperliche und nicht seelische Erkrankung vermutete Hippokrates von Kos bereits die Vererbung als mögliche Ursache: „Diese Krankheit...scheint...wie die übrigen Krankheiten eine natürliche Ursache zu haben...ihren Anfang hat sie wie die anderen in der Vererbung...“ (Grensemann 1968).

Während es in den darauffolgenden Jahrhunderten oft zu verschiedenen Verweisen auf erbliche Faktoren für Epilepsien kam, entstanden die ersten systematischen Studien erst zu Beginn des 20. Jahrhunderts, z.B. durch Charles Davenport in "A first study of inheritance of epilepsy" (Davenport et al. 1911). Charles Davenport berichtete über mehrere Großfamilien, in der Epilepsie und/oder mentale Retardierung gehäuft vorkamen (Davenport et al. 1911).

Definierend für das Feld der Epilepsiegenetik waren die Studien von William G. Lennox (von 1884 bis 1960), welcher in den USA der 30er bis 60er Jahre erste systematische Zwillings- und Familienuntersuchungen publizierte.

Die eineiigen Zwillinge Constance und Kathryn, welche beide an einer kindlichen Absence-Epilepsie (CAE) erkrankt waren, bilden bis heute eines der bemerkenswertesten Beispiele für die genetische Grundlage häufiger Epilepsieformen (Vadlamudi et al. 2004).



**Abbildung 1:** Das Foto zeigt die monozygoten Zwillinge Constance und Kathryn. Beide erkrankten im Alter von sechs Jahren an der kindlichen Absence-Epilepsie (childhood absence epilepsy, CAE). W. Lennox sah beide 1949, im Alter von 11 Jahren (Lennox et al. 1951).

Im deutschsprachigen Bereich waren vor allem die Arbeiten von Hermann Doose und Mitarbeitern prägend, welche sich ab den 60er Jahren systematisch mit der Vererbung verschiedener kindlicher EEG-Muster beschäftigten, neue, vermutlich genetische Epilepsiesyndrome, wie die Myoklonisch-Astatische Epilepsie (MAE) abgrenzten und mit dem Konzept der erblichen Hirnentwicklungsstörung (hereditary impairment of brain maturation) die Hypothese einer gemeinsamen biologischen Grundlage verschiedener neuropädiatrischer Krankheitsbilder zu entwickeln versuchten (Doose 1995).



### 1.3 Neurobiologische Grundlagen epileptischer Anfälle

Epileptische Anfälle werden durch eine pathologische Hypersynchronizität neuronaler Ensembles verursacht, was den gemeinsamen neurobiologischen Mechanismus selbst klinisch unterschiedlichster Anfallstypen darstellt. Diese pathologische Hypersynchronizität ist allerdings lediglich eine gemeinsame Endstrecke verschiedenster Ursachen. So kann ein akutes Geschehen wie z.B. eine Hypoglykämie oder Elektrolytentgleisung zu epileptischen Anfällen führen wie auch eine genetische Grunderkrankung.

### 1.4 Klassifikation der Epilepsien

Im Bereich der Epileptologie werden spezifische Anfallsformen von Epilepsiesyndromen unterschieden. Im Allgemeinen wird für die Klassifikation von Anfallstypen und Epilepsiesyndromen die Klassifikation der Internationalen Liga gegen Epilepsie (ILAE) benutzt. Diese Arbeit benutzt die ILAE-Klassifikation von 1989 bzw. 2001 (Panayiotopoulos 2005). Auf Ebene der epileptischen Anfälle ist vor allem die Unterscheidung zwischen fokalen und generalisierten Anfällen wichtig. Die Ursache des fokalen Anfalls liegt in einer Funktionsstörung eines umschriebenen Hirnbezirks. Ein fokaler Anfall kann sich sekundär auf das gesamte Gehirn ausbreiten (sekundäre Generalisierung). Der Verlauf und die Symptome von generalisierten Anfällen zeigen keine Hinweise auf eine anatomisch begrenzte Lokalisation und keine Zeichen eines herdförmigen Beginns. Es werden Absencen, myoklonische, klonische, tonische, tonisch-klonische und atonische Anfälle unterschieden.

Auf Ebene der Syndrome wird weiterhin zwischen fokalen und generalisierten Epilepsien sowie zwischen idiopathischen und symptomatischen Epilepsien unterschieden. Idiopathische Epilepsien sind Epilepsien ohne erkennbare Hirnläsionen oder metabolischen Störungen, sie sind heutzutage Hauptgegenstand der genetischen Forschung. Im Gegensatz dazu erkennt man bei symptomatischen Epilepsien eine auslösende läsionelle oder metabolische Ursache.

Die Einteilung der epileptischen Anfälle und Syndrome wird im Folgenden dargestellt.

	Fokal	Generalisiert
Idiopathisch	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rolando-Epilepsie</li> <li>• Pseudo-Lennox-Syndrom</li> <li>• Landau-Kleffner-Syndrom</li> <li>• Bioelektrischer Status im Schlaf</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CAE (kindliche Absence-Epilepsie)</li> <li>• JAE (juvenile Absence-Epilepsie)</li> <li>• JME (juvenile myklonische Epilepsie)</li> </ul>
Symptomatisch	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Temporallappenepilepsie</li> <li>• Frontallappenepilepsie</li> <li>• Okzipitallappenepilepsie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frühkindliche Enzephalopathie vom Ohtahara-Typ</li> <li>• West-Syndrom</li> <li>• Lennox-Gastaut-Syndrom</li> <li>• Dravet-Syndrom</li> <li>• Myoklonische astatische Epilepsie</li> </ul>

**Abbildung 2:** Dichotomien der Epilepsiesyndrome im Bereich der ILAE Klassifikation (Wolf 2006).

Im Folgenden werden die idiopathisch generalisierten Epilepsien genauer beschrieben, da sie Hauptgegenstand dieser Arbeit sind.

#### 1.4.1 Idiopathisch generalisierte Epilepsien (IGE)

Die idiopathisch generalisierten Epilepsien sind zu 0,3% in der Bevölkerung vertreten und zählen zu 30% aller Epilepsien (Jallon et al. 2001; Jallon et al. 2005). Der klinische Befund dieser Epilepsieformen besteht aus rezidivierenden generalisierten Anfällen ohne sichtbare Hirnläsionen oder metabolischen Störungen (ILAE 1989). Die kindliche und juvenile Absence-Epilepsie (CAE und JAE) und Epilepsien mit generalisierten tonisch-klonischen Anfällen repräsentieren die häufigsten IGE-Syndrome (ILAE 1989).

Die primär generalisierten Anfälle sind durch einen abrupten Beginn gekennzeichnet (ILAE 1989).

Epilepsien mit primär generalisierten Anfällen sind als Prototyp der Epilepsien auf genetischer Grundlage anzusehen, mit einer hohen Konkordanz in eineiigen im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen (Lennox 1951; Berkovic et al. 1998; Vadlamudi et al. 2004), einem deutlich erhöhten Geschwisterrisiko (Ottman et al. 1989) und häufigen generalisierten EEG-Veränderungen bei Verwandten (Doose et al. 2008).

#### 1.4.1.1 **Absence-Epilepsie**

Bei der Absence-Epilepsie werden kindliche (childhood absence epilepsy, CAE) von juvenilen Absence-Epilepsien (juvenile absence epilepsy, JAE) unterschieden.

Die CAE beginnt meist zwischen dem fünften und zehnten Lebensjahr. Es treten täglich, vorwiegend in den Morgenstunden und bei Müdigkeit, zahlreiche Absencen auf (Loiseau et al. 1983; ILAE 1989).

Die JAE hat ihren Altersgipfel um das 12./13. Lebensjahr. Im Vergleich zur der kindlichen Form ist die Häufigkeit der Absencen sehr viel niedriger und es treten oft generalisierte tonisch-klonische Anfälle auf. Bei beiden Absence-Epilepsien finden sich im EEG die typischen 3/s SW-Komplexe, wobei bei der JAE häufig eine etwas raschere Aktivität beobachtet wird (ILAE 1985) .

#### 1.4.1.2 **Juvenile myoklonische Epilepsie (JME)**

Die juvenile myoklonische Epilepsie (JME), auch Janz-Syndrom genannt, betrifft Jugendliche oder junge Erwachsene zwischen dem 12. und 25. Lebensjahr. Typisch sind bilaterale, symmetrische Myoklonien im Schulter-Armbereich. Im Verlauf treten häufig generalisierte tonisch-klonische Anfälle auf, welche vor allem nach dem morgendlichen Erwachen auftreten (Janz 1969; Janz 1985; Panayiotopoulos et al. 1989). Im EEG zeigt sich ein typisches irreguläres Poly-spike-wave-Muster. Teilweise haben Patienten generalisiert tonisch-klonische Anfälle beim Erwachen ohne eindeutige Myoklonien, diese Epilepsie wird dann häufig als Aufwach-Grand-Mal-Epilepsie oder „epilepsy with generalised tonic-clonic seizures alone“ (EGTCS) bezeichnet. EEG zeigen sich irreguläre 2-3/s Spike-wave-Komplexe und Theta-Rhythmen.

### 1.5 **Grundlagen der Genetik**

OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) listet über 200 genetische Syndrome, bei denen epileptische Anfälle auftreten. Bei den meisten Syndromen sind epileptische Anfälle ein Ausdruck einer generellen Hirnstörung. Insofern führt die Erforschung spezieller genetischer Syndrome, bei welchen Epilepsien nur ein Teil eines größeren Symptomenkomplexes sind, nur geringe Fortschritte in der Erforschung von Epilepsien per se.

Daher konzentrierte sich ein Großteil der genetischen Forschung in den letzten Jahren auf idiopathische Epilepsiesyndrome.

### 1.5.1 Molekulargenetik

Genetische Varianten kommen im menschlichen Genom in großer Anzahl und in verschiedenen Formen vor.

Die Größe von genetischen Varianten kann von großen mikroskopisch sichtbaren Chromosomenstörungen bis hin zu Einzelnukleotid-Veränderungen („Single Nucleotide Polymorphisms“, SNP) reichen.

Weitere Variationen im menschlichen Genom sind Indels und Copy Number Variations (CNVs).

#### 1.5.1.1 Copy Number Variations

CNVs (Copy Number Variations) kommen häufig als submikroskopische Variante in DNA-Segmenten vor und reichen in ihrer Größe von Kilobasen bis Megabasen (Sebat et al. 2004; Sharp et al. 2005). Dabei kann es sich um Deletionen, Insertionen oder Duplikationen handeln, die in jedem menschlichen Genom gefunden werden (Feuk et al. 2006).

Ein Mechanismus, wie CNVs entstehen können, soll hier exemplarisch genannt werden.

Segmentale Duplikationen, auch „low copy repeats“ (LCRs) genannt, können zur Entstehung von CNVs beitragen (Lee et al. 2006). LCRs sind DNA-Fragmente größer 1 Kb und mit über 90%iger DNA-Sequenzidentität. LCRs können über nicht homologe Rekombination (nonallelic homologous recombination, NAHR) zu Deletionen oder Duplikationen führen (Shaw et al. 2002; Lee et al. 2006). NAHR ist ein Reparaturvorgang von DNA-Doppelstrangbrüchen, bei dem keine identische Matritze vorliegt und nur die Bruchenden direkt miteinander verbunden werden (Shaw et al. 2005). Dieses kann dann zu Deletionen oder Duplikationen führen. Einige Studien haben gezeigt, dass solche Orte mit LCRs Hotspots mit chromosomaler Instabilität aufzeigen (Ji et al. 2000; Samonte et al. 2002). Es wird angenommen, dass Veränderungen in diesen Hotspots zu genomischen Fehlsteuerungen führen können (Sharp et al. 2005).

## 1.6 Genetik der Epilepsien – aktueller Stand

Eine erbliche Komponente bei Epilepsien wird schon seit langer Zeit vermutet. Seit William Lennox gibt es auch wissenschaftliche Modelle zur Erforschung von Vererbung bei Epilepsien.

Technische Fortschritte und molekulargenetische Forschung haben die genetische Epilepsieforschung revolutioniert. 1995 wurde das erste Gen für idiopathisch generalisierte Epilepsien (IGE) identifiziert (Steinlein et al. 1995). Danach schlossen sich weitere Entdeckungen an. Die Bedeutung von genetischen Faktoren, insbesondere bei idiopathisch generalisierter Epilepsie (IGE), nimmt stetig zu. Die „recurrence risk ratio“ (RRR) für erstgradig Verwandte von IGE-Patienten variiert zwischen 4-9 und Zwillingsstudien deuten auf eine Heritabilität von >80% (Helbig et al. 2008).

Molekulargenetische Studien haben in den letzten Jahren Gene für monogene idiopathische Epilepsien entdeckt. Tabelle 1 gibt einen kurzen Überblick über monogene Epilepsien. Die meisten von diesen Genen kodieren für Spannungs- oder ligandengebundene Ionenkanäle (Reid et al. 2009).

Syndrom	Gen
GEFS+ („generalized epilepsy with febrile seizures plus“)	<i>SCN1A</i> ( $\alpha$ 1-Untereinheit des spannungsabhängigen Natriumkanals) <i>SCN1B</i> ( $\beta$ -Untereinheit) <i>SCN2A</i> ( $\alpha$ 2-Untereinheit) <i>GABRG2</i> ( $\gamma$ 2-Untereinheit des GABA-Rezeptors)
Dravet-Syndrom	<i>SCN1A</i> ( $\alpha$ 1-Untereinheit des spannungsabhängigen Natriumkanals)
Benigne familiäre neonatale infantile Anfälle	<i>SCN2A</i> ( $\alpha$ 2-Untereinheit des spannungsabhängigen Natriumkanals)
Benigne familiäre Neugeborenenkrämpfe	<i>KCNQ2</i> und <i>KCNQ3</i> (spannungsabhängige Kaliumkanäle, bilden gemeinsam M-Kaliumstrom)
Verschiedene IGE-Syndrome (CAE, JAE, JME, EGMA)	<i>CLCN2</i> (spannungsabhängiger Chloridkanal)
Kindliche Absence-Epilepsie (CAE)	<i>CACNA1H</i> ( $\alpha$ 1H-Untereinheit des spannungsabhängigen Kalziumkanals)
Generalisierte Epilepsie (mit paroxysmaler Dyskinesie)	<i>GABRG2</i> ( $\gamma$ 2-Untereinheit des GABA-Rezeptors)
Juvenile myoklonische Epilepsie	<i>KCNMA1</i> (BK-Kaliumkanal)
	<i>EFHC1</i> („EF-hand domain-containing-1-gene“) <i>GABRA1</i> ( $\alpha$ 1-Untereinheit des GABA-Rezeptors) <i>CACNB4</i> ( $\beta$ 4-Untereinheit des spannungsabhängigen Kalziumkanals) <i>BRD2</i> (Transkriptionsregulation) <i>ME2</i> („malic enzyme 2“, GABA-Synthese)
Autosomal dominante nächtliche Frontallappenepilepsie	<i>CHRNA4</i> ( $\alpha$ 4-Untereinheit des Acetylcholinrezeptors) <i>CHRNA2</i> ( $\beta$ 2-Untereinheit)
Autosomal dominante laterale Temporallappenepilepsie	<i>LGII</i> („leucine-rich glioma-inactivated gene“)

**Tabelle 1:** Überblick über monogene Epilepsien mit den dazugehörigen Genen.

Ein Versuch eines vollständigen Überblicks über Gene in idiopathischen Epilepsien findet sich in Tabelle 2. Außerdem werden für IGE eine Reihe von Risikogenen diskutiert, für welche es verschiedene Evidenzgrade gibt (*ME2*, *BRD2*) (Pal et al. 2003; Greenberg et al. 2005).

Gene	Genlokalisierung
<i>ATP1A2</i>	1q23.2
<i>BRD2</i>	6p21.32
<i>CACNA1A</i>	19p13.2
<i>CACNA1H</i>	19p 8q24 14q23 9q32-q33 11q22.1-23-3 16p13 10q25-q26
<i>CACNB4</i>	2q22-23
<i>CASR</i>	3q13.3-q21
<i>CHRNA2</i>	8p21 15q24
<i>CHRNA4</i>	20q13
<i>CHRNA7</i>	15q13.3
<i>CHRNA2</i>	1q21
<i>CLCN2</i>	3q26
<i>EFHC1</i>	6p12-p11
<i>GABRA1</i>	5q34-q35
<i>GABRB3</i>	8q24
<i>GABRD</i>	1p36 15q14 6p21
<i>GABRG2</i>	5q31.1-33.1
<i>KCND2</i>	7q31.31
<i>KCNMA1</i>	10q22,3
<i>KCNQ2</i> und <i>KCNQ3</i>	Q2: 20q13; Q3:8q24
<i>LGI1</i>	10q24
<i>ME2</i>	18q21
<i>PRRT2</i>	16p11.2-q12.1 19q12-13.1 1p36
<i>SCN1A</i>	2q24
<i>SCN1B</i>	19q13
<i>SCN2A</i>	2q23-q24.3
<i>SLC25A22</i>	11p15.5
<i>SLC2A1</i>	1p35-p31.3

**Tabelle 2:** Überblick über Gene in idiopathischen Epilepsien.

Bei der Mehrzahl der idiopathischen Epilepsien liegt aber ein komplexer Erbgang vor. Dies bedeutet, dass es nicht nur einen verursachenden Gendefekt gibt, sondern dass mehrere ungünstige Faktoren zusammentreffen müssen, damit diese Epilepsie entsteht.

Trotz der Schwierigkeit, dass somit nur Familien mit wenig Betroffenen zur Verfügung stehen, sind in den letzten Jahren einige mögliche Genorte und Kandidatengene (RefSeq-Gene) veröffentlicht worden. Hierzu gehören zum Beispiel die Region 8q24 für kindliche Absencenepilepsie (CAE) (Fong et al. 1998) oder 15q14 für juvenile myoklonische Epilepsie (JME) (Elmslie et al. 1997).

### 1.6.1 Die besondere Bedeutung von Chromosom 15q in Epilepsien

Das Chromosom 15q steht schon lange im Verdacht, eine Rolle in neurologischen Erkrankungen und insbesondere bei Epilepsien zu spielen.

Eine Besonderheit stellt die genomische Organisation von 15q dar. Sogenannte Hotspots von Bruchpunkten (BP) werden von „low-copy-repeats“ eingerahmt und die nicht-homologe Rekombination wird als der zugrunde liegende Mechanismus von genomischen Neuarrangements in diesen Bruchpunkten vermutet (Itsara et al. 2009; Sharp 2009). Bekannte Beispiele von Deletionen oder Duplikationen in diesen Bruchpunkten sind das Prader-Willi- und das Angelman-Syndrom (Butler et al. 1983; Knoll et al. 1989; Pembrey et al. 1989; Williams et al. 1989).

In dieser kritischen Region liegt unter anderem *CHRNA7*, ein Gen, welches für die  $\alpha 7$ -Untereinheit des nikotinergen Acetylcholin-Rezeptors kodiert, welcher in der nikotinergen Signaltransmission im zentralen Nervensystem eine bedeutende Rolle spielt. Kopplungsstudien zeigen *CHRNA7* als mögliches Kandidatengen im Zusammenhang mit juveniler myoklonischer Epilepsie (Elmslie et al. 1997) und benigner Roland-epilepsie (Neubauer et al. 1998). Im letzten Fall ist ein Kopplungsbefund von zentrotemporalen Spikes zu der chromosomalen Region 15q14 beschrieben (Neubauer et al. 1998).

Mikrodeletionen in der Region 15q13.3 wurden zunächst in Patienten mit mentaler Retardierung und epileptischen Anfällen und anschließend in Patienten mit Schizophrenie (Stefansson et al. 2008; Schizophrenia Consortium 2008), psychiatrischen Erkrankungen und Autismus (Miller et al. 2009; Pagnamenta et al. 2009) beschrieben.

Bei 1% der Patienten mit idiopathisch generalisierter Epilepsie wird in der genomischen Region 15q13.3 eine Mikrodeletion beschrieben (Helbig et al. 2009), die in weniger als 0,02% von nicht betroffenen Kontrollpersonen (Stefansson et al. 2008; Schizophrenia Consortium 2008) gefunden wird.

Somit stellen 15q13.3-Mikrodeletionen den zurzeit vorherrschenden Risikofaktor für idiopathische Epilepsien dar (Mulley et al. 2009).

Zusätzlich werden weitere Mikrodeletionen im Bereich 1q21.1, 15q11.2, 16p11.2, 16p13.11 und 22q11.2 in Patienten mit Schizophrenie, psychiatrischen Erkrankungen, Autismus und mentaler Retardierung beschrieben (Sebat et al. 2004; de Vries et al. 2005; Ullmann et al. 2007; Cook et al. 2008; Slavotinek et al. 2008; Marshall et al. 2008; Sharp et al. 2008; Stefansson et al. 2008; Schizophrenia Consortium 2008; Mefford et al. 2008; Weiss et al. 2008; Brunetti-Pierri et al. 2008; Kumar et al. 2008; Pagnamenta et al. 2009; Miller et al. 2009; Kirov et al. 2009; Hannes et al. 2009; Need et al. 2009). Die betroffenen Patienten waren zum Teil auch an Epilepsie erkrankt (de Vries et al. 2005; Slavotinek et al. 2008; Sharp et al. 2008). In weiteren Studien konnte bisher nur eine signifikante Assoziation zwischen Mikrodeletionen im Bereich 15q11.2, 16p13.11 und 15q13.3 und idiopathisch generalisierter Epilepsie gezeigt werden (de Kovel et al. 2010).



## 2. Fragestellung

Diese Arbeit hat als Ziel, die Bedeutung von Mikrodeletionen bei Epilepsien im Kindes- und Jugendalter zu untersuchen. Hierbei wurde diese Fragestellung von drei verschiedenen Gesichtspunkten angegangen.

In den ersten beiden Studienteilen wurde untersucht, welche Phänotypen mit der 15q13.3-Mikrodeletion assoziiert sind: Im dritten Teil sollte im Gegensatz zu den ersten beiden Studien ein phänotyp-unabhängiger Ansatz verfolgt werden, um atypische Phänotypen zu erfassen.

1. Wie ist die Häufigkeit der 15q13.3-Mikrodeletionen in einer unabhängigen Kohorte idiopathisch generalisierter Epilepsien verteilt?
2. Lässt sich die 15q13.3-Mikrodeletion auch in Patienten mit benignen fokalen Epilepsien des Kindesalters finden?
3. Wie häufig lässt sich die 15q13.3-Mikrodeletion und zwei andere Mikrodeletionen (15q11.2 und 16p13.11) in einer großen Kohorte pädiatrischer Epilepsien finden?

## 3. Methodik

### 3.1 Patientenkohorten

Insgesamt wurden vier unabhängige Kohorten untersucht, welche im Folgenden dargestellt werden. Diese umfassen drei Epilepsiekohorten, welche hier als „Europäische IGE-Kohorte“, „Rolando-Kohorte“, „Kieler Neuropädiatrie-Kohorte“ und als Kontrollgruppe die „Popgen-Kohorte“ bezeichnet werden.

#### 3.1.1 Europäische IGE-Kohorte

Diese Kohorte besteht aus 539 Probanden (Dibbens et al.) und umfasst 293 australische und 246 europäische Individuen mit einer diagnostizierten idiopathisch generalisierten Epilepsie, deren Phänotypen in Tabelle 3 dargestellt sind. Einschlusskriterien umfassten das Vorliegen eines typischen IGE-Syndroms, ein generalisiertes EEG-Muster und ein Beginn der Epilepsie vor dem 30. Lebensjahr. Ausschlusskriterien waren zusätzliche neurologische Auffälligkeiten oder neuropsychiatrische Krankheitsbilder wie Schizophrenie, Autismus oder eine mentale Behinderung.

Phänotypen	Anzahl
Kindliche Absence-Epilepsie	186
Juvenile Absence-Epilepsie	94
Juvenile myoklonische Epilepsie	183
Idiopathisch generalisierte Epilepsie mit primär generalisierten tonisch-klonischen Anfällen	76
Gesamt	539

**Tabelle 3:** Phänotypen der europäischen IGE-Kohorte

Als Kontrollen dienten 494 australische und 3283 europäische Kontrollen.

405 IGE-Patienten und 494 australische Kontrollen wurden mittels quantitativer PCR (qPCR) untersucht, 134 IGE-Patienten und 3283 europäische Kontrollen wurden mittels Affymetrix Human SNP Array 6.0 gescreent. Die in diesem Screening ermittelten Mikrodeletionen in der chromosomalen Region 15q13.3 wurden mit Hilfe von Array-CGH bestätigt.

### 3.1.2 Rolando-Kohorte

Diese Kohorte bestand aus 71 Probanden aus dem Patientenstamm der Neuropädiatrischen Klinik der Uniklinik Schleswig-Holstein. Den Großteil der Probanden stellten Patienten mit Benigner Rolando-Epilepsie dar. Die Kohorte umfasst die in Tabelle 4 beschriebenen Phänotypen. Hierbei wurden Phänotypen aus dem Spektrum der idiopathischen Partialepilepsien eingeschlossen, aber auch Patienten mit atypischen oder schwer verlaufenden idiopathisch generalisierten Epilepsien.

Phänotypen	Anzahl
Benigne Rolando-Epilepsie	49
Pseudo-Lennox-Syndrom	12
Bioelektrischer Status im Schlaf	7
Landau-Kleffner-Syndrom	3

**Tabelle 4:** Phänotypen der Rolando-Kohorte

### 3.1.3 Kieler Neuropädiatrie-Kohorte

Die Kohorte bestand aus 570 Probanden. Diese stammen aus dem Patientenstamm der Neuropädiatrischen Klinik der Uniklinik Schleswig-Holstein und gliedern sich in Probanden mit Epilepsie, Fieberkrämpfen und Epilepsie-assoziierten EEG-Merkmalen (Tabelle 5). Diese Kohorte wurde auf die Mikrodeletionen 15q13.3, 15q11.2 und 16p13.11 untersucht.

Phänotypen	Anzahl
Idiopathisch generalisierte Epilepsie	101
Idiopathisch fokale Epilepsie	20
Fieber-assoziierte Epilepsie	126
Andere Epilepsie-Syndrome	201
Unklassifizierte Anfälle oder Epilepsie-assoziierte EEG-Muster ohne Anfälle	122

**Tabelle 5:** Phänotypen der Kieler Neuropädiatrie-Kohorte. Fieber-assoziierte Epilepsien beinhalten Fieberkrämpfe (FS), Fieberkrämpfe plus (FS+) und genetische Epilepsien mit Fieberkrämpfen plus (GEFS+). Andere Epilepsie-Syndrome beinhalten Dravet-Syndrom, symptomatische und kryptogene fokale Epilepsien und unklassifizierte Epilepsien.

131/570 Probanden (23,0%) haben eine milde, moderate oder schwere mentale Retardierung (ID). Eine Überlappung zu den anderen Kohorten besteht nicht. Zur Beschreibung der phänotypischen Merkmale wird ein schon vorher beschriebener Proband mit eingeschlossen (Helbig et al. 2009), aber nicht in die statistische Analyse übernommen.

#### **3.1.4 POPGEN-Kontrollkohorte**

Die POPGEN-Kontrollkohorte bestand aus 93 Individuen aus dem sogenannten „popgen“-Projekt. „Popgen“ wurde 2003 als populationsgenetisches Forschungsprojekt des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein gegründet. Diese Proben wurden zur Etablierung der qPCR untersucht.

### **3.2 Gewinnung von Blutproben und Plattenherstellung**

#### **3.2.1 Blutabnahme, Einwilligung**

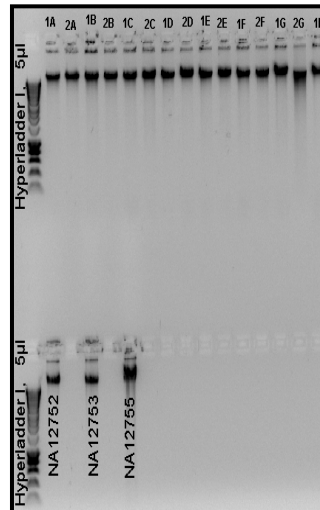
Im Rahmen eines fortlaufenden Forschungsprojektes werden routinemäßig Patienten mit Epilepsien, sowie deren Verwandten um Teilnahme an genetischen Studien gebeten. Zur Blutprobengewinnung werden normalerweise 2-10 ml EDTA-(Ethyldiamintetraessigsäure-) Blut abgenommen. Dieses Forschungsprojekt ist durch die Ethikkommission der Universität Kiel bewilligt.

#### **3.2.2 DNS- (Desoxyribonukleinsäure-)Extraktion**

Die DNS-Extraktion aus den Blutproben wurde mittels QIAamp DNA Blood Maxi Kit (Qiagen) durchgeführt, in EDTA gelöst und bei – 20 °C eingefroren und bei 4°C gelagert. Die Proben wurden mit einer für jeden Studienteilnehmer spezifischen Nummer versehen und dadurch pseudonymisiert.

### 3.2.3 DNS-Qualitätskontrolle

Vor dem Gebrauch der DNS wurde diese auf Menge und Qualität mit Hilfe von Gelelektrophorese kontrolliert. Gut sichtbare Banden ohne „Schmierstreifen“ sprechen für eine nicht degradierte DNS und somit für eine gute Qualität.



**Abbildung 3:** Beispiel für die DNS-Qualitätskontrolle. Die Abbildung spricht für eine gute Qualität der DNS, es sind alle Banden gut sichtbar ohne relevante Degradierungserscheinungen.

### 3.2.4 Herstellung von Platten zur Genotypisierung

Für die quantitative Polymerase-Ketten-Reaktion (qPCR), die unter 3.3.1 beschrieben wird, wurden sogenannte Platten hergestellt. Eine Platte besteht aus 96 „wells“ (Vertiefung). Ein „well“ wird befüllt mit:

- 5 µl ABI-Mix (TaqMan® Genotyping Master Mix)
- 0,5 µl RNase P (als Referenz)
- 0,17 µl Assay
- 4,33 µl Wasser
- = 10µl

In einem „well“ sind 2,5ng DNS gelöst in 0,1x tris-EDTA.

Der „ABI-Mix“ besteht aus mehreren Komponenten für die PCR und wird von Applied Biosystems hergestellt. Der Mix besteht unter anderem aus den nötigen Enzymen für die PCR und der DNS-Polymerase.

DNS-Proben eines Patienten wurden als Quadruplikate untersucht, d.h. vier „wells“ wurden mit DNS von einem Patienten befüllt. Als Positivkontrollen waren auf allen Platten Proben von Patienten mit einer gesicherten Mikrodeletion und einer gesicherten Duplikation als Quadruplikat aufgetragen.

### 3.3 Molekulargenetische Untersuchungen

Die molekulargenetischen Untersuchungen wurden in Kooperation mit dem Institut für Klinische Molekularbiologie (IKMB) der Universität Kiel durchgeführt.

#### 3.3.1 Real-time quantitative PCR

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR= polymerase chain reaction) ist heutzutage ein Standardverfahren in der Molekularbiologie. Sie kann eine kleine Menge DNS in kurzer Zeit vervielfältigen. Bei der PCR gibt es drei Phasen. Zunächst die Denaturierungsphase, in der die DNS erhitzt wird und sich der Doppelstrang in zwei Stränge trennt. In der zweiten Phase, der Hybridisierungsphase, lagern sich die Primer an die DNS. In der dritten und letzten Elongations-Phase ist die DNS-Polymerase aktiv und ersetzt den fehlenden DNS-Strang durch einen komplementären Strang. Die Primer markieren die zu vervielfältigende DNS.

Eine Abwandlung der PCR-Methode ist die Real-time quantitative PCR (qPCR), zur relativen Quantifizierung von Nukleinsäuren. Es gibt unterschiedliche Arten von qPCRs, eine davon ist die TaqMan®-qPCR.

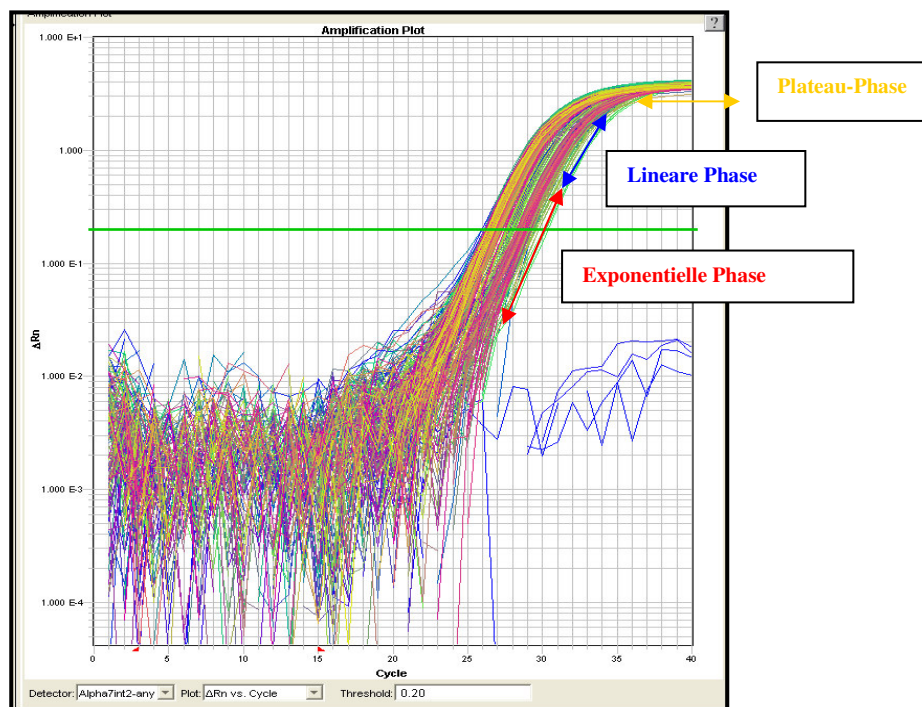
##### 3.3.1.1 TaqMan®-qPCR

Die TaqMan®-qPCR benutzt eine spezielle TaqMan-Sonde, welche an eine der zu untersuchenden DNS hybridisiert. Am 3'-Ende der TaqMan-Sonde bindet ein „Quencher“ (Löscher), am 5'-Ende ein „Reporter“. Der Quencher und der Reporter sind zwei Arten von Fluorochromen. Das Quencher-Fluorochrom unterdrückt bei kurzer Distanz zum Reporter-Fluorochrom dessen Signal durch den Effekt des Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfers (Cardullo 1988). Hierbei lässt sich ein Fluoreszenzfarbstoff (Fluorochrom) mit Licht einer bestimmten Wellenlänge anregen und strahlt die aufgenommene Energie anschließend in Form von Licht einer anderen Wellenlänge wieder ab. Bringt man allerdings ein zweites Fluorochrom in ausreichende Nähe, wird die Energie direkt an das zweite Fluorochrom weitergegeben, welches dann Licht in einer anderen Wellenlänge abstrahlt.

Durch die 5'-Exonuklease-Aktivität wird während der PCR-Reaktion das 5'-gebundene Fluorochrom abgespalten und strahlt dann Licht der ursprünglichen Wellenlänge aus, welches quantifiziert werden kann.

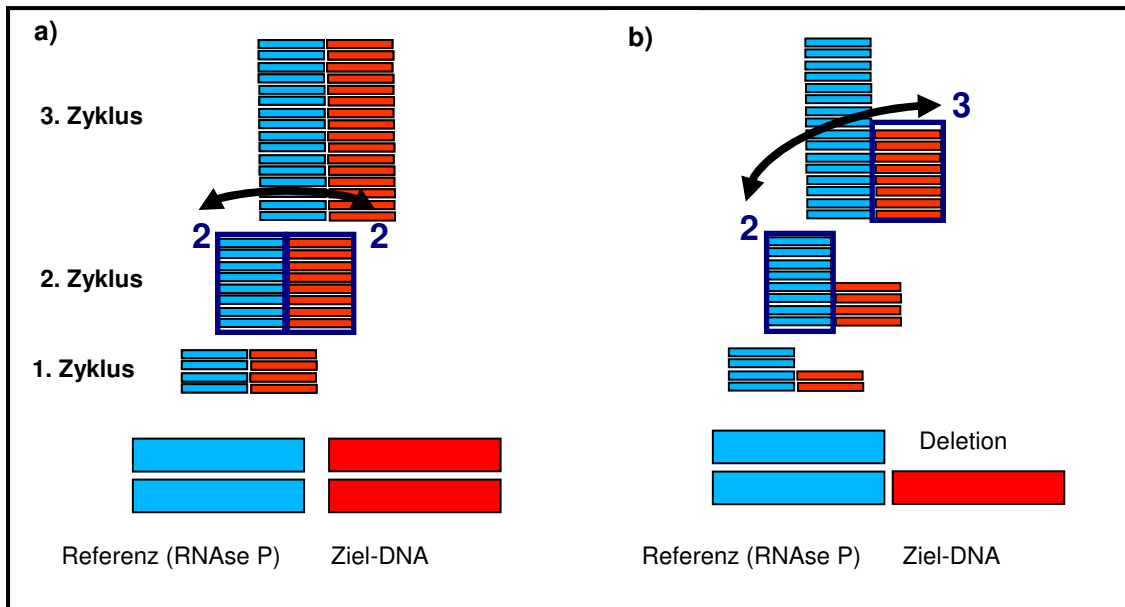
### 3.3.1.2 Quantifizierung durch qPCR

Im Rahmen der PCR-Reaktion findet nach einer initialen Phase eine exponentielle Vermehrung der DNA-Fragmente statt. Aufgrund von Substratmangel, d.h. durch den Mangel an freien, verfügbaren Nukleotiden, verlangsamt sich der Prozess zum Ende hin zu einem linearen Wachstum und kommt dann zum Stillstand in der Plateau-Phase. Die Messung für die eigentliche Quantifizierung für die q-PCR findet in der exponentiellen Phase statt. In diesem Zyklus sind die Reagenzien in Fülle vorhanden und die PCR-Produkte verdoppeln sich in jedem Zyklus.



**Abbildung 4:** Beispiel aus der SDS-Software (Sequence Detection System, Applied Biosystem®). Darstellung der drei Phasen: Exponentielle-, Lineare- und Plateau-Phase.

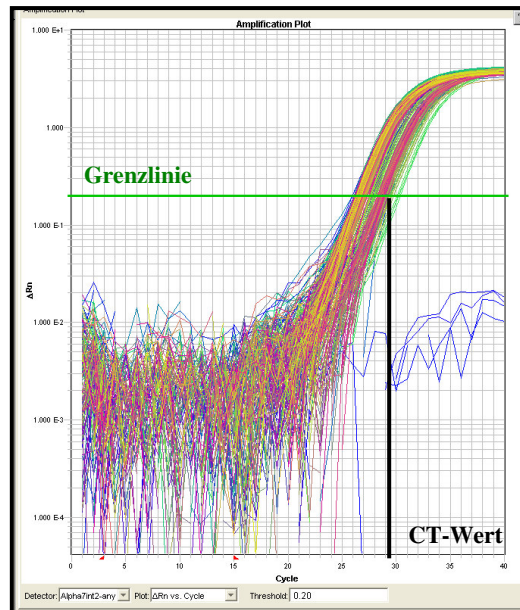
## 3.3.1.3 Detektion von Mikrodeletionen durch qPCR



**Abbildung 5:** Diese Abbildung zeigt exemplarisch die qPCR a) ohne Deletion und b) mit Deletion. Bei a) sind bei der Ziel-DNA die gleiche Anzahl an Zyklen notwendig um die gleiche Anzahl an Produkt zu erreichen, bei b) sind drei Zyklen bei der Ziel-DNA notwendig, um auf die gleiche Anzahl der Referenz nach zwei Zyklen zu kommen.

Zur Messung wird eine Grenzlinie an dem Punkt gezogen (Threshold-Line), an dem sich das Fluoreszenzsignal gerade deutlich vom Hintergrund abhebt und die exponentielle Phase erreicht. Der PCR-Zyklus, in dem diese Grenzlinie erreicht wird, ist der „Cycle Threshold“ (Ct-Wert). Aus dem Vergleich der Ct-Werte für eine interne Kontrolle (RNase P) und die zu quantifizierende genomische DNS kann dann durch die  $\Delta\Delta C_t$  Methode (siehe 3.3.3) die Kopienanzahl in der gewünschten Region quantifiziert werden.





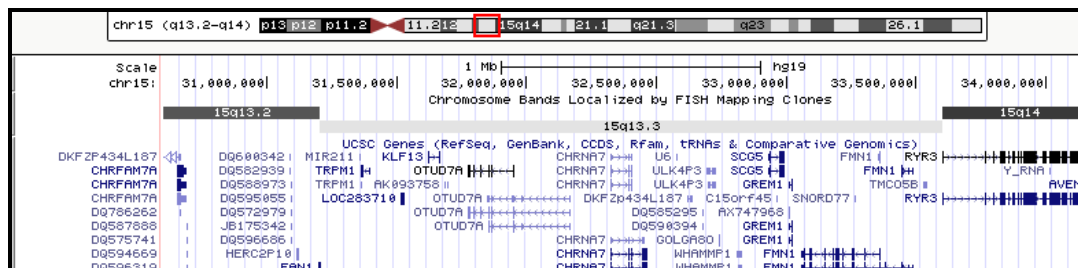
**Abbildung 6:** Darstellung der „Grenzlinie“ und des CT-Wertes anhand eines Beispiels aus der SDS-Software (Sequence Detection System).

### 3.3.2 Assay-Design

TaqMan-Hybridisierungsproben werden als sogenannte Assays ausgeliefert, welche die eigentliche Hybridisierungssonde, wie auch die PCR-Primer enthalten. Die Assays für die in dieser Arbeit untersuchten Mikrodeletionen wurden mithilfe des Custom TaqMan®-Genomic Assays Submission Guidelines Protocol entworfen.

Sequenzen für Primer und Hybridisierungsproben finden sich im Anhang.

Für 15q13.3 wurden Assays aus dem zweiten Intron von *CHRNA7* entworfen, für 15q11 aus dem ersten Intron von *CYFIP1* (genomische Sequenz) und für 16p13.11 (genomische Sequenz) aus dem ersten Intron von *NDE1*.

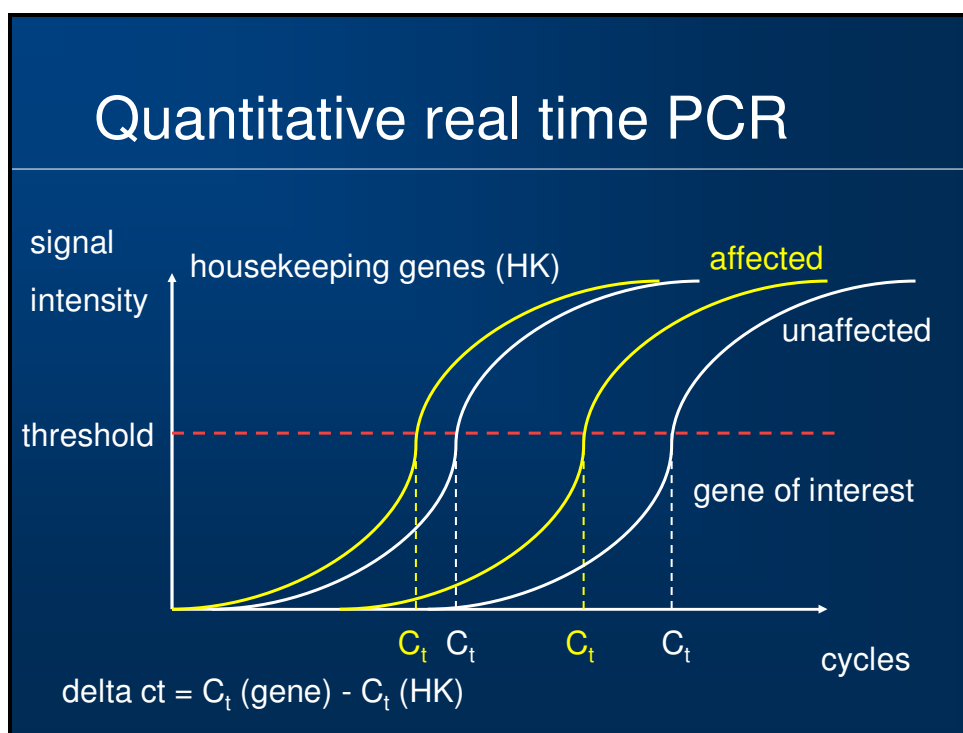


**Abbildung 7:** Auszug aus 15q13.3 mit Lokalisation von *CHRNA7*.

### 3.3.3 Prinzip der $\Delta\Delta C_t$ Methode

$C_t$  (cycle threshold) ist der Kreuzpunkt einer Vervielfältigungskurve und einer Grenzlinie (siehe Abbildung 8). Es wird damit der Zyklus angegeben, in der eine vorher bestimmte Menge an Produkten erreicht wird. Mithilfe der  $\Delta\Delta C_t$ -Methode kann aus den  $C_t$ -Werten für Assay und Referenz bei einer Probe im Vergleich zu einem Kalibrator die genomische Kopienzahl geschätzt werden. Der Kalibrator ist hierbei eine Positivkontrolle mit zwei Kopien, teilweise wird auch der Median aller PCR-Reaktionen in einer Versuchsanordnung genommen.

Für sowohl Probe wie auch Kalibrator werden  $C_t$ -Werte von Assay und Referenz subtrahiert ( $\Delta C_t$ -Werte), anschließend werden die  $\Delta C_t$ -Werte von Probe und Kalibrator subtrahiert ( $\Delta\Delta C_t$ -Wert).  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  entspricht dann der Kopienzahl (Livak und Schmittgen 2001).



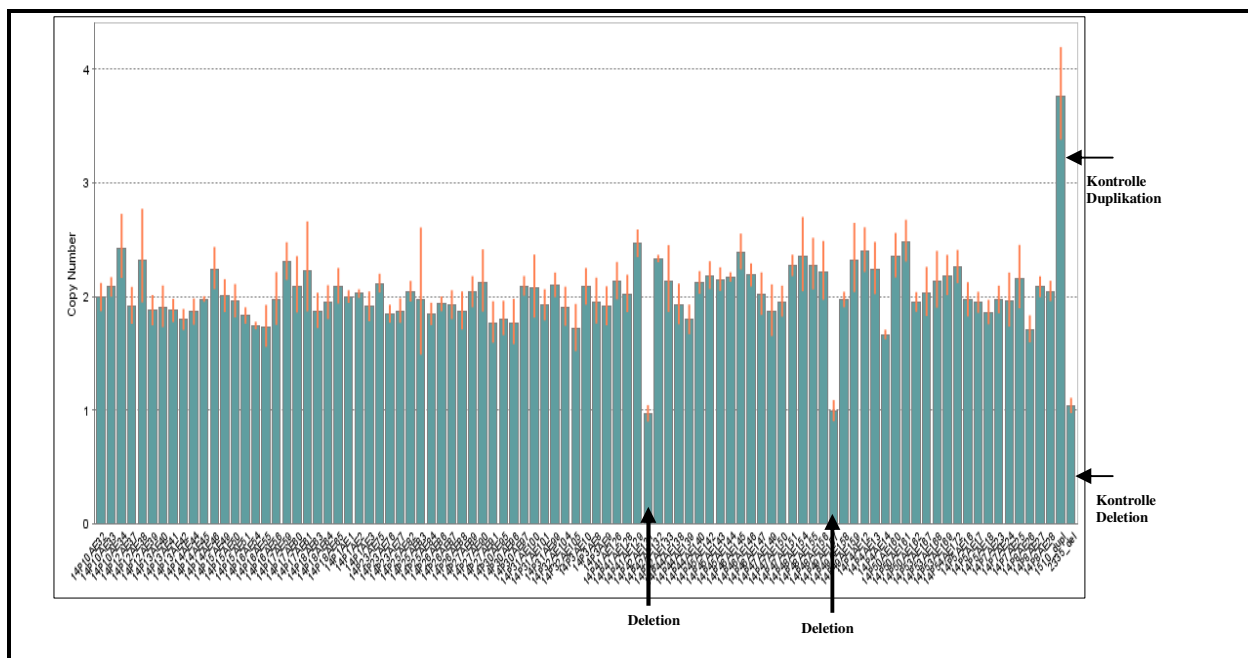
**Abbildung 8:** Darstellung zeigt Vervielfältigungskurven mit einer Grenzlinie (threshold) und ihren  $C_t$ -Werten.

### 3.3.4 SDS-Software (Sequence Detection System)

Die SDS-Software von Applied Biosystems misst während jedem PCR-Zyklus die Intensität und stellt das q-PCR-Ergebnis im Verlauf graphisch dar. Von der Software wird automatisch ein Grenzwert bestimmt und die  $C_t$ -Werte bei Erreichen des Grenzwertes ausgegeben. Die Abbildungen 4 und 6 zeigen Ergebnisdarstellungen aus diesem Programm.

### 3.3.5 Copy Caller-Software

Die CopyCaller™ Software berechnet aus den Ergebnissen der qPCR mögliche Deletionen oder Duplikationen. Außerdem zeigt es die Standardabweichung für jedes Ergebnis. Abbildung 9 zeigt ein Beispiel aus dieser Software.



**Abbildung 9:** Beispiel für die Ergebnisdarstellung der CopyCaller-Software. Sie zeigt zwei mögliche Deletionen und die jeweiligen Kontrollen.

### 3.3.6 Micro-Array-CGH (Comparative Genomic Hybridization)

Micro-Array-CGH wurde 1997 von Solinas-Toldo et al. und der Gruppe um Peter Lichter entdeckt (Solinas-Toldo 1997).

Eine Gruppe von Micro-Array-CGHs bezieht sich auf Variationen in der genomischen DNS. Derartige Variationen, die sich in z.B. Punktmutationen, Deletionen oder Insertionen äußern können, lassen sich mit DNS-Microarrays untersuchen.

Numerische Veränderungen im Genom führen zu Verschiebungen im Hybridisierungsverhältnis und damit zu einer Farbverschiebung des Fluoreszenzsignals. Diese Farbverschiebung kann erfasst werden und statistisch ausgewertet werden. Mit dieser Methode ist es möglich „Copy Number Variations“ (CNV) in einer Größe von 5-10 kb und größer zu ermitteln. Heutzutage kann man strukturelle Variationen von 200 Basenpaaren mit hochauflösender Array-CGH aufdecken (Urban u. a. 2006). Die Array-CGH für die beschriebenen Arbeiten wurden im Labor von Prof. Heather Mefford, University of Washington, Seattle, USA durchgeführt. Benutzt wurde hierfür eine „custom array“ mit einer hoher Probedichte im Bereich von bekannten Regionen, welche zu rekurrenten Mikrodeletionen neigen, einschließlich 15q13.3, 15q11.2 und 16p13.11. Diese Methode wurde u.a. in Helbig et al., 2009 und Dibbens et al., 2009 angewandt.

### **3.4 Statistische Auswertung**

Für die statische Auswertung wurden übliche Tests zum Vergleich von Häufigkeiten in zwei Gruppen angewandt. Aufgrund der Seltenheit von Mikrodeletionen kam hierbei v.a. der Fisher's-exact-Test zur Anwendung (Fisher 1938). Zur Analyse wurde u.a. das Statistik-Paket R angewandt (R package, r-project.org), in welchem der Fisher-Test mit kontinuierlicher Korrektur implementiert ist.

## 4. Ergebnis

Die Ergebnisse werden im Folgenden geordnet nach Kohorten dargestellt.

### 4.1 Europäische IGE-Kohorte

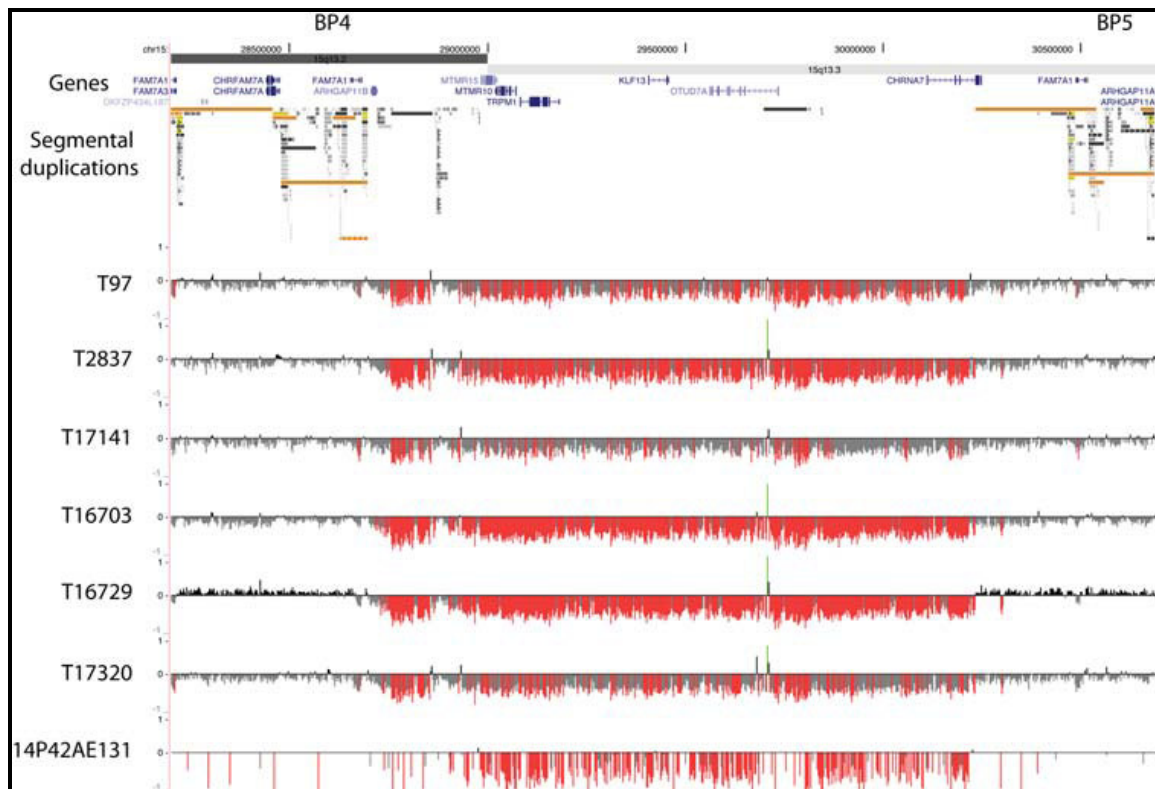
In der Kohorte von 539 Probanden wurden sieben 15q13.3 Mikrodeletionen identifiziert (australische IGE-Kohorte 6/293, europäische IGE-Kohorte 1/246) Somit beträgt die Frequenz von 15q13.3 Mikrodeletionen in der Kohorte der IGE-Probanden 1,3% (7/539). Die Mikrodeletionen teilen sich wie folgt in die IGE-Untergruppen auf:

Phänotypen	Anzahl	Anzahl der 15q13.3-Mikrodeletion
Kindliche Absence-Epilepsie	186	3 (1,6%)
Juvenile Absence-Epilepsie	94	1 (1,1%)
Juvenile myoklonische Epilepsie	183	3 (1,6%)
Idiopathisch generalisierte Epilepsie mit primär generalisierten tonisch-klonischen Anfällen	76	0 (0%)
Gesamt	539	7 (1,3%)

**Tabelle 6:** Aufteilung der 15q13.3 Mikrodeletionen innerhalb der IGE-Untergruppen.

In beiden Kontrollgruppen wurden keine Mikrodeletionen gefunden. Zusammenfassend wurden 15q13.3-Mikrodeletionen in 7/539 Probanden und 0/3777 Kontrollen gefunden ( $p=4,6 \times 10^{-7}$ ; Fisher's exact-Test).

Die Region der Deletion liegt zwischen den segmentalen Duplikations-Gruppen an den Bruchpunkten 4 (BP4) und 5 (BP5) und beinhaltet sechs RefSeq-Gene.



**Abbildung 10:** Array-CGH-Analyse von der 15q13.3-Mikrodeletion in Patienten mit idiopathisch generalisierter Epilepsie. RefSeq-Gene=blau. BP4=Bruchpunkt 4, BP5=Bruchpunkt 5. Bereich der Deletion =rot. (Dibbens et al, 2009)

## 4.2 Rolando-Kohorte

In keinem der Patienten mit Benigner Rolando-Epilepsie (BRE) und verwandten Syndromen konnte eine 15q13.3 Mikrodeletion nachgewiesen werden. Dagegen wurden zwei 15q13.3 Duplikationen bei einem Patienten mit BRE und einem Patienten mit Pseudo-Lennox-Syndrom gefunden. Die Bedeutung der Duplikationen ist insgesamt unklar.

## 4.3 Kieler Neuropädiatrie-Kohorte

In der Kohorte von 570 Probanden wurden 10 Mikrodeletionen in 15q13.3 (n=3), 15q11.2 (n=3) und 16p13.11 (n=4) identifiziert (1,8%). 9/10 Mikrodeletionen (15q13.3 (n=3), 15q11.2 (n=3) und 16p13.11 (n=2)) wurden gefunden bei Probanden mit idiopathisch generalisierter Epilepsie (6/101, 6,0%) oder Probanden mit generalisierten EEG-Merkmalen ohne Anfälle (3/122, 2,5%). Diese EEG-Merkmale umfassten generalisierte Spike-waves (GSW) und die photosensitive Reaktionen (PPR).

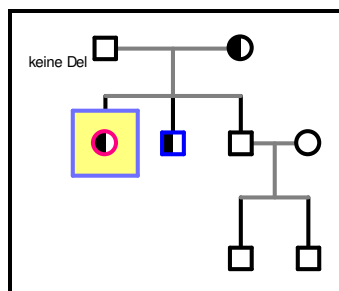
Eine 16p13.11 Mikrodeletionen ist in der Kohorte der anderen Epilepsie-Syndrome (n=201) bei einem Patienten mit West-Syndrom identifiziert worden, ansonsten zeigten sich keine weiteren Mikrodeletionen in dieser Kohorte. In der Kohorte der idiopathisch fokalen und Fieber-assoziierten Epilepsien wurden keine Mikrodeletionen verzeichnet. Der Unterschied in der Häufigkeit der Mikrodeletionen in Patienten mit IGE oder generalisierten EEG-Merkmalen und anderen Phänotypen ist signifikant ( $p=0.01$ ,  $OR=14,50$  95% CI [1,98-637,63] Fisher's exact-Test). 6/10 Individuen mit Mikrodeletionen hatten unterschiedliche Ausprägungen einer Lernbehinderung oder geistigen Behinderung. Die Frequenz der Mikrodeletionen in Patienten mit Epilepsie und mentaler Retardierung ist höher (6/131, 4,6%) im Vergleich zu Patienten mit Epilepsie ohne Retardierung (4/439, 0,9%,  $p=0.01$ ,  $OR$  5,20, 95%CI [1,21-25,45] Fisher's exact-Test). Während 2/6 Varianten *de novo* aufgetreten sind, wurden vier Varianten von den Eltern weiter gegeben. Zwei von vier wurden von nicht betroffenen Eltern vererbt und weitere zwei Varianten wurden von an Epilepsie erkrankten Eltern vererbt.

#### 4.3.1 Ergebnisse aufgeteilt nach Mikrodeletionen

##### 4.3.1.1 15q13.3 Mikrodeletionen-Ergebnisse

In der Kohorte von 570 pädiatrischen Patienten wurden 3 Individuen mit einer 15q13.3 Mikrodeletion identifiziert. Alle drei Patienten und ein zusätzlicher Patient (Proband 1, bereits in Helbig et al. 2009 veröffentlicht), zeigen unterschiedliche Ausprägungen einer geistigen Behinderung mit generalisierter Epilepsie. Eine Zusammenfassung klinischer Merkmale von den Probanden und ihren Familien zeigt Tabelle 7. Die Unterschiede in der Häufigkeit der 15q13.3 Mikrodeletion zwischen den IGE-Patienten (3/101) und den übrigen Patienten (0/469) ist signifikant ( $p=0,006$ ). Die 15q13.3 Mikrodeletion ist ausschließlich in Patienten mit Absence-Epilepsie zu finden (3/31 vs. 0/539;  $p=0,0002$ ). Keiner der Deletionsträger hatte zusätzliche chromosomale Veränderungen. Die Phänotypen der Patienten mit 15q13.3 Mikrodeletionen sind im Weiteren einzeln aufgeführt. (Stammbäume erstellt mit GenoPro®).

### Proband 1



**Abbildung 11:** Stammbaum von Proband 1. Absence-Epilepsie mit mentaler Retardierung (rot), nur mentale Retardierung (blau), Proband= gelber Kasten, 15q13.3-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Dieses Mädchen ist termingerecht geboren. Die Eltern sind nord-europäischer Herkunft, nicht verwandt und gesund. Geburtsparameter, postnatale Phase und das Erlernen motorischer Fähigkeiten waren normal. Kognitive und sprachliche Entwicklung verzögert.

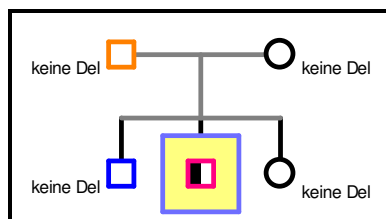
Bei der ersten ausführlichen Anamnese, welche im Rahmen dieser Doktorarbeit nachvollzogen werden konnte, zeigten sich mit fünf Jahren eine schwere mentale Retardierung und autistische Züge. Die Patientin zeigte weiterhin typische Absences, begleitet von regulären 3Hz-generalisierten Spike-wave-Paroxysmen im EEG, welche bis zu 15 Sekunden andauern. Im Alter von 14 Jahren zeigte das EEG Photosensitivität Grad IV. Im Alter von 19 Jahren zeigte sich ein EEG ohne hypersynchrone Aktivität und ohne Allgemeinveränderungen.

Bei ihrem Bruder besteht eine schwere mentale Retardierung ohne Epilepsie. Beide Eltern und ein zweiter Bruder sind phänotypisch unauffällig. Das EEG der Mutter (gesunde Deletionsträgerin) zeigt eine Hintergrund-Verlangsamung (7 Hz) ohne epileptische Entladungen.

Die Mikrodeletion zwischen Bruchpunkt 4 und 5 wurde bei der Probandin, dem Bruder mit mentaler Retardierung und der Mutter identifiziert.



## Proband 2



**Abbildung 12:** Stammbaum von Proband 2. Absence-Epilepsie mit mentaler Retardierung (rot), nur mentale Retardierung (blau), nur Anfälle=orange, Proband= gelber Kasten, 15q13.3-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten, keine Deletion= keine Del.

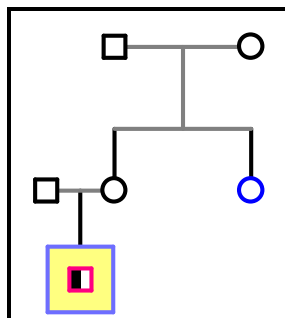
Dieser Junge ist termingerecht geboren nach unauffälliger Schwangerschaft als zweites Kind von nicht-verwandten Eltern türkischer Herkunft. Es zeigten sich normale Geburtsparameter. Die frühe motorische und geistige Entwicklung war unauffällig.

Ab dem 7. Lebensjahr traten häufige Absencen begleitet von regulären generalisierten 3Hz-Spike-wave-Paroxysmen auf, welche mit Valproinsäure behandelt wurden. Eine Lernbehinderung war ab dem 8. Lebensjahr evident. In der Pubertät kam es bei Nichteinnahme der Medikamente zu einem generalisierten tonisch-klonischen Anfall. Im Alter von 24 Jahren zeigten sich noch gelegentliche Absencen. Der Junge besuchte eine Schule für geistig-behinderte Kinder. Teilweise stehen aggressive Verhaltenszüge im Vordergrund.

Der Bruder des Probanden zeigt eine geistige Behinderung, beim Vater wurden epileptische Anfälle in der Kindheit beschrieben, welche nicht näher charakterisiert werden konnten. Eine Lernbehinderung lag beim Vater nicht vor. Die Schwester und die Mutter sind phänotypisch unauffällig.

Bei dem Probanden wurde zwischen Bruchpunkt 4 und 5 eine *de novo* Deletion identifiziert.

## Proband 3



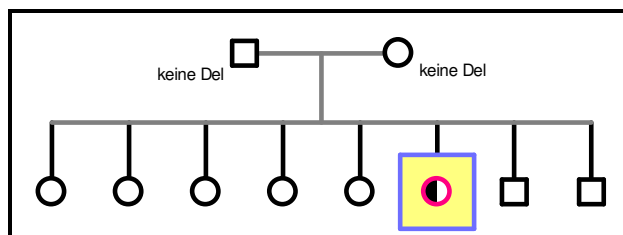
**Abbildung 13:** Stammbaum von Proband 3. Absence-Epilepsie mit mentaler Retardierung (rot), nur mentale Retardierung (blau), Proband= gelber Kasten, 15q13.3-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Der Junge ist termingerecht nach unauffälliger Schwangerschaft mit normalen Geburtsparametern und unauffälliger postnataler Phase geboren. Die Eltern sind nord-europäischer Herkunft, gesund und nicht verwandt. Ab dem 13. Lebensjahr zeigten sich typische Absencen. Die Anfälle konnten mit Ethosuximid kontrolliert werden. Kognitiv zeigte sich eine geringe Lernbehinderung. Im EEG zeigen sich reguläre 3 Hz-Spike-waves mit Photosensibilität Grad IV.

Der Patient besuchte eine Schule für geistig-behinderte Kinder. Außerdem wurde aggressives Verhalten beschrieben.

Bei einer Tante mütterlicherseits wird eine mentale Retardierung beschrieben, allerdings konnten genauere Informationen nicht erfragt werden. Die Eltern waren phänotypisch unauffällig, der Patient hatte keine Geschwister. Die 15q13.3-Mikrodeletion liegt bei dem Probanden zwischen Bruchpunkt 4 und 5. Familienmitglieder waren zur Testung nicht verfügbar.

## Proband 4



**Abbildung 14:** Stammbaum von Proband 4. Absence-Epilepsie mit mentaler Retardierung (rot), Proband= gelber Kasten, 15q13.3-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

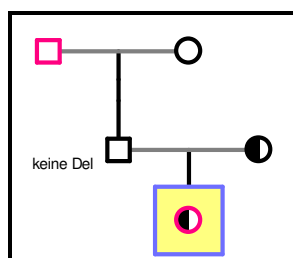
Das Mädchen wurde termingerecht als sechstes Kind nicht-verwandter Eltern nord-europäischer Herkunft geboren. Die Geburtsparameter und die postnatale Phase waren unauffällig. In den ersten vier Lebensjahren waren die grob- und feinmotorischen Fähigkeiten und die Sprachentwicklung unauffällig. Im Kindesalter wurden Lernschwierigkeiten bemerkt und die Patientin besuchte eine Schule für geistig-behinderte Kinder. Im Alter von 17 Jahren zeigte sich ein einmaliger generalisierter tonisch-klonischer Anfall mit anschließendem Absence-Status, welcher mit Clonazepam unterbrochen werden konnte. Das EEG zeigte kontinuierliche 2,5-4 Hz Spike-waves, zusätzlich zeigen sich 3 Hz Spike-waves. Im MRT zeigt sich okzipital eine kleine periventrikuläre noduläre Heterotopie, welche im Verlauf aber als nicht ursächlich interpretiert wurde. In der Familie finden sich keine mentalen Retardierungen oder Epilepsien. Eine *de novo* Deletion liegt bei dem Probanden zwischen Bruchpunkt 3 und 5.

	<b>Proband 1</b>	<b>Proband 2</b>	<b>Proband 3</b>	<b>Proband 4</b>
<b>15q13.3 Mikrodeletion</b>	BP4-BP5	BP4-BP5	BP4-BP5	BP3-BP5
<b>Familie: -Anfälle -Geistige Behinderung</b>	Nein Ja	Ja Ja	Nein Ja	Nein Nein
<b>De novo vs. vererbte Mikrodeletionen</b>	Deletion Mutter Deletion Bruder	<i>de novo</i>	unbekannt	<i>de novo</i>
<b>Ethnische Herkunft</b>	Nordeuropa	Mediterran	Nordeuropa	Nordeuropa
<b>Alter bei Beginn Epilepsie</b>	5 Jahre Absenzen (>10 /Tag)	7 Jahre Absenzen (>10 / Tag)	13 Jahre Absenzen	17 Jahre Petit-mal Status GTCS
<b>Epilepsie Syndrome</b>	CAE übergehend in JAE	CAE übergehend in JAE	JAE	JAE
<b>Zusätzliche Anfallsarten</b>	Keine	GTCS	Keine	GTCS Petit-mal Status
<b>Grad der geistigen Behinderung</b>	Schwer	Moderat	Gering	Gering
<b>Sprachentwicklung</b>	unter 10 Wörter im Alter von 19	Normale Sprach- entwicklung	Normale Sprach- entwicklung	Normale Sprach- entwicklung
<b>Verhaltensauffälligkeiten</b>	Autistische Züge	Aggressives Verhalten	Aggressives Verhalten	Keine
<b>EEG</b>	3 Hz sw PPR IV normaler Hintergrund	3 Hz sw normaler Hintergrund	3 Hz sw PPR IV normaler Hintergrund	2,5-4 Hz sw und 3 Hz sw normaler Hintergrund
<b>Geschlecht</b>	Weiblich	männlich	männlich	Weiblich
<b>MRT Gehirn</b>	Normal	Nicht durchgeführt	Nicht durchgeführt	rechts occipital PVNH

**Tabelle 7:** CAE = Kindliche Absence-Epilepsie, JAE = Juvenile Absence-Epilepsie; GTCS = Generalisierte tonisch-klonische Anfälle; Hz = Herz; sw = spike-wave Ableitung ; PPR = Photoparoxysmale Reaktion , PVNH = periventriculäre noduläre Heterotopie.

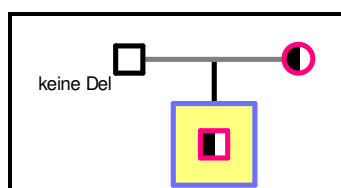
## 4.3.1.2 15q11.2-Ergebnis

In der Kohorte von 570 pädiatrischen Patienten wurden drei Individuen mit einer 15q11.2 Mikrodeletion identifiziert. Die Phänotypen der Patienten mit 15q13.3-Mikrodeletionen sind im Weiteren einzeln aufgeführt.

*Proband 5*

**Abbildung 15:** Stammbaum von Proband 5. Epilepsie (rot), Proband= gelber Kasten, 15q11.2-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Das betroffene Mädchen ist das einzige Kind nicht-verwandter gesunder Eltern und hatte im Alter zwischen 5 und 8 Jahren vier generalisierte tonische Anfälle. Unter der Behandlung von Lamotrigin wurde sie anfallsfrei. Das EEG während der Anfälle zeigte frontal ausgeprägte Spike-waves und Poly-spike-waves, sowie PPR Grad IV. Die kognitive Entwicklung war normal. Ihr Großvater väterlicherseits hatte im Kindesalter epileptische Anfälle, welche nicht näher charakterisiert werden konnten. Die 15q11.2 Variante wurde von der gesunden Mutter vererbt, eine Testung des Großvaters konnte nicht durchgeführt werden.

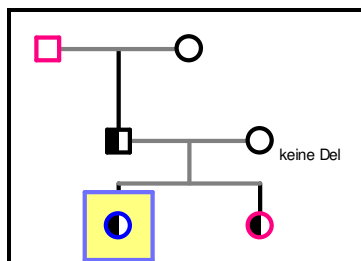
*Proband 6*

**Abbildung 16:** Stammbaum von Proband 6. Epilepsie (rot), Proband= gelber Kasten, 15q11.2-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Der Proband ist das einzige Kind nicht-verwandter Eltern. Ab dem 4. Lebensjahr zeigten sich Absencen und atonische Anfälle. Das EEG während der Anfälle zeigte irreguläre generalisierte Spike-wave-Paroxysmen. Unter der Therapie mit Valproinsäure und Ethosuximid wurde er anfallsfrei.

Zusätzlich zeigte sich eine geringgradige Lernbehinderung. Die 15q11.2 Variante wurde von der Mutter vererbt, die während der Schwangerschaft auch Absenzen hatte.

#### Proband 7



**Abbildung 17:** Stammbaum von Proband 7. Epilepsie (rot), EEG-Auffälligkeiten ohne Anfälle (blau), Proband= gelber Kasten, 15q11.2-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

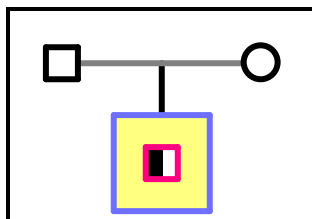
Das Mädchen ist das erste Kind nicht-verwandter Eltern. Bei Durchführung eines EEGs im Rahmen einer Migräneabklärung zeigten sich irregulär generalisierte Spike-waves. Die Probandin hat eine Lernbehinderung, epileptische Anfälle wurden nicht berichtet. Die 15q11.2 Variante ist von ihrem gesunden Vater vererbt.

Die ältere Schwester der Probandin trägt ebenfalls die 15q11.2 Deletion und ist mit einer idiopathisch generalisierten Epilepsie mit wenigen myoklonischen Anfällen und generalisierten tonisch-klonischen Anfällen diagnostiziert. Das EEG der Schwester zeigt irreguläre generalisierte Spike-waves und PPR Grad IV. Beim Großvater väterlicherseits wurden epileptische Anfälle berichtet, eine genetische Testung oder Phänotypisierung war jedoch nicht möglich.

#### 4.3.1.3 16p13.11-Ergebnis

In der Kohorte von 570 pädiatrischen Patienten wurden vier Probanden mit einer 16p13.11 Mikrodeletion identifiziert. 3/4 Mikrodeletionen zeigten sich in Patienten mit idiopathisch generalisierter Epilepsie und eine Mikrodeletion bei einem Patienten mit West-Syndrom.

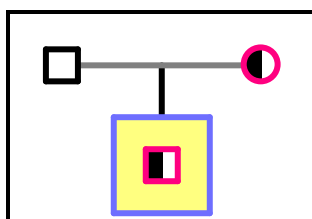
Die Phänotypen der Patienten mit 16p13.11 Mikrodeletionen sind im Weiteren einzeln aufgeführt.

*Proband 8*

**Abbildung 18:** Stammbaum von Proband 8. Epilepsie (rot), Proband= gelber Kasten, 16p13.11-  
Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Der Junge ist das erste Kind nicht-verwandter, gesunder Eltern und zeigte ab dem Alter von zwei Tagen tonische Anfälle im Rahmen einer bakteriellen Meningitis. Die Anfälle hielten während der ersten vier Wochen an und konnten mit Phenobarbital kontrolliert werden. Im Alter von sieben Wochen begannen komplex-partielle Anfälle. Im EEG zeigten sich multifokale Sharp-waves und ein durchgeführtes MRT zeigte eine Läsion im linken Temporallappen. Im Alter von zwei Jahren zeigten sich BNS-Anfälle mit begleitender Hypsarrhythmie. Die Anfälle sistierten unter Dexamethason-Therapie im Alter von 3 Jahren.

Es besteht seitdem Anfallsfreiheit, der letzte Kontrolltermin fand im Alter von neun Jahren statt. Ab dem Alter von zwei Jahren zeigte sich eine leichte Regression, im Alter von neun Jahren zeigt sich eine Lernbehinderung. Eine genetische Testung der Eltern war nicht möglich.

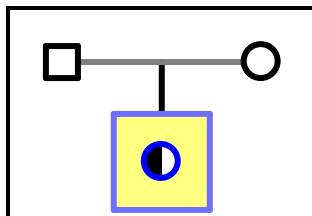
*Proband 9*

**Abbildung 19:** Stammbaum von Proband 9. Epilepsie (rot), Proband= gelber Kasten, 16p13.11-  
Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Der Junge ist das einzige Kind nicht-verwandter Eltern und zeigte im Alter von 12 Jahren generalisierte Spike-waves und PPR Grad IV im EEG. Seit dem 13. Lebensjahr begannen myoklonische Anfälle und sistierten ohne Behandlung im Alter von 14 Jahren. Es war bei dem Patienten keine Lernbehinderung vorhanden.

Die 16p13.11 Variante wurde von der Mutter vererbt, welche über generalisierte tonisch-klonische Anfälle berichtete. Der Vater war zur Testung nicht verfügbar.

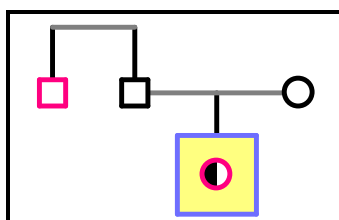
#### Proband 10



**Abbildung 20:** Stammbaum von Proband 10. EEG-Auffälligkeiten ohne Anfälle (blau), Proband= gelber Kasten, 16p13.11-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten.

Das Mädchen nicht-verwandter gesunder Eltern zeigte im EEG ein PPR Grad II ohne epileptische Anfälle. Eine Lernbehinderung lag nicht vor.

#### Proband 11



**Abbildung 21:** Stammbaum von Proband 11. Epilepsie (rot), Proband= gelber Kasten, 16p13.11-Mikrodeletionsträger= halb ausgefüllter Kasten

Das Mädchen ist das einzige Kind nicht-verwandter gesunder Eltern und hatte generalisierte tonisch-klonische Anfälle provoziert durch Photostimulation und Absencen mit Augenlid-Myoklonien (Eyelid myoclonias with absences, Jeavons Syndrome). Das EEG zeigte irreguläre generalisierte Spike-waves-Paroxysmen und PPR Grad IV. Eine Lernbehinderung lag nicht vor. Ihr Onkel väterlicherseits hatte generalisierte tonisch-klonische Anfälle unter Photostimulation. Die Verwandten waren zu einer Testung nicht verfügbar.



#### 4.4 **POPGEN-Kontrollkohorte**

In der Kohorte mit 91 Kontrollindividuen und zwei bekannten Deletionsträgern mit der 15q13.3-Mikrodeletion wurden beide Mikrodeletionen mittels qPCR eindeutig identifiziert (Methodik, Punkt 3.3.1.3). Diese Kohorte diente zur Etablierung der quantitativen PCR und floss nicht direkt in die aus dieser Arbeit publizierten Ergebnisse ein.

## 5. Diskussion

### 5.1 Mikrodeletionen 15q13.3, 15q11.2 und 16p13.11

#### 5.1.1 Zusammenschau der untersuchten Kohorten

Es zeigt sich, dass die 15q13.3-Mikrodeletion eine höhere Frequenz (1-2%) bei Patienten mit IGE hat als bei nicht an Epilepsie erkrankten Individuen. Außerdem zeigte sich eine erhöhte Häufigkeit bei Patienten mit Absence-Epilepsie, bei gleichzeitig vorliegender Lernbehinderung. In der europäischen IGE-Kohorte zeigten 3/186 Patienten mit einer Absence-Epilepsie die 15q13.3-Mikrodeletion. In der Kieler Neuropädiatrie-Kohorte hatten alle Individuen mit einer 15q13.3-Mikrodeletion eine Absence-Epilepsie kombiniert mit einer unterschiedlich ausgeprägten Lernbehinderung. Die Frequenz der Mikrodeletionen in Patienten mit Epilepsie und mentaler Retardierung ist höher (6/131, 4,6%) im Vergleich zu Patienten mit Epilepsie ohne Retardierung (4/439, 0,9%,  $p=0.01$ , OR 5,20, 95%CI [1,21-25,45] Fisher's-exact-Test). Einige Kinder mit typischer Absence-Epilepsie haben eine Lernbehinderung, aber die Frequenz der Kombination dieser phänotypischen Merkmale ist bisher unbekannt. Diese Kombination ist in vorherigen Studien schon beschrieben worden (Sharp et al. 2008; Helbig et al. 2009). Die Assoziation von 15q13.3-Mikrodeletionen mit Absence-Epilepsie ist signifikant (3/31 vs. 0/539;  $p=0,0002$ ).

Die 16p13.11-Mikrodeletion wurde nur in Patienten mit IGE oder mit generalisierten EEG-Merkmalen und in einem Patienten mit West-Syndrom gefunden, aber nicht in Patienten mit einer fokalen Epilepsie. Dieses zeigt eine Differenz zu vorherigen Veröffentlichungen (Heinzen et al. 2010), welche die Deletion in Partialepilepsien und generalisierten Epilepsien beschreiben. In unserer Studie zeigt sich eine signifikant erhöhte Frequenz von Patienten mit Epilepsie und Lernbehinderung. Hannes et al. berichtet ebenfalls von Patienten mit Epilepsie und Lernbehinderung, die eine 16p13.11-Mikrodeletion aufweisen (Hannes et al. 2009). Im Gegensatz dazu gibt es bei Heinzen et al. 2010 keinen Zusammenhang zwischen Epilepsie-Patienten mit einer 16p13.11-Mikrodeletion und Lernbehinderung (Heinzen et al. 2010).

Das lässt vermuten, dass die Frequenz der 16p13.11-Mikrodeletion von der Auswahl der Studienkohorte abhängig ist. Dementsprechend kann es sein, dass in pädiatrischen Kohorten eine höhere Frequenz von Lernbehinderung oder geistiger Behinderung gesehen wird.

15q13.3-, 15q11.2- und 16p13.11-Mikrodeletionen wurden in keinem Patienten mit idiopathisch fokaler Epilepsie, Patienten mit Fieber-assoziierten Epilepsien oder Patienten mit Benigner Rolando-Epilepsie und verwandten Syndromen gefunden, auch wenn einige der Untergruppen zu klein sind, um ein Vorhandensein dieser Varianten in niedriger Frequenz zu detektieren bzw. ausschließen zu können. Vorherige Studien haben für einige Patienten mit fokaler Epilepsie Mikrodeletionen auf 15q11.2 und 16p13.11 beschrieben (Heinzen u. a. 2010), aber keiner der Patienten wurde als idiopathisch fokale Epilepsie klassifiziert.

### 5.1.2 Gesamtaufstellung

Zusammenfassend zeigen die 15q11.2-, die 15q13.3- und die 16p13.11-Mikrodeletion eine Assoziation mit Phänotypen aus dem Spektrum der idiopathisch generalisierten Epilepsien oder ähnlichen generalisierten EEG-Merkmalen. Im Gegensatz zu anderen Studien wurden diese Mikrodeletionen nicht in Patienten mit fokaler Epilepsie, Fieberkrämpfen oder GEFS+ gefunden. Der Unterschied in der Häufigkeit der Mikrodeletionen in Patienten mit IGE oder generalisierten EEG-Merkmalen im Vergleich zu anderen Phänotypen ist signifikant ( $p=0.01$ ,  $OR=14,50$  95% CI [1,98-637,63] Fisher's exact-Test).

### 5.1.3 Vererbte und *de novo* Deletionen

Es zeigen sich *de novo* Variationen aber auch Vererbungen von betroffenen und nicht-betroffenen Elternteilen.

Die 15q13.3-Mikrodeletion zeigt eine sehr starke Assoziation in IGE-Patienten in Fall-Kontrollstudien, aber keine Vererbung im Mendel'schen Sinne, sondern zeigt sich als eine anfällige Komponente in einem polygenetischen Modell. Beide *de novo* Deletionen in der Kieler Neuropädiatrie-Kohorte sind 15q13.3-Deletionen und diese Mikrodeletion stellt somit den stärksten genetischen Risikofaktor unter den drei untersuchten Varianten dar.

#### 5.1.4 Kandidatengene innerhalb der Mikrodeletionen

Der Mechanismus, wie die Mikrodeletionen ihren pathogenetischen Effekt vermitteln, ist noch unbekannt. Haploinsuffizienz des deletierten Segments scheint ein möglicher Mechanismus zu sein. In den deletierten Bereichen wurden auch plausible Kandidatengene gefunden.

Die 15q13.3-Mikrodeletion umfasst sieben Gene, unter anderem das  $\alpha 7$ -nikotinerge Rezeptor-Untereinheiten-Gen (*CHRNA7*). Andere Mitglieder dieser Gen-Familie (*CHRNA2*, *CHRNA4* und *CHRNA2*) wurden in anderen genetischen Epilepsien beschrieben, unter anderem in der idiopathisch autosomal dominanten Frontallappen-Epilepsie (ADNFLE) (Steinlein et al. 1995).

Die 16p13.11-Mikrodeletion umfasst unter anderem das Kandidatengen *NDE1*. *NDE1* interagiert mit *DISC1* (bei Schizophrenie beschädigt) und *LIS1* (verursacht Lissenzephalie), ein Verlust in diesem *LIS1-NDE1*-Komplex beeinträchtigt die kortikale Neurogenese und die neuronale Migration (Pawlisz et al. 2008). Ob es der Funktionsverlust von den Kandidatengen alleine, die Kombination aus Funktionsverlusten mehrerer Gene oder ob es eine Änderung im Zusammenspiel von Regulationsmechanismen ist, bleibt weiterhin unklar.

## 5.2 Kritische Aspekte der Arbeit

In dieser Arbeit können mehrere Faktoren die Aussagekraft eingeschränkt haben. Einerseits wurden nur pädiatrische Kohorten untersucht. Somit können keine Aussagen über „Epilepsien im Allgemeinen“ gemacht werden. Weiterhin war es häufig nicht möglich, Familien der erkrankten Patienten zu rekrutieren. Eine Aussage über Vererbung kann damit nicht vollständig erhoben werden, so dass die Frequenz vererbter und *de novo* Mikrodeletionen nicht klar ist.

Wegen kleiner Fallzahlen kann zu der Verteilung der Mikrodeletionen in den Subgruppen kein Ergebnis geliefert werden. Dementsprechend ist diese Arbeit nicht darauf ausgelegt, eine Aussage über die relative Verteilung in den Subgruppen treffen zu können.

Weiterhin können technische Aspekte die Ergebnisse dieser Arbeit verfälscht haben. Unter anderem ist die qPCR eine quantitative Methode und für die Interpretation von Deletionen wurden eigene Schwellenwerte festgelegt. Hier ist die Rate falsch-positiver und falsch-negativer Ergebnisse nicht vollkommen klar.

Während wir bei der Validierung keine falsch-positiven Mikrodeletionen nachweisen konnten und somit die Rate der falsch-positiven Ergebnisse gering sein wird, kann keine Aussage darüber gemacht werden, ob einige tatsächlich vorhandenen Mikrodeletionen nicht erkannt wurden. Dies gilt vor allem für Proben mit schlechter DNS-Qualität.

## **5.3 Ausblick**

### **5.3.1 Stellenwert der untersuchten rekurrenten Mikrodeletionen**

Die recht hohe Frequenz von rekurrenten Mikrodeletionen in verschiedenen neuropsychiatrischen Erkrankungen, Epilepsien und anderen neurologischen Erkrankungen zeigt, dass es sich lohnt, auf die Identifikation von genetischen Faktoren den Hauptfokus zu richten. Allerdings zeigt sich bei diesen Mikrodeletionen ein überraschend breites phänotypisches Spektrum, beginnend bei Lernbehinderungen, Autismus bis hin zu schweren epileptischen Enzephalopathien (Mefford and Eichler 2009). Der Grund für diese Diversität ist nicht klar und es wird vermutet, dass sowohl genetische wie auch nicht-genetische Faktoren eine Rolle dabei spielen können, welcher Phänotyp sich bei Deletionsträgern manifestiert.

### **5.3.2 Risikoabschätzung in Deletionsträgern**

Mikrodeletionsträger haben ein fünffach erhöhtes Risiko eine unterschiedlich ausgeprägte Lernbehinderung zu zeigen. Diese Mikrodeletions-Trias hilft eventuell dabei ein neues Spektrum von Epilepsie-Phänotypen, klassifizierbar durch klinische, elektrographische und genetische Daten, zu beschreiben. Aufgrund der großen phänotypischen Breite kann man in Patienten, die eine der Mikrodeletionen tragen, keine Aussage über die Wahrscheinlichkeit der Ausprägung der Epilepsie oder mentalen Retardierung machen. Aufgrund der Häufigkeit dieser Mikrodeletionen besteht hier ein dringender Bedarf, eine größere Datengrundlage zu schaffen, um solche Fragestellungen besser beantworten zu können.

### **5.3.3 Therapiemöglichkeiten**

Die Wahl der Therapie bei Epilepsien richtet sich empirisch nach dem klinischen Bild, wobei genetischen Befunden mit wenigen Ausnahmen nur eine untergeordnete Rolle zukommt.

Allerdings finden sich in den Regionen der Mikrodeletionen mehrere interessante Kandidatengene, die für Ionenkanäle kodieren (u.a. *CHRNA7*). Diese könnten in Zukunft ein Angriffspunkt für eine medikamentöse Therapie sein, da viele der bekannten Antiepileptika Ionenkanäle als Angriffspunkt haben (Helbig et al. 2009).

#### 5.4 Zusammenfassung

Diese Arbeit liefert neue Einblicke in die komplexe genetische Struktur der Epilepsien.

Die Arbeit beschäftigt sich mit der Häufigkeit von Mikrodeletionen in Epilepsien, der phänotypischen Breite, der Vererbung von Epilepsien und den möglichen Kandidatengenen. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die 15q13.3-Mikrodeletionen eine höhere Frequenz (1-2%) in Patienten mit idiopathisch generalisierter Epilepsie als bei nicht an Epilepsie erkrankten Individuen aufweist. Insbesondere zeigte sich eine erhöhte Häufigkeit bei Patienten mit Absence-Epilepsie bei gleichzeitig vorliegender Lernbehinderung. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Vererbung dieser Mikrodeletion eher einem polygenetischen Modell folgt, als einem klassischen Vererbungsmodell. In dem Bereich der Mikrodeletionen konnten Kandidatengene ermittelt werden, die eng im Zusammenhang mit neurologischen Erkrankungen (z.B. Schizophrenie, ADNFLE) stehen (Millar et al. 2000; Steinlein et al. 1995) und die für die Zukunft eventuell einen therapeutischen Angriffspunkt darstellen könnten. Diese Arbeit ist ein weiterer Fortschritt in der Entdeckung und im Verstehen von Epilepsien, insbesondere der idiopathisch generalisierten Epilepsien, welcher ggf. zu einer Verbesserung der diagnostischen und therapeutischen Möglichkeiten bei Patienten mit Epilepsien führen kann.

Zusammenfassend ist dieses Ergebnis ergänzend zu vorhergehenden Publikationen (Helbig et al. 2009).

## 6. Literaturverzeichnis

- Aicardi, J, und J J Chevie. 1982. „Atypical benign partial epilepsy of childhood“. *Developmental Medicine and Child Neurology* 24 (3) (Juni): 281–292.
- Aicardi, J, und Goutieres F. 1978. „Encephalopathie myoclonique neonatale“. *Neurophysiol Clin*.
- Anderson, Victor Elving. 1982. *Genetic basis of the epilepsies*. Raven Press.
- Barrett, Jeffrey C, Sarah Hansoul, Dan L Nicolae, Judy H Cho, Richard H Duerr, John D Rioux, Steven R Brant, u. a. 2008. „Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn’s disease“. *Nature Genetics* 40 (8) (August): 955–962. doi:10.1038/ng.175.
- Beaumanoir, Anne. 1995. *Continuous Spikes and Waves During Slow Sleep*. John Libbey Eurotext.
- Beaussart, M. 1972. „Benign epilepsy of children with Rolandic (centro-temporal) paroxysmal foci. A clinical entity. Study of 221 cases“. *Epilepsia* 13 (6) (Dezember): 795–811.
- Berg, Anne T, Samuel F Berkovic, Martin J Brodie, Jeffrey Buchhalter, J Helen Cross, Walter van Emde Boas, Jerome Engel, u. a. 2010. „Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009“. *Epilepsia* 51 (4) (April): 676–685. doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x.
- Berkovic, S F, R A Howell, D A Hay, und J L Hopper. 1998. „Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes“. *Annals of Neurology* 43 (4) (April): 435–445. doi:10.1002/ana.410430405.
- Bernard, Christophe, Anne Anderson, Albert Becker, Nicholas P Poolos, Heinz Beck, und Daniel Johnston. 2004. „Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy“. *Science (New York, N.Y.)* 305 (5683) (Juli 23): 532–535. doi:10.1126/science.1097065.
- Bodmer, Walter, und Carolina Bonilla. 2008. „Common and rare variants in multifactorial susceptibility to common diseases“. *Nature Genetics* 40 (6) (Juni): 695–701. doi:10.1038/ng.f.136.
- Brunetti-Pierri, Nicola, Jonathan S Berg, Fernando Scaglia, John Belmont, Carlos A Bacino, Trilochan Sahoo, Seema R Lalani, u. a. 2008. „Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities“. *Nature Genetics* 40 (12) (Dezember): 1466–1471. doi:10.1038/ng.279.
- Butler, M G, und C G Palmer. 1983. „Parental origin of chromosome 15 deletion in Prader-Willi syndrome“. *Lancet* 1 (8336) (Juni 4): 1285–1286.
- Cardullo, R A, S Agrawal, C Flores, P C Zamecnik, und D E Wolf. 1988. „Detection of nucleic acid hybridization by nonradiative fluorescence resonance energy transfer“. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (23) (Dezember): 8790–8794.
- Cavalleri, Gianpiero L, Michael E Weale, Kevin V Shianna, Rinki Singh, John M Lynch, Bronwyn Grinton, Cassandra Szoeki, u. a. 2007. „Multicentre search for genetic susceptibility loci in sporadic epilepsy syndrome and seizure types: a case-control study“. *Lancet Neurology* 6 (11) (November): 970–980. doi:10.1016/S1474-4422(07)70247-8.
- Claes, L, J Del-Favero, B Ceulemans, L Lagae, C Van Broeckhoven, und P De Jonghe. 2001. „De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy“. *American Journal of Human Genetics* 68 (6) (Juni): 1327–1332. doi:10.1086/320609.
- Cohen, Jonathan C, Robert S Kiss, Alexander Pertsemidis, Yves L Marcel, Ruth McPherson, und Helen H Hobbs. 2004. „Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol“. *Science (New York, N.Y.)* 305 (5685) (August 6): 869–872. doi:10.1126/science.1099870.
- Cook, Edwin H, Jr, und Stephen W Scherer. 2008. „Copy-number variations associated with neuropsychiatric conditions“. *Nature* 455 (7215) (Oktober 16): 919–923. doi:10.1038/nature07458.
- Cooper, Jason D, Deborah J Smyth, Adam M Smiles, Vincent Plagnol, Neil M Walker, James E Allen, Kate Downes, u. a. 2008. „Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci“. *Nature Genetics* 40 (12) (Dezember): 1399–1401. doi:10.1038/ng.249.
- Cossette, Patrick, Lidong Liu, Katéri Brisebois, Haiheng Dong, Anne Lortie, Michel Vanasse, Jean-Marc Saint-Hilaire, u. a. 2002. „Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy“. *Nature Genetics* 31 (2) (Juni): 184–189. doi:10.1038/ng885.
- Davenport, Charles Benedict, und David Fairchild Weeks. 1911. *A first study of inheritance in epilepsy*.

- Deonna, T, A Beaumanoir, F Gaillard, und G Assal. 1977. „Acquired aphasia in childhood with seizure disorder: a heterogeneous syndrome“. *Neuropädiatrie* 8 (3) (August): 263–273. doi:10.1055/s-0028-1091522.
- Doose, H, H Gerken, T Horstmann, und E Völzke. 1973. „Genetic factors in spike-wave absences“. *Epilepsia* 14 (1) (März): 57–75.
- Doose, H, H Gerken, R Leonhardt, E Völzke, und C Völz. 1970. „Centrencephalic myoclonic-astatic petit mal. Clinical and genetic investigation“. *Neuropädiatrie* 2 (1) (August): 59–78. doi:10.1055/s-0028-1091841.
- Doose, H, und B Sitepu. 1983. „Childhood epilepsy in a German city“. *Neuropediatrics* 14 (4) (November): 220–224. doi:10.1055/s-2008-1059582.
- Doose, H., und W. K. Baier. 1987. *Genetic factors in epilepsies with primarily generalized minor seizures*. Hippokrates.
- Doose, H., und St. Waltz. 2008. „Photosensitivity - Genetics and Clinical Significance“. *Neuropediatrics* 24 (05) (März): 249–255. doi:10.1055/s-2008-1071552.
- Doose, Hermann. 1995. *Epilepsien im Kindes- und Jugendalter*. Desitin-Arzneimittel-GmbH.
- Durbin, Richard M, Gonçalo R Abecasis, David L Altshuler, Adam Auton, Lisa D Brooks, Richard M Durbin, Richard A Gibbs, Matt E Hurles, und Gil A McVean. 2010. „A map of human genome variation from population-scale sequencing“. *Nature* 467 (7319) (Oktober 28): 1061–1073. doi:10.1038/nature09534.
- Easton, Douglas F, Karen A Pooley, Alison M Dunning, Paul D P Pharoah, Deborah Thompson, Dennis G Ballinger, Jeffery P Struwing, u. a. 2007. „Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci“. *Nature* 447 (7148) (Juni 28): 1087–1093. doi:10.1038/nature05887.
- Elmslie, F V, M Rees, M P Williamson, M Kerr, M J Kjeldsen, K A Pang, A Sundqvist, u. a. 1997. „Genetic mapping of a major susceptibility locus for juvenile myoclonic epilepsy on chromosome 15q“. *Human Molecular Genetics* 6 (8) (August): 1329–1334.
- Fearnhead, Nicola S, Jennifer L Wilding, Bruce Winney, Susan Tonks, Sylvia Bartlett, David C Bicknell, Ian P M Tomlinson, Neil J McC Mortensen, und Walter F Bodmer. 2004. „Multiple rare variants in different genes account for multifactorial inherited susceptibility to colorectal adenomas“. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (45) (November 9): 15992–15997. doi:10.1073/pnas.0407187101.
- Fisher, Sir Ronald Aylmer. 1938. *Statistical Methods for Research Workers*. Oliver and Boyd.
- Fong, G C, P U Shah, M N Gee, J M Serratos, I P Castroviejo, S Khan, S H Ravat, u. a. 1998. „Childhood absence epilepsy with tonic-clonic seizures and electroencephalogram 3-4-Hz spike and multispikes-slow wave complexes: linkage to chromosome 8q24“. *American Journal of Human Genetics* 63 (4) (Oktober): 1117–1129. doi:10.1086/302066.
- Franke, Andre, Tobias Balschun, Christian Sina, David Ellinghaus, Robert Häsler, Gabriele Mayr, Mario Albrecht, u. a. 2010. „Genome-wide association study for ulcerative colitis identifies risk loci at 7q22 and 22q13 (IL17REL)“. *Nature Genetics* 42 (4) (April): 292–294. doi:10.1038/ng.553.
- Gastaut, G. 1966. *Epilepsias*.
- Genton, P, B Maton, M Ogihara, G Samoggia, R Guerrini, M T Medina, C Dravet, und J Roger. 1992. „Continuous focal spikes during REM sleep in a case of acquired aphasia (Landau-Kleffner syndrome)“. *Sleep* 15 (5) (Oktober): 454–460.
- Gibbs, E L, H W GILLEN, und F A GIBBS. 1954. „Disappearance and migration of epileptic foci in childhood“. *A.M.A. American Journal of Diseases of Children* 88 (5) (November): 596–603.
- Gibbs, Frederic Andrews, und Erna Leonhardt Gibbs. 1952. *Atlas of electroencephalography*. Addison-Wesley Pub. Co.
- Greenberg, David A, Eftihia Cayanis, Lisa Strug, Sudhir Marathe, Martina Durner, Deb K Pal, Gabriele B Alvin, u. a. 2005. „Malic enzyme 2 may underlie susceptibility to adolescent-onset idiopathic generalized epilepsy“. *American Journal of Human Genetics* 76 (1) (Januar): 139–146. doi:10.1086/426735.
- H. Grensemann. 1968. *Die hippokratische Schrift „Über die heilige Krankheit.“* Walter de Bruyter & Co.
- Hannes, F D, A J Sharp, H C Mefford, T de Ravel, C A Ruivenkamp, M H Breuning, J-P Fryns, u. a. 2009. „Recurrent reciprocal deletions and duplications of 16p13.11: the deletion is a risk factor for MR/MCA while the duplication may be a rare benign variant“. *Journal of Medical Genetics* 46 (4) (April): 223–232. doi:10.1136/jmg.2007.055202.



- Harkin, Louise A, Jacinta M McMahon, Xenia Iona, Leanne Dibbens, James T Pelekanos, Sameer M Zuberi, Lynette G Sadleir, u. a. 2007. „The spectrum of SCN1A-related infantile epileptic encephalopathies“. *Brain: A Journal of Neurology* 130 (Pt 3) (März): 843–852. doi:10.1093/brain/awm002.
- Hauser, W A, J F Annegers, und L T Kurland. 1993. „Incidence of epilepsy and unprovoked seizures in Rochester, Minnesota: 1935-1984“. *Epilepsia* 34 (3) (Juni): 453–468.
- Heinzen, Erin L, Rodney A Radtke, Thomas J Urban, Gianpiero L Cavalleri, Chantal Depondt, Anna C Need, Nicole M Walley, u. a. 2010. „Rare deletions at 16p13.11 predispose to a diverse spectrum of sporadic epilepsy syndromes“. *American Journal of Human Genetics* 86 (5) (Mai 14): 707–718. doi:10.1016/j.ajhg.2010.03.018.
- Helbig, Ingo, Heather C Mefford, Andrew J Sharp, Michel Guipponi, Marco Fichera, Andre Franke, Hiltrud Muhle, u. a. 2009. „15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy“. *Nature Genetics* 41 (2) (Februar): 160–162. doi:10.1038/ng.292.
- Helbig, Ingo, Ingrid E Scheffer, John C Mulley, und Samuel F Berkovic. 2008. „Navigating the channels and beyond: unravelling the genetics of the epilepsies“. *Lancet Neurology* 7 (3) (März): 231–245. doi:10.1016/S1474-4422(08)70039-5.
- Hemminki, Kari, Xinjun Li, Sven-Erik Johansson, Kristina Sundquist, und Jan Sundquist. 2006. „Familial risks for epilepsy among siblings based on hospitalizations in Sweden“. *Neuroepidemiology* 27 (2): 67–73. doi:10.1159/000094976.
- Hogan, R Edward, und Kitti Kaiboriboon. 2003. „The ‚dreamy state‘: John Hughlings-Jackson’s ideas of epilepsy and consciousness“. *The American Journal of Psychiatry* 160 (10) (Oktober): 1740–1747.
- ILAE. 1981. „Proposal for revised clinical and electroencephalographic classification of epileptic seizures. From the Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy“. *Epilepsia* 22 (4) (August): 489–501.
- ILAE. 1985. „Proposal for classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy“. *Epilepsia* 26 (3) (Juni): 268–278.
- ILAE. 1989. „Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. Commission on Classification and Terminology of the International League Against Epilepsy“. *Epilepsia* 30 (4) (August): 389–399.
- Itsara, Andy, Gregory M Cooper, Carl Baker, Santhosh Girirajan, Jun Li, Devin Absher, Ronald M Krauss, u. a. 2009. „Population analysis of large copy number variants and hotspots of human genetic disease“. *American Journal of Human Genetics* 84 (2) (Februar): 148–161. doi:10.1016/j.ajhg.2008.12.014.
- Jallon, P, P Loiseau, und J Loiseau. 2001. „Newly diagnosed unprovoked epileptic seizures: presentation at diagnosis in CAROLE study. Coordination Active du Réseau Observatoire Longitudinal de l’Epilepsie“. *Epilepsia* 42 (4) (April): 464–475.
- Jallon, Pierre, und Patrick Latour. 2005. „Epidemiology of idiopathic generalized epilepsies“. *Epilepsia* 46 Suppl 9: 10–14. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.00309.x.
- Janz, D. 1985. „Epilepsy with impulsive petit mal (juvenile myoclonic epilepsy)“. *Acta Neurologica Scandinavica* 72 (5) (November): 449–459.
- Janz, Dieter. 1969. *Die Epilepsien: spezielle Pathologie und Therapie*. Thieme.
- Ji, Y, E E Eichler, S Schwartz, und R D Nicholls. 2000. „Structure of chromosomal duplicons and their role in mediating human genomic disorders“. *Genome Research* 10 (5) (Mai): 597–610.
- Kananura, Colette, Karsten Haug, Thomas Sander, Uwe Runge, Wenli Gu, Kerstin Hallmann, Johannes Rebstock, Armin Heils, und Ortrud K Steinlein. 2002. „A splice-site mutation in GABRG2 associated with childhood absence epilepsy and febrile convulsions“. *Archives of Neurology* 59 (7) (Juli): 1137–1141.
- Kapoor, Ashish, Parthasarathy Satishchandra, Rinki Ratnapriya, Ramesh Reddy, Jayaram Kadandale, Susarla K Shankar, und Anuranjan Anand. 2008. „An idiopathic epilepsy syndrome linked to 3q13.3-q21 and missense mutations in the extracellular calcium sensing receptor gene“. *Annals of Neurology* 64 (2) (August): 158–167. doi:10.1002/ana.21428.
- Kellaway, P, R A Hrachovy, J D Frost Jr, und T Zion. 1979. „Precise characterization and quantification of infantile spasms“. *Annals of Neurology* 6 (3) (September): 214–218. doi:10.1002/ana.410060306.
- Kirov, George, Detelina Grozeva, Nadine Norton, Dobril Ivanov, Kiran K Mantripragada, Peter Holmans, Nick Craddock, Michael J Owen, und Michael C O’Donovan. 2009. „Support for the involvement of large copy number variants in the pathogenesis of schizophrenia“. *Human Molecular Genetics* 18 (8) (April 15): 1497–1503. doi:10.1093/hmg/ddp043.

- Kitamura, Kunio, Masako Yanazawa, Noriyuki Sugiyama, Hirohito Miura, Akiko Iizuka-Kogo, Masatomo Kusaka, Kayo Omichi, u. a. 2002. „Mutation of ARX causes abnormal development of forebrain and testes in mice and X-linked lissencephaly with abnormal genitalia in humans“. *Nature Genetics* 32 (3) (November): 359–369. doi:10.1038/ng1009.
- Kjeldsen, Marianne Juel, Linda A Corey, Kaare Christensen, und Mogens Laue Friis. 2003. „Epileptic seizures and syndromes in twins: the importance of genetic factors“. *Epilepsy Research* 55 (1–2) (Juli): 137–146.
- Knoll, J H, R D Nicholls, R E Magenis, J M Graham Jr, M Lalonde, und S A Latt. 1989. „Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome 15 deletion but differ in parental origin of the deletion“. *American Journal of Medical Genetics* 32 (2) (Februar): 285–290. doi:10.1002/ajmg.1320320235.
- Koehler, P J. 1994. „Brown-Séquard’s spinal epilepsy.“ *Medical History* 38 (2) (April): 189–203.
- de Kovel, Carolien G F, Holger Trucks, Ingo Helbig, Heather C Mefford, Carl Baker, Costin Leu, Christian Kluck, u. a. 2010. „Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies“. *Brain: A Journal of Neurology* 133 (Pt 1) (Januar): 23–32. doi:10.1093/brain/awp262.
- Kumar, Ravinesh A, Samer KaraMohamed, Jyotsna Sudi, Donald F Conrad, Camille Brune, Judith A Badner, T Conrad Gilliam, u. a. 2008. „Recurrent 16p11.2 microdeletions in autism“. *Human Molecular Genetics* 17 (4) (Februar 15): 628–638. doi:10.1093/hmg/ddm376.
- Landau, W M, und F R KLEFFNER. 1957. „Syndrome of acquired aphasia with convulsive disorder in children“. *Neurology* 7 (8) (August): 523–530.
- Lee, Jennifer A., und James R. Lupski. 2006. „Genomic Rearrangements and Gene Copy-Number Alterations as a Cause of Nervous System Disorders“. *Neuron* 52 (1) (Oktober 5): 103–121. doi:10.1016/j.neuron.2006.09.027.
- Lennox, W G. 1951. „The heredity of epilepsy as told by relatives and twins“. *Journal of the American Medical Association* 146 (6) (Juni 9): 529–536.
- Lennox, William Gordon. 1960. *Epilepsy and related disorders*. Little, Brown.
- Li, Mingyao, Pelin Atmaca-Sonmez, Mohammad Othman, Kari E H Branham, Ritu Khanna, Michael S Wade, Yun Li, u. a. 2006. „CFH haplotypes without the Y402H coding variant show strong association with susceptibility to age-related macular degeneration“. *Nature Genetics* 38 (9) (September): 1049–1054. doi:10.1038/ng1871.
- Livak, K J, und T D Schmittgen. 2001. „Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method“. *Methods (San Diego, Calif.)* 25 (4) (Dezember): 402–408. doi:10.1006/meth.2001.1262.
- Loiseau, P, und B Duché. 1989. „Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes“. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 56 Suppl Pt 1: S17–22; discussion S40–42.
- Loiseau, P, M Pestre, J F Dartigues, D Commenges, C Barberger-Gateau, und S Cohadon. 1983. „Long-term prognosis in two forms of childhood epilepsy: typical absence seizures and epilepsy with rolandic (centrotemporal) EEG foci“. *Annals of Neurology* 13 (6) (Juni): 642–648. doi:10.1002/ana.410130610.
- Marshall, Christian R, Abdul Noor, John B Vincent, Anath C Lionel, Lars Feuk, Jennifer Skaug, Mary Shago, u. a. 2008. „Structural variation of chromosomes in autism spectrum disorder“. *American Journal of Human Genetics* 82 (2) (Februar): 477–488. doi:10.1016/j.ajhg.2007.12.009.
- Martin, Melinda S, Karoni Dutt, Ligia A Papale, Céline M Dubé, Stacey B Dutton, Georgius de Haan, Anupama Shankar, u. a. 2010. „Altered function of the SCN1A voltage-gated sodium channel leads to gamma-aminobutyric acid-ergic (GABAergic) interneuron abnormalities“. *The Journal of Biological Chemistry* 285 (13) (März 26): 9823–9834. doi:10.1074/jbc.M109.078568.
- Mefford, Heather C, und Evan E Eichler. 2009. „Duplication hotspots, rare genomic disorders, and common disease“. *Current Opinion in Genetics & Development* 19 (3) (Juni): 196–204. doi:10.1016/j.gde.2009.04.003.
- Mefford, Heather C, Andrew J Sharp, Carl Baker, Andy Itsara, Zhaoshi Jiang, Karen Buysse, Shuwen Huang, u. a. 2008. „Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes“. *The New England Journal of Medicine* 359 (16) (Oktober 16): 1685–1699. doi:10.1056/NEJMoa0805384.
- Millar, J, Kirsty, Julie C. Wilson-Annan, Susan Anderson, Sheila Christie, Martin S. Taylor, Colin A. M. Semple, Rebecca S. Devon, u. a. 2000. „Disruption of Two Novel Genes by a Translocation Co-segregating with Schizophrenia“. *Human Molecular Genetics* 9 (9) (Mai 22): 1415–1423. doi:10.1093/hmg/9.9.1415.

- Miller, D T, Y Shen, L A Weiss, J Korn, I Anselm, C Bridgemohan, G F Cox, u. a. 2009. „Microdeletion/duplication at 15q13.2q13.3 among individuals with features of autism and other neuropsychiatric disorders“. *Journal of Medical Genetics* 46 (4) (April): 242–248. doi:10.1136/jmg.2008.059907.
- Moeller, Friederike, Pierre LeVan, Hiltrud Muhle, Ulrich Stephani, Francois Dubeau, Michael Siniatchkin, und Jean Gotman. 2010. „Absence seizures: individual patterns revealed by EEG-fMRI“. *Epilepsia* 51 (10) (Oktober): 2000–2010. doi:10.1111/j.1528-1167.2010.02698.x.
- Mulley, John C, und Leanne M Dibbens. 2009. „Chipping away at the common epilepsies with complex genetics: the 15q13.3 microdeletion shows the way“. *Genome Medicine* 1 (3): 33. doi:10.1186/gm33.
- Mulley, John C, Ingrid E Scheffer, Steven Petrou, Leanne M Dibbens, Samuel F Berkovic, und Louise A Harkin. 2005. „SCN1A mutations and epilepsy“. *Human Mutation* 25 (6) (Juni): 535–542. doi:10.1002/humu.20178.
- Need, Anna C, Dongliang Ge, Michael E Weale, Jessica Maia, Sheng Feng, Erin L Heinzen, Kevin V Shianna, u. a. 2009. „A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia“. *PLoS Genetics* 5 (2) (Februar): e1000373. doi:10.1371/journal.pgen.1000373.
- Neubauer, B A, B Fiedler, B Himmelein, F Kämpfer, U Lässker, G Schwabe, I Spanier, u. a. 1998. „Centrotemporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14“. *Neurology* 51 (6) (Dezember): 1608–1612.
- Ohtahara, S. 1978. „Clinico-electrical delineation of epileptic encephalopathies in childhood“. *Asian Med J.*
- Ottman, R, J F Annegers, W A Hauser, und L T Kurland. 1989. „Seizure risk in offspring of parents with generalized versus partial epilepsy“. *Epilepsia* 30 (2) (April): 157–161.
- Pagnamenta, Alistair T, Kirsty Wing, Elham Sadighi Akha, Samantha J L Knight, Sven Bölte, Gabriele Schmötzer, Eftichia Duketis, u. a. 2009. „A 15q13.3 microdeletion segregating with autism“. *European Journal of Human Genetics: EJHG* 17 (5) (Mai): 687–692. doi:10.1038/ejhg.2008.228.
- Pal, Deb K, Oleg V Evgrafov, Paula Tabares, Fengli Zhang, Martina Durner, und David A Greenberg. 2003. „BRD2 (RING3) is a probable major susceptibility gene for common juvenile myoclonic epilepsy“. *American Journal of Human Genetics* 73 (2) (August): 261–270. doi:10.1086/377006.
- Panayiotopoulos, C P, T Obeid, und G Waheed. 1989. „Differentiation of typical absence seizures in epileptic syndromes. A video EEG study of 224 seizures in 20 patients“. *Brain: A Journal of Neurology* 112 ( Pt 4) (August): 1039–1056.
- Panayiotopoulos, Chrysostomos P. 2005. *The epilepsies: seizures, syndromes and management: based on the ILAE classifications and practice parameter guidelines*. Bladon Medical Publishing.
- Paquier, P F, H R Van Dongen, und C B Loonen. 1992. „The Landau-Kleffner syndrome or ‚acquired aphasia with convulsive disorder‘. Long-term follow-up of six children and a review of the recent literature“. *Archives of Neurology* 49 (4) (April): 354–359.
- Pawlisz, A. S., C. Mutch, A. Wynshaw-Boris, A. Chenn, C. A. Walsh, und Y. Feng. 2008. „Lis1-Nde1-dependent neuronal fate control determines cerebral cortical size and lamination“. *Human Molecular Genetics* 17 (16) (Mai 7): 2441–2455. doi:10.1093/hmg/ddn144.
- Pembrey, M, S J Fennell, J van den Berghe, M Fitchett, D Summers, L Butler, C Clarke, M Griffiths, E Thompson, und M Super. 1989. „The association of Angelman’s syndrome with deletions within 15q11-13“. *Journal of Medical Genetics* 26 (2) (Februar): 73–77.
- Penfield, Wilder, Herbert Henri Jasper, und Francis McNaughton. 1954. *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain*. J. and A. Churchill.
- Pollin, Toni I, Coleen M Damcott, Haiqing Shen, Sandra H Ott, John Shelton, Richard B Horenstein, Wendy Post, u. a. 2008. „A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection“. *Science (New York, N.Y.)* 322 (5908) (Dezember 12): 1702–1705. doi:10.1126/science.1161524.
- Reid, Christopher A, Samuel F Berkovic, und Steven Petrou. 2009. „Mechanisms of human inherited epilepsies“. *Progress in Neurobiology* 87 (1) (Januar 12): 41–57. doi:10.1016/j.pneurobio.2008.09.016.
- Risch, N. 1990. „Linkage strategies for genetically complex traits. I. Multilocus models“. *American Journal of Human Genetics* 46 (2) (Februar): 222–228.
- Roger, Joseph, Michelle Bureau, Charlotte Dravet, und Pierre Genton. 2005. *Epileptic syndromes in infancy, childhood and adolescence*. John Libbey Eurotext.

- Samonte, Rhea Vallente, und Evan E Eichler. 2002. „Segmental duplications and the evolution of the primate genome“. *Nature Reviews. Genetics* 3 (1) (Januar): 65–72. doi:10.1038/nrg705.
- Schieder, Wolfgang, Alexander von Schwerin, Susanne Heim, Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften, Doris Kaufmann, und Reinhard Rürup. 2000. *Geschichte der Kaiser-wilhelm-gesellschaft im Nationalsozialismus*. Wallstein Verlag.
- Schizophrenia Consortium. 2008. „Rare chromosomal deletions and duplications increase risk of schizophrenia“. *Nature* 455 (7210) (September 11): 237–241. doi:10.1038/nature07239.
- Sebat, Jonathan, B Lakshmi, Jennifer Troge, Joan Alexander, Janet Young, Pär Lundin, Susanne Månér, u. a. 2004. „Large-scale copy number polymorphism in the human genome“. *Science (New York, N.Y.)* 305 (5683) (Juli 23): 525–528. doi:10.1126/science.1098918.
- Sharp, Andrew J. 2009. „Emerging themes and new challenges in defining the role of structural variation in human disease“. *Human Mutation* 30 (2) (Februar): 135–144. doi:10.1002/humu.20843.
- Sharp, Andrew J, Devin P Locke, Sean D McGrath, Ze Cheng, Jeffrey A Bailey, Rhea U Vallente, Lisa M Pertz, u. a. 2005. „Segmental duplications and copy-number variation in the human genome“. *American Journal of Human Genetics* 77 (1) (Juli): 78–88. doi:10.1086/431652.
- Sharp, Andrew J, Heather C Mefford, Kelly Li, Carl Baker, Cindy Skinner, Roger E Stevenson, Richard J Schroer, u. a. 2008. „A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures“. *Nature Genetics* 40 (3) (März): 322–328. doi:10.1038/ng.93.
- Shaw, Christine J, Weimin Bi, und James R Lupski. 2002. „Genetic proof of unequal meiotic crossovers in reciprocal deletion and duplication of 17p11.2“. *American Journal of Human Genetics* 71 (5) (November): 1072–1081. doi:10.1086/344346.
- Shaw, Christine J, und James R Lupski. 2005. „Non-recurrent 17p11.2 deletions are generated by homologous and non-homologous mechanisms“. *Human Genetics* 116 (1-2) (Januar): 1–7. doi:10.1007/s00439-004-1204-9.
- da Silva, E A, D C Chugani, O Muzik, und H T Chugani. 1997. „Landau-Kleffner syndrome: metabolic abnormalities in temporal lobe are a common feature“. *Journal of Child Neurology* 12 (8) (November): 489–495.
- Singh, R, I E Scheffer, K Crossland, und S F Berkovic. 1999. „Generalized epilepsy with febrile seizures plus: a common childhood-onset genetic epilepsy syndrome“. *Annals of Neurology* 45 (1) (Januar): 75–81.
- Sladek, Robert, Ghislain Rocheleau, Johan Rung, Christian Dina, Lishuang Shen, David Serre, Philippe Boutin, u. a. 2007. „A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes“. *Nature* 445 (7130) (Februar 22): 881–885. doi:10.1038/nature05616.
- Slavotinek, Anne M. 2008. „Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays“. *Human Genetics* 124 (1) (August): 1–17. doi:10.1007/s00439-008-0513-9.
- Smyth, Deborah J, Jason D Cooper, Rebecca Bailey, Sarah Field, Oliver Burren, Luc J Smink, Cristian Guja, u. a. 2006. „A genome-wide association study of nonsynonymous SNPs identifies a type 1 diabetes locus in the interferon-induced helicase (IFIH1) region“. *Nature Genetics* 38 (6) (Juni): 617–619. doi:10.1038/ng1800.
- Solinas-Toldo, S, S Lampel, S Stilgenbauer, J Nickolenko, A Benner, H Döhner, T Cremer, und P Lichter. 1997. „Matrix-based comparative genomic hybridization: biochips to screen for genomic imbalances“. *Genes, Chromosomes & Cancer* 20 (4) (Dezember): 399–407.
- Stefansson, Hreinn, Dan Rujescu, Sven Cichon, Olli P H Pietiläinen, Andres Ingason, Stacy Steinberg, Ragnheidur Fossdal, u. a. 2008. „Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia“. *Nature* 455 (7210) (September 11): 232–236. doi:10.1038/nature07229.
- Steinlein, O K, J C Mulley, P Propping, R H Wallace, H A Phillips, G R Sutherland, I E Scheffer, und S F Berkovic. 1995. „A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy“. *Nature Genetics* 11 (2) (Oktober): 201–203. doi:10.1038/ng1095-201.
- Steinlein, Ortrud K. 2004. „Genetic mechanisms that underlie epilepsy“. *Nature Reviews. Neuroscience* 5 (5) (Mai): 400–408. doi:10.1038/nrn1388.
- Strømme, Petter, Marie E Mangelsdorf, Ingrid E Scheffer, und Jozef Gécz. 2002. „Infantile spasms, dystonia, and other X-linked phenotypes caused by mutations in Aristaless related homeobox gene, ARX“. *Brain & Development* 24 (5) (August): 266–268.
- Suzuki, Toshimitsu, Antonio V Delgado-Escueta, Kripamoy Aguan, Maria E Alonso, Jun Shi, Yuji Hara, Motohiro Nishida, u. a. 2004. „Mutations in EFHC1 cause juvenile myoclonic epilepsy“. *Nature Genetics* 36 (8) (August): 842–849. doi:10.1038/ng1393.

- Tan, Nigel C K, John C Mulley, und Samuel F Berkovic. 2004. „Genetic association studies in epilepsy: ‚the truth is out there““. *Epilepsia* 45 (11) (November): 1429–1442. doi:10.1111/j.0013-9580.2004.22904.x.
- Tanaka, Miyabi, Richard W Olsen, Marco T Medina, Emily Schwartz, Maria Elisa Alonso, Reyna M Duron, Ramon Castro-Ortega, u. a. 2008. „Hyperglycosylation and reduced GABA currents of mutated GABRB3 polypeptide in remitting childhood absence epilepsy“. *American Journal of Human Genetics* 82 (6) (Juni): 1249–1261. doi:10.1016/j.ajhg.2008.04.020.
- The Lancet Neurology. 2010. „Epilepsy must become a higher priority in Europe“. *Lancet Neurology* 9 (10) (Oktober): 941. doi:10.1016/S1474-4422(10)70226-X.
- Tissot, S. A., und Joh. Ge Krünitz. 1771. *Abhandlung von der Epilepsie oder fallenden Sucht*. Haude u. Spener.
- Todd, John A, Neil M Walker, Jason D Cooper, Deborah J Smyth, Kate Downes, Vincent Plagnol, Rebecca Bailey, u. a. 2007. „Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes“. *Nature Genetics* 39 (7) (Juli): 857–864. doi:10.1038/ng2068.
- Ullmann, Reinhard, Gillian Turner, Maria Kirchhoff, Wei Chen, Bruce Tonge, Carla Rosenberg, Michael Field, u. a. 2007. „Array CGH identifies reciprocal 16p13.1 duplications and deletions that predispose to autism and/or mental retardation“. *Human Mutation* 28 (7) (Juli): 674–682. doi:10.1002/humu.20546.
- Urban, Alexander Eckehart, Jan O Korb, Rebecca Selzer, Todd Richmond, April Hacker, George V Popescu, Joseph F Cubells, u. a. 2006. „High-resolution mapping of DNA copy alterations in human chromosome 22 using high-density tiling oligonucleotide arrays“. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103 (12) (März 21): 4534–4539. doi:10.1073/pnas.0511340103.
- Vadlamudi, L, E Andermann, C T Lombroso, S C Schachter, R L Milne, J L Hopper, F Andermann, und S F Berkovic. 2004. „Epilepsy in twins: insights from unique historical data of William Lennox“. *Neurology* 62 (7) (April 13): 1127–1133.
- Veggiotti, P, F Beccaria, R Guerrini, G Capovilla, und G Lanzi. 1999. „Continuous spike-and-wave activity during slow-wave sleep: syndrome or EEG pattern?“ *Epilepsia* 40 (11) (November): 1593–1601.
- de Vries, Bert B A, Rolph Pfundt, Martijn Leisink, David A Koolen, Lisenka E L M Vissers, Irene M Janssen, Simon van Reijmersdal, u. a. 2005. „Diagnostic genome profiling in mental retardation“. *American Journal of Human Genetics* 77 (4) (Oktober): 606–616. doi:10.1086/491719.
- Wallace, R H, C Marini, S Petrou, L A Harkin, D N Bowser, R G Panchal, D A Williams, u. a. 2001. „Mutant GABA(A) receptor gamma2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures“. *Nature Genetics* 28 (1) (Mai): 49–52. doi:10.1038/88259.
- Wang, D G, J B Fan, C J Siao, A Berno, P Young, R Sapolsky, G Ghandour, u. a. 1998. „Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome“. *Science (New York, N.Y.)* 280 (5366) (Mai 15): 1077–1082.
- Weiss, Lauren A, Yiping Shen, Joshua M Korn, Dan E Arking, David T Miller, Ragnheidur Fossdal, Evald Saemundsen, u. a. 2008. „Association between microdeletion and microduplication at 16p11.2 and autism“. *The New England Journal of Medicine* 358 (7) (Februar 14): 667–675. doi:10.1056/NEJMoa075974.
- Wellcome Trust Case Control Consortium. 2007. „Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls“. *Nature* 447 (7145) (Juni 7): 661–678. doi:10.1038/nature05911.
- West, W. J. 1841. „On a peculiar form of infantile convulsions“. *The Lancet* 35 (911) (Februar 13): 724–725. doi:10.1016/S0140-6736(00)40184-4.
- Williams, C A, B A Gray, J E Hendrickson, J W Stone, und E S Cantú. 1989. „Incidence of 15q deletions in the Angelman syndrome: a survey of twelve affected persons“. *American Journal of Medical Genetics* 32 (3) (März): 339–345. doi:10.1002/ajmg.1320320313.
- Winawer, M R, C Marini, B E Grinton, D Rabinowitz, S F Berkovic, I E Scheffer, und R Ottman. 2005. „Familial clustering of seizure types within the idiopathic generalized epilepsies“. *Neurology* 65 (4) (August 23): 523–528. doi:10.1212/01.wnl.0000172920.34994.63.
- Winawer, M R, D Rabinowitz, T A Pedley, W A Hauser, und R Ottman. 2003. „Genetic influences on myoclonic and absence seizures“. *Neurology* 61 (11) (Dezember 9): 1576–1581.
- Winawer, Melodie R, und Shlomo Shinnar. 2005. „Genetic epidemiology of epilepsy or what do we tell families?“ *Epilepsia* 46 Suppl 10: 24–30. doi:10.1111/j.1528-1167.2005.00354.x.

## 7. Anhang

### 7.1 PCR-Protokoll

5 µl ABI-Mix (TaqMan® Genotyping Master Mix)

0,5 µl RNase P (als Referenz)

0,17 µl Assay

4,33 µl Wasser

= 10µl

### 7.2 Primersequenzen

#### 7.2.1 CHRNA7

```

5' gagggacctggtaaagcttattccatcacccctggccacctgtgcatggtt 3'
5' acttgggtcccacctttctctcagggttagaaactcaagcatcctgagctg 3'
5' ggactcagtagcaagaacaggtgaagttcactttttaatctcccttatgg 3'
5' tghtaagtgtgacttgcattccagcattgtcaatttagccacttctagac 3'
5' ttttctgcccgcctatggatgtaacttctttggggggcctggccctga 3'
5' gctttgcagctggcgaatctatccaggcagagggcaagagggccagctgt 3'
5' gaactttcactgtgacccccatcttaggaatgggcatgctttgccttctg 3'
5' gtgaggacaggtactgggagtcctgctccgaggactcagggttccccgtc 3'
5' aggaatacatgtgtctgtccctccaggcagctgccatcagttccgtgggt 3'
5' ctcttgcccttgccagccttgctagtgccacttcagttagccaatctgtgt 3'
5' aaacttgccctattggttccctctatgctgctttggatattcaatattcatgg 3'
5' tatattctccatacaatacaaaacttcacacaagtgtttaattcattat 3'
5' aagtgggtttgggtgtcttgtctatacggagtatcggattctattgtggag 3'
5' caccctggagtgtggcaggggtggggcacagggataataatgttcattggg 3'
5' agggagagcatgatgggaaagaggtgagagaatagccacaattactgggt 3'
5' aaaaaagaaatagtgctaagagctacctggcaaagtggaaaaaggtaaga 3'
5' ggtgatatttcataatcctacaaataaacagttacccgactatcatggt 3'
5' gatgaatggtatatcacttaacctagttaaaattgccatcatacattgcc 3'
5' tcctttccaacgctacactcgctcaaagtgttcttctcctacagaca 3'
5' gaatcatgctttaaaatattgaatgtatgtgatgatgtggaaaagtta 3'
5' tcatgagaagagctgtaggggaaggcaggttcagctctcatgtgttgcaga 3'
5' gcagcaaaagttgctgtttatggagcagttcctcagttgctttaagagc 3'
5' tcaggatttgtacttgggatcttcgggtgggttctgtctgtgttggtttct 3'
5' ggatggctgctgttaggtaagtttcttaagcatcttgagccttggctttc 3'
5' cggctaataaaaatgcacactgtcagtcattgtgatcaactaaagaatatg 3'
5' gaaacaacttgaagagaccttaaagctagatatgtgattatggtcatttt 3'
5' catgcagaaaccacatgaaaaaggaccaggcagcagagctaacacacccc 3'
5' gcaagtgggtgtgtgacaggggtgagaaaggacagtagccccctcttccc 3'
5' catttgtccaggggtca 3'

```

### 7.2.2 NDE1

```

5' gtaagtgagggcgctgcgcggggctggggctcg 3'
5' ggggtggctgtccggggacctccaccgcggtgaaaagctcctctgccccg 3'
5' ccccaggatcccgggaccccggggccaccgctggcagggacccctacgcc 3'
5' cctcgcttgcgcgctcgcttcccggcgccctggactcccccggtccctggg 3'
5' ctccaaaatcccgcctccctggagcctcccgtcctaaaaagttaggcact 3'
5' gagtgccttgccaccgggtgcgttcctcgcgctggccccctcgcccttgga 3'
5' actttgtttctctttctgcgttggctctctctcccaccccgttgccctctt 3'
5' ctcttcccgggacttccctgggtggttaagccttgccgggtccccaaacccc 3'
5' gctgccaggctccatcctcttctcctctctcctcctccccatactcctc 3'
5' tccctagatgacctcgtttcttttctctctctcctattcctccatcct 3'
5' gccaccgcttctctgcgaccccagacccctcgattgcagcgttgccccct 3'
5' gccctcacaccactgtcccggccctgcaggcctctttccaaaaacccac 3'
5' cctgctccctccctccgggaacacggttggggcagctgctctccgcttt 3'
5' gctcccgtctctgcgcgaggacgggtcagggttctctgacagcactttg 3'
5' gggagggattgggtaaaggacgaaaatgcttattccgcagccttgagtgat 3'
5' ggctgggctcactgaggacctgagtctctgaggctcctgggaaaccccgt 3'
5' gtcaccttgacaccgcttttggggaggcgactttatcttctccgagccat 3'
5' ctcaggcttctgcctcctgagggcctgagcttcttgattgctttgtcc 3'
5' gtggttactaccagggttgcctcttaatttctactttgagcctcaggcc 3'
5' ccttttaactttctaagaaaaggcctttgcagcacgacctaggcagggt 3'
5' catcatttttagttttgttatagtgtattctagcataggatggcatttta 3'
5' ggacatgggtcgggtgttttgaagattaattagatcccagctactcctaa 3'
5' agcctcttgttaccgagaccaccccagcctccatcacctcgttgggtataca 3'
5' acccggtttttttttttttttttttttgtttttgtttttgagacagagtctca 3'
5' ctctcgcccagggttgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtgagtg 3'
5' ccgcttcccgggttcaagcgattctcctgctcagcctccggagtagctg 3'
5' ggactacagggtgcgtgccaccacgcctggctaattttttgtatttttagt 3'
5' agagatgggggttaccggtgttagccaggatggctcagatttccctgacct 3'
5' cgtgatctgccccctcggcctcccaaagtgcctgggattacaggcgtgagc 3'
5' caccgtgcccgcctacaaccattttgagccttccctcttagtgtgtgtt 3'
5' ttgtgtaggattaaatgcagatgatctgtgccgctgaagtctcaggggcc 3'
5' tgtgattcatatattttatcccatgttggataaacagtttattaacttgac 3'
5' ttatttttgtttccaaagtgtgttattttattttattttattttatt 3'
5' ttgagacggagcttgttcttgtccaggctggagtgagtgagtgagtgagtg 3'
5' cgactcactgcaacctcagtcctccgggttcaagtgattcctctgcctca 3'
5' ccctcctgagtagctgggattacagggtgcgtgccaccatgcccggtaat 3'
5' tcttagtagagatggggtttc 3'

```

### 7.2.3 CYFIP1

```

5' gaacgtctcactaaataaaggctagatttaagag 3'
5' catctatttgattttttccaaaggaaaacgatgttaagagtggaagcaa 3'
5' aagcagttttacagcagtgatgacagtcctcttcccagtgactctctacc 3'
5' tagattttaagtgcgtgtggcgctgctcctaacttttccctcctgcacacc 3'
5' ggggctggcagccctgcctctagtccctctctgggaccgggaggccctgtg 3'
5' agccagtgaggaggccatggggatcctgtgtgtgctcacaccgggcaggg 3'
5' cgtctgccctgagcccttccctctgtgttccctaactgcaggctctcatggcc 3'
5' agcaggttgttgagggctgggtggagccaagggtgaacgcctgtggcacc 3'
5' cctcagagatgcctgcgtgtcactgacaccccctctcgctgcagaagcca 3'
5' tgggggtgttttgggtggtcatttggccccccagcgcgcacctcagtgct 3'
5' actagcttctggcagcgtctcttggcacacaggccacagtgcttaggat 3'
5' agtttgtggcgctttgtctggatttttagcaactggcatctgcttttcatg 3'
5' ctagttcccccgctgcctttgatgttgcctgtgttccattgcag 3'

```

## 8. Publikationen

- **Screening auf 15q13.3 Mikrodeletionen in Patienten mit Benigen Rolandoepilepsien und verwandten Syndromen**  
Tanja Obermeier, Ingo Helbig, Sarah von Spiczak, Yvonne Weber, Holger Lerche, Berndt Neubauer, Andre Franke, Stefan Schreiber, Ulrich Stephani, Hiltrud Muhle, Posterausstellung 35. Jahrestagung und 6. Fortbildungsakademie Graz, April 2009.
- **Familial and sporadic 15q13.3 microdeletions in idiopathic generalized epilepsy: precedent for disorders with complex inheritance.**  
Dibbens LM, Mullen S, Helbig I, Mefford HC, Bayly MA, Bellows S, Leu C, Trucks H, Obermeier T, Wittig M, Franke A, Caglayan H, Yapici Z; EPICURE Consortium, Sander T, Eichler EE, Scheffer IE, Mulley JC, Berkovic SF., Hum Mol Genet. 2009 Oct
- **Recurrent microdeletions at 15q11.2 and 16p13.11 predispose to idiopathic generalized epilepsies.**  
de Kovel CG, Trucks H, Helbig I, Mefford HC, Baker C, Leu C, Kluck C, Muhle H, von Spiczak S, Ostertag P, Obermeier T, Kleefuss-Lie AA, Hallmann K, Steffens M, Gaus V, Klein KM, Hamer HM, Rosenow F, Brilstra EH, Trenité DK, Swinkels ME, Weber YG, Unterberger I, Zimprich F, Urak L, Feucht M, Fuchs K, Møller RS, Hjalgrim H, De Jonghe P, Suls A, Rückert IM, Wichmann HE, Franke A, Schreiber S, Nürnberg P, Elger CE, Lerche H, Stephani U, Koeleman BP, Lindhout D, Eichler EE, Sander T., Brain. 2010 Jan.
- **Absence seizures with intellectual disability as a phenotype of the 15q13.3 microdeletion syndrome.**  
Muhle H, Mefford HC, Obermeier T, von Spiczak S, Eichler EE, Stephani U, Sander T, Helbig I., Epilepsia. 2011 Dec.
- **Iterative phenotyping of 15q11.2, 15q13.3 and 16p13.11 microdeletion carriers in pediatric epilepsies.**  
Jähn JA, von Spiczak S, Muhle H, Obermeier T, Franke A, Mefford HC, Stephani U, Helbig I. Epilepsy Res. 2014 Jan.



## 9. Danksagung

Ich danke

**Prof. Dr. U. Stephani** für die Möglichkeit, dass ich in seinem Team und seiner Abteilung meine Promotionsarbeit schreiben durfte, im Video-EEG arbeiten und lernen durfte, sowie für die Förderung meines beruflichen Werdeganges.

**Dr. Ingo Helbig** für die aufopferungsvolle Betreuung und geduldige Zusammenarbeit in Bezug auf meine oft selbstzweifelnden Fragen während der gesamten Zeit.

Den Mitarbeitern des **Neuropädiatrie Video-EEG's** für die Zusammenarbeit und den großen Teamgeist.

Dem **Institut für Klinische Molekularbiologie (IKMB)** der Universität Kiel für die molekulargenetischen Auswertungen meiner Promotionsarbeit und dafür, dass sie sich neben ihrer alltäglichen Arbeit die Zeit genommen haben, mich durch Erklärungen und Mithilfe zu unterstützen.

**Katrin Finsterwalder** dafür, dass sie mich immer aufgebaut hat und mir immer eine beste Freundin ist.

**meinen Eltern** dafür, dass sie mich immer unterstützt haben, jederzeit für mich da sind und dafür dass sie mir dieses Studium überhaupt erst ermöglicht haben.

## 10. Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Tanja Obermeier  
 Geburtsdatum: 29.11.1985  
 Geburtsort: Braunschweig  
 Familienstand: Ledig  
 Konfession: Evangelisch  
 Vater: Adolf Obermeier  
 Polizeibeamter  
 Mutter: Gudrun Obermeier, geb. Schmidt  
 Med.-techn. Radiologieassistentin

### Schulischer Werdegang

1992-1996 Erich-Kästner-Grundschule, Weddel  
 1996-2000 Jugenddorf-Christophorusschule, Braunschweig  
 2000-2005 Hochbegabtenförderzweig  
 Jugenddorf-Christophorusschule, Braunschweig  
 2005 Abitur

### Universitärer Werdegang

2005-2011 Studium der Humanmedizin  
 Christian-Albrechts-Universität, Kiel  
 2007 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
 01/2009 bis jetzt Promotionsarbeit  
 Klinik für Neuropädiatrie am UKSH, Kiel  
 2010-2011 Praktisches Jahr:  
 Westküstenklinikum Heide, Innere Medizin  
 Universitätsklinikum Kiel, Klinik für Orthopädie  
 Zuger Kantonsspital (Schweiz), Chirurgie  
 2011 Abschlussprüfung, Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### Beruflicher Werdegang

Seit 02.01.2012 Assistenzärztin für Orthopädie und Unfallchirurgie,  
 Herzogin-Elisabeth-Hospital, Braunschweig  
 Seit 01.04.2014 Als Assistenzärztin Rotation in die Unfallchirurgie,  
 Städtisches Klinikum, Holwedestraße, Braunschweig