

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

HINWEISE AUF GENETISCHE URSACHEN
KINDLICHER EEG-MUSTER DURCH DIE
STATISTISCHE ANALYSE
VON FAMILIENSTAMMBÄUMEN

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

vorgelegt von

JOERDIS BRIGITTA KNOTH
aus Hannover

Kiel 2015

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ulrich Stephani
2. Berichterstatter: Priv.- Doz. Dr. Nicolas Lang
Tag der mündlichen Prüfung: 19.01.2017

Joerdis Brigitta Knoth.

wohnhaft in: Windebyer Weg 20

24340 Eckernförde

Ehrenwörtliche Erklärung zu meiner Dissertation mit dem Titel:

„Hinweise auf genetische Ursachen kindlicher EEG-Muster durch die statistische Analyse von Familienstammbäumen“

Sehr geehrte Damen und Herren,

hiermit erkläre ich, dass ich die beigefügte Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Ich versichere außerdem, dass ich die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht habe und, dass diesem Promotionsverfahren keine endgültig gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Ort, Datum

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epilepsien im Kindes- und Jugendalter.....	1
1.1.1	Definition der Epilepsie	1
1.1.2	Bedeutung der Elektroenzephalographie	4
1.1.3	Geschichte des EEG.....	4
1.2	Epilepsie-assoziierte EEG-Muster im Kindes- und Jugendalter	5
1.2.1	Generalisierte spike and waves (Spitze und Welle Komplexe).....	5
1.2.2	Focal sharp-waves (Fokale scharfe Welle).....	8
1.2.3	Photoparoxysmale Reaktion	10
1.2.4	Theta-Rhythmen	11
1.3	Methoden zur genetischen Forschung.....	13
1.3.1	Epidemiologische Studien	13
1.4	Fragestellung	21
2	Material und Methoden	23
2.1	Das Familienarchiv der Klinik für Neuropädiatrie Kiel.....	23
2.2	Rekrutierung der Familien	23
2.2.1	Beurteilung und Auswertung der Elektroencephalographie	23
2.2.2	Kriterien der EEG-Muster.....	25
2.2.3	Rekrutierung der Familien	27
2.3	Statistik.....	29
2.3.1	Permutationsanalyse	30
2.3.2	Logistische Regression:	34
3	Ergebnisse	36
3.1	Struktur der Kohorten.....	36
3.2	Demographische Daten	36
3.2.1	EEG-Muster	36
3.3	Statistische Ergebnisse	42
3.3.1	Permutationsanalyse in Kohorte 1:	42
3.3.2	Logistische Regressionsanalyse der Kohorte 2	44
3.3.3	Zweite Analyse der Kohorte 2	46
4	Diskussion	48

4.1	Generalisierte spike and waves	49
4.2	Focal sharp-waves	51
4.3	Photoparoxysmale Reaktion.....	55
4.4	Theta-Rhythmen.....	57
4.5	Alpha-EEG	60
4.6	Kombinationen der EEG- Muster	61
4.7	Permutationsanalyse.....	63
4.8	Logistische Regressionsanalyse	65
4.9	Vergleich von Kohorte 1 und 2	66
4.10	Limitationen der Arbeit	68
5	Zusammenfassung.....	69
6	Literaturliste	73
7	Danksagung.....	79
8	Veröffentlichung	80
9	Lebenslauf	80

1 Einleitung

Epileptische Anfälle treten im Kindesalter häufig auf. In der Kindheit erleiden 4% aller Kinder mindestens einen epileptischen Anfall.

Die experimentelle Epilepsieforschung hat in der Vergangenheit bereits das Verständnis der Krankheit wesentlich vergrößert und insbesondere mit Hilfe der Elektroenzephalographie die diagnostischen Möglichkeiten erweitert.

Es bestehen dennoch große Wissenslücken bezüglich der Vererbung der Erkrankung.

Mit dieser Arbeit zur Anwendung moderner statistisch-genetischer Methoden auf historische Kohorten soll ein Beitrag zum Verständnis der Genetik von häufigen EEG-Mustern geleistet werden, welcher helfen soll, die genetischen Grundlagen kindlicher Epilepsien besser zu begreifen.

1.1 Epilepsien im Kindes- und Jugendalter

1.1.1 Definition der Epilepsie

Epileptische Anfälle sind definiert als paroxysmale synchrone, exzessive Entladungen von Neuronengruppen im Gehirn, die zu einer plötzlichen unwillkürlichen stereotypen Verhaltens- oder Bewusstseinsstörung führen.¹

Durch Depolarisation der Nervenzellmembran entsteht ein Aktionspotential, welches durch Weiterleitung zu hochfrequenten Nervenzellentladungen führt.

Bei einem epileptischen Anfall zeigen die Neurone eine pathologisch verlängerte paroxysmale Depolarisation. Es kommt daher zu einer hochfrequenten Entladung von Aktionspotentialen und wenn ausreichend benachbarte Neurone ebenfalls betroffen sind zu charakteristischen Summenpotentialen die mittels Elektroenzephalographie ableitbar sind, sowie schließlich zu einem epileptischen Anfall.

Die Entladung der Nervenzellverbände kann sich räumlich und zeitlich ausbreiten, auf eine Hirnregion beschränken oder sich auf eine gesamte Hemisphäre ausdehnen.

Epileptische Anfälle können einzelne Ereignisse im Leben eines Kindes darstellen oder Symptom einer Epilepsie sein.

Patienten mit einer Epilepsie leiden definitionsgemäß unter nicht provozierten rezidivierenden epileptischen Anfällen.

Eine Einteilung von verschiedenen Klassen der Epilepsie basiert auf der Differenzierung zwischen symptomatischen und idiopathischen Epilepsien.

Symptomatische oder residuale Epilepsien sind durch epileptische Anfälle gekennzeichnet, die auf dem Boden einer exogenen Hirnschädigung während seiner Entwicklung oder als Ausdruck eines fortbestehenden neurologischen Prozesses begründet sind.²

Beispiele für eine solche Schädigung sind neben Anlagefehlern, Infektionen des zentralen Nervensystems (ZNS), zerebrale Traumata, prä- oder perinatale Hirnschädigungen im Sinne von Fetopathien sowie Stoffwechselstörungen und exogene Intoxikationen.

Bei den idiopathischen oder genuinen Epilepsien lässt sich außer typischen EEG-Mustern z. B. mit bildgebenden Verfahren, keine intrazerebrale Pathologie nachweisen. Vielmehr spielen hier eine genetische Disposition und die klinische Manifestation der Anfälle die wichtigste Rolle.

Eine dichotomische Einteilung der idiopathischen Epilepsien unterscheidet zwischen partiellen und generalisierten Anfällen in Hinblick auf Symptome und dem EEG.

Partielle oder auch fokale Anfälle haben ihren Ausgangspunkt in einem umschriebenen Areal (Fokus/Netzwerk von Neuronen) (ILAE 2010) einer Hirnregion auf einer Hemisphäre.

Die ersten Symptome eines Anfalls können z.T. Empfindungen sein, die Aura genannt werden und einen hohen Stellenwert in der Lokalisation des Herdes haben. Sie resultieren aus der neuronalen Aktivierung einer umschriebenen Hirnregion einer Hemisphäre.

Ist bei einem solchen Anfall das Bewusstsein getrübt und besteht für den Anfall eine Amnesie oder Konfusion spricht man von komplex fokalen Anfällen.

Auch ein fokaler Anfall kann sekundär das gesamte Hirn betreffen. Man spricht in diesem Zusammenhang von einem sekundär generalisierten Anfall.

Anhand der Klassifikation der ILAE unterscheidet man (ILAE Kommission 1997) fokale Anfälle wie folgt:

- Einfache fokale Anfälle (Bewusstsein ist erhalten):
 - Anfälle mit motorischen Symptomen
 - Anfälle mit sensiblen oder sensorischen Symptomen
 - Anfälle mit vegetativen Symptomen
 - Anfälle mit psychischen Symptomen
- Komplex-fokale Anfälle (mit Bewusstseinsstörung)
- Fokale Anfälle mit Entwicklung zu sekundär generalisierten Anfällen

Von einem primär generalisierten epileptischen Anfall spricht man, wenn die generalisierte neuronale Entladung primär beide Hemisphären betrifft.

Die motorischen Bewegungen des Körpers laufen bilateral ab und können sich in Form von tonischen, klonischen, tonisch-klonischen, myoklonischen und astatischen Anfallsphänomenen zeigen.

Die fast immer bestehende Bewusstseinsstörung hat ein unterschiedliches Ausmaß bis hin zur tiefen Bewusstlosigkeit.

Generalisierte Anfälle werden somit eingeteilt in:

- Generalisierte nicht-convulsive Anfälle (Absencen)
- Myoklonische Anfälle
- Klonische Anfälle
- Tonisch-klonische Anfälle
- Atonische (astatische Anfälle)

1.1.2 Bedeutung der Elektroenzephalographie

Die Elektroenzephalographie leitet sich vom griechischen Wort (encephalon) Gehirn und gráphein (schreiben) ab.

Hierbei wird eine summierte elektrische Aktivität des Gehirns durch Spannungsschwankungen an der Kopfoberfläche abgeleitet.

Das Elektroenzephalogramm (abgekürzt EEG) ist die grafische Darstellung dieser Schwankungen.

Ursache der Potentialschwankungen sind physiologische postsynaptische Vorgänge einzelner Neuronen, die durch ihre elektrischen Zustandsänderungen die Informationsverarbeitung des Gehirns ermöglichen. Die von einzelnen Neuronen einer Hirnregion erzeugten Potentiale addieren sich, so dass sich über den gesamten Kopf verteilte Potentialänderungen messen lassen.

1.1.3 Geschichte des EEG

Als Erstem gelang es Richard Caton 1875 Hirnstromwellen von Säugetieren abzuleiten.

Es dauerte lange, bis die Untersuchungen am menschlichen Gehirn weitergeführt wurden.

Erst 1924 führte Hans Berger die erste EEG-Ableitung am Menschen durch.

Dieses EEG wurde jedoch über ins Gehirn implantierte Nadelelektroden abgeleitet.

Ein Jahr später (1925) wurde das erste EEG am intakten Schädel aufgenommen.

In seinen weiteren Publikationen bis zum Jahre 1939 beschrieb Caton sämtliche physiologischen und pathologischen Merkmale des Enzephalogramms.³

In den folgenden Jahren und Jahrzehnten entstand eine Fülle von Beobachtungen über EEG-Veränderungen in Assoziation mit neurologischen Erkrankungen, so dass das EEG ein wichtiges diagnostisches Mittel in der Neurologie und insbesondere in der Epileptologie wurde.

Im Besonderen steht nun auch die Vererbung von EEG-Merkmalen im Mittelpunkt der epileptologischen Forschung.

Ein Verständnis der genetischen und molekularen Grundlagen wird als Schlüssel zum Verständnis der Pathologie dieser Erkrankungen gesehen.

1.2 Epilepsie-assoziierte EEG-Muster im Kindes- und Jugendalter

Verschiedene epilepsie-assoziierte EEG Muster lassen sich durch eine bestimmte Form, Frequenz und Amplitude unterscheiden.

Dabei ist bekannt, dass einige EEG-Merkmale gehäuft mit spezifischen Typen der Epilepsie assoziiert sind. Sie sind jedoch nicht spezifisch für eine bestimmte Epilepsie und sind in geringen Fallzahlen auch bei gesunden Kindern zu finden.

Kriterien, die bei der Beurteilung des kindlichen EEGs beachtet werden müssen sind zum einen eine inter- und intraindividuelle Variabilität der EEG-Muster in Bezug auf das Alter des Kindes aber auch eine Instabilität der fokalen Befunde im kindlichen EEG.

Außerdem entstehen kurzzeitige EEG Veränderungen und eine Verschlechterung der Grundkrankheit eines Kindes durch Infekte.

Im Weiteren werden die verschiedenen, für Epilepsien im Kinder- und Jugendalter relevanten, idiopathischen EEG-Muster beschrieben.

1.2.1 Generalisierte spike and waves (Spitze und Welle Komplexe)

Als spike bezeichnet man ein bi- bis triphasisches Potential, mit spitzem Potentialgipfel, welches sich deutlich von der umgebenden Grundaktivität abhebt (...) und 20-70 ms dauert.⁴

Ein spike-wave Komplex zeichnet sich durch eine oben beschriebene spike aus, dem eine Welle mit stumpfem Potentialgipfel folgt. Es ist das am längsten bekannte epilepsietypische EEG-Merkmal.

Generalisierte spike-wave Komplexe sind Symptome bei primär generalisierten Epilepsien und kommen außerdem gehäuft bei Kindern mit Fieberkrämpfen vor. Sie sind bei Merkmalsträgern durch Hyperventilation oder Schlafentzug auslösbar.

Es müssen irreguläre und reguläre Komplexabfolgen differenziert werden.

Die regulären generalisierten spike-wave Komplexe bestehen aus regelmäßig aufeinander folgenden Komplexen mit einer Frequenz von 2,5-3,5/s. Die spikes und waves sind weitestgehend monomorph.

Bei Patienten mit Absencen werden aneinander gereihete spike-wave Komplexe als pathognomonisches EEG-Merkmal gefunden.

Eine Dauer der Komplexfolge von über 5 Sekunden in der EEG-Ableitung wird häufig von einer klinischen Absence begleitet. Diese zeigt sich klinisch in einem Innehalten der aktuellen Tätigkeit.

Das Kind hat einen starren Blick, die Augen sind nach oben gerichtet und halb geöffnet. Nach 5-20 Sekunden endet der Anfall, das Kind nimmt seine Tätigkeit wieder auf. Für die Dauer der Absence besteht eine Amnesie, das Bewusstsein ist dyskognitiv.

Irreguläre spike-wave Komplexe haben eine unregelmäßige Form, Frequenz und Amplitude. Man findet sie vermehrt bei juvenilen Epilepsien mit primär generalisierten tonisch-klonischen Anfällen (Aufwach-Epilepsie).

Gerken und Doose fanden in einer Kohorte von gesunden Kindern bei 1,8% der Probanden spike-wave Komplexe in Ruhe oder bei Hyperventilation.⁵

Die Vererbung des EEG-Merkmals steht bereits seit langem im Interesse der epileptologischen Forschung. So diskutierten Metrakos und Metrakos 1961 einen autosomal-dominanten Erbgang mit altersabhängiger Penetranz.⁶

Dies konnte von späteren Autoren nicht bestätigt werden. Vielmehr diskutiert die Literatur eine Heterogenität in der Vererbung des EEG Musters.

Nach heutigem Erkenntnisstand scheint es eine Häufung mit dem EEG-Merkmal spike-wave-Komplex bei Kindern von Patienten mit primär generalisierter Epilepsie zu geben. Das Geschlecht der Eltern spielt dabei keine Rolle.⁷

Weiterhin wird eine Häufung des EEG-Merkmals bei Geschwistern von Kindern mit spike-wave Komplexen beschrieben. Dabei besteht ein Zusammenhang des Auftretens des EEG Merkmals vom Alter des Kindes mit Häufigkeitsgipfel zwischen dem 3. und 6. sowie dem 13. und 15. Lebensjahr.⁵

Doose und Baier berichten von Theta- Rhythmen bei Kindern mit Fieberkrämpfen und späteren spontan auftretenden spike waves, sowie von einer Assoziation von spontanen spike-wave Komplexen mit photoparoxysmal induzierten spike-wave Komplexen.

Weiterhin besteht in der Literatur jedoch kein vermehrtes Auftreten von Theta-Rhythmen mit spike-wave Komplexen, welches einen Hinweis auf eine Heterogenität in der Vererbung der Spike-wave-Komplexe gibt.⁸

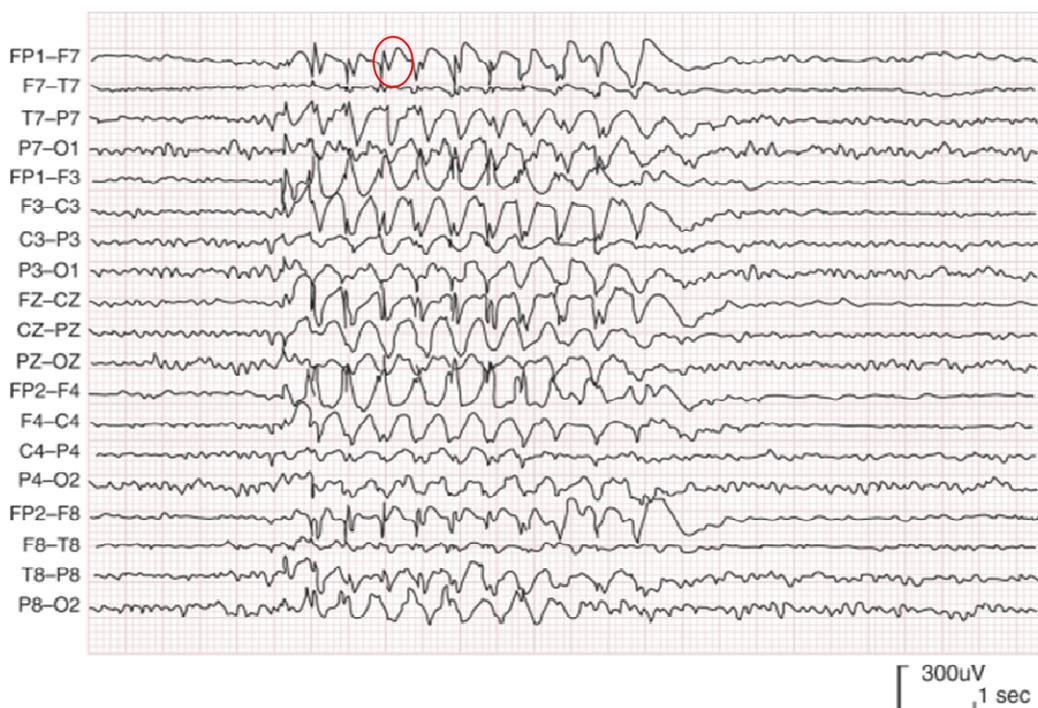


Abbildung 1³ **Typischer EEG Befund bei Absence Epilepsie.** *Markiert ist ein spike-wave Komplex. Das 3-Hz-Spitzen- und Wellenmuster bei einer Absence-Epilepsie entsteht typischerweise aus einem normalen EEG-Hintergrundrhythmus endet ebenso abrupt mit der Wiederaufnahme der normalen EEG-Aktivität. Häufig begleiten klinische Absenzen die generalisierten spike-waves.*

1.2.2 Focal sharp-waves (Fokale scharfe Wellen)

Eine scharfe Welle hat im Gegensatz zu einer Spitze einen stumpferen Potentialgipfel, ihre Hauptkomponente ist negativ. Die Dauer einer scharfen Welle beträgt laut Definition 70-200 ms.⁴

Sharp-waves sind das Musterbeispiel für fokale hypersynchrone Aktivität in lokalisierten Ableitungen.

Ein klassisches Beispiel für eine gutartige idiopathische fokale Epilepsie im Kindes- und Jugendalter ist die Rolando-Epilepsie. Sie ist eine der häufigsten kindlichen Epilepsieformen überhaupt und macht etwa 5-15 (20) % aller Epilepsien im Kindesalter aus.³

Gekennzeichnet ist diese Form von Epilepsie durch besonders nachts auftretende fokale Anfälle der zentro-temporalen Hirnregion.

Es handelt sich um sensomotorische fokale Anfälle mit unilateralen Parästhesien im Gesichts- und Mundbereich, einer Sprechunfähigkeit sowie Speichelfluss. Gelegentlich geht der Anfall in einen generalisiert tonisch-klonischen Anfall über.

Im EEG findet man charakteristischer Weise einen zentro-temporal gelegenen sharp-wave Herd. Diese bilden sich bei dieser Form der fokalen Epilepsien, wie auch die symptomatischen Anfälle, bis spätestens zur Pubertät zurück.

Aber auch bei gesunden Kindern findet man fokale sharp-waves. Die Inzidenz beträgt hier zwischen dem 2-10 Lebensjahr bis zu 2 %.⁵

Die ebenfalls in den 60iger Jahren postulierte autosomal dominante Vererbung mit altersabhängiger Penetranz durch Bray und Wisner konnte auch hier nicht von nachfolgenden Studien bestätigt werden.⁹

Wie bei den spike-wave Komplexen wird in Studien zur Vererbung der sharp-waves kein spezifischer Erbgang beschrieben.

Eine hohe Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen unterstreicht die Hypothese einer genetischen Komponente bei dem Auftreten von sharp-waves.¹⁰

In Familienstudien und Geschwisterstudien wurden sehr abweichende Häufigkeiten (13-36 % positive Geschwister) gefunden. Ein definitiver Erbgang konnte bis heute nicht gefunden werden.

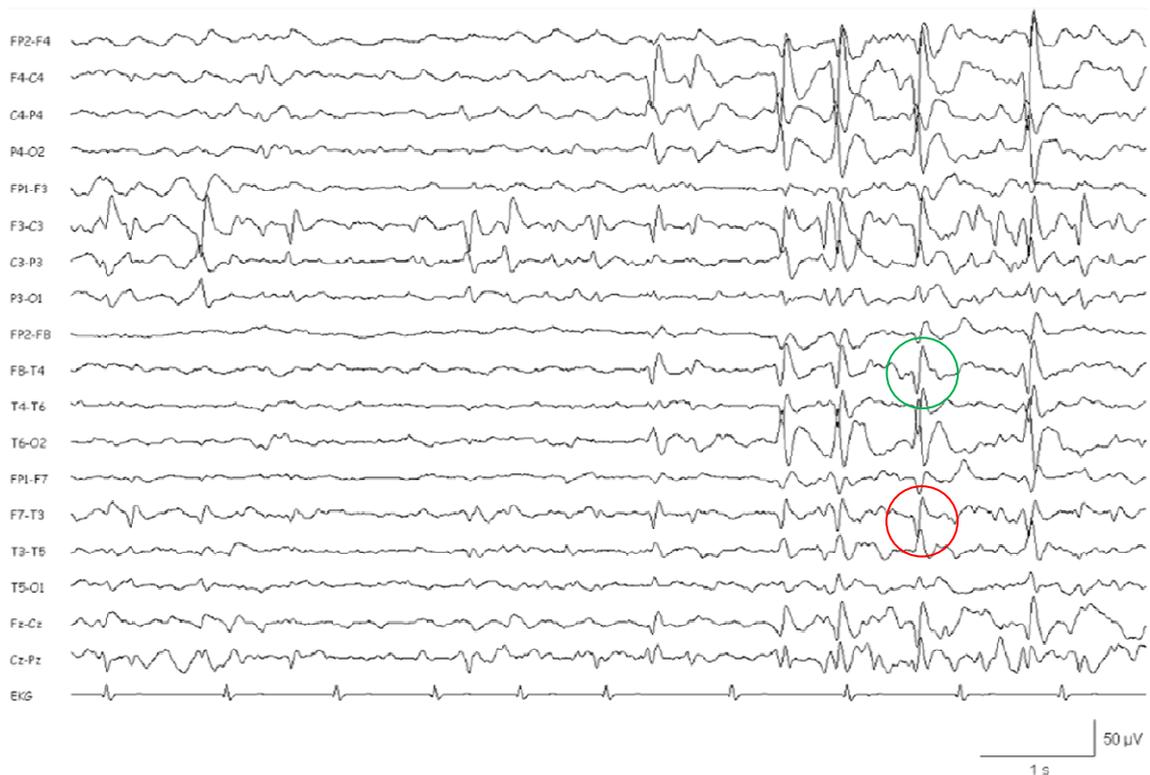


Abbildung 2¹¹ Typischer EEG Befund bei Rolando Epilepsie. Darstellung eines amplitudenhohen, unvollständig generalisierenden Sharp-Slow-Wave-Fokus zentro-temporal rechts (Ableitung F4-T4) (Markierung grün) sowie eines unabhängigen Fokus zentro-temporal links (Ableitung F3-T3) (Markierung rot)

1.2.3 Photoparoxysmale Reaktion

Bei der photoparoxysmalen Reaktion handelt es sich um eine pathologische Reaktion auf Photostimulation. Dabei schaut der Proband mit einem bestimmten Abstand von 20-30 cm auf eine Lichtquelle mit einer Blitzlichtfrequenz von 5-30 Hz.⁴

Bei positiver photoparoxysmaler Reaktion tritt hypersynchrone Aktivität typischer Weise in den hinteren Ableitungen auf. Sie kann auch die Stimulation überdauern und eine Tendenz zur Generalisierung haben. Man kann die Reaktion nach Walz in 4 Grade einteilen:⁵

Grad 1: okzipitale, zeitlich gekoppelte spikes.

Grad 2: parieto-okzipitale Spikes, die von einer biphasischen langsamen Welle gefolgt sind.

Grad 3: parieto-okzipitale Spikes, die von einer biphasischen langsamen Welle gefolgt sind mit Ausdehnung nach frontal.

Grad 4: generalisierte spike -wave und polyspike-wave Aktivität.

Eine photoparoxysmale Reaktion tritt häufiger bei Kindern mit generalisierter idiopathischer Epilepsie auf (IGE).

So lässt sich bei 74% der Kinder mit einer Epilepsie mit Grand-mal Anfällen beim Erwachen eine photoparoxysmale Reaktion im EEG ableiten. Bei der juvenilen Absence-Epilepsie weisen 56% sowie 40-50% der Kinder mit juveniler myoklonischer Epilepsie eine photoparoxysmale Reaktion im EEG auf.^{11, 12}

Man findet sie dennoch auch bei fokalen Epilepsien, sowie bei Alkohol- und Medikamentenentzug. So lässt sich bei etwa 23% der Kinder mit Rolando-Epilepsie eine photoparoxysmale Reaktionen nachweisen. Patienten mit symptomatischen / kryptogen Arten von Epilepsie weisen in 16% der Fälle eine photoparoxysmale Reaktion im EEG auf.¹²

Durch zahlreiche klinische Familienstudien mit Eltern von Kindern mit photoparoxysmaler Reaktion wird heute eine autosomal dominante Vererbung mit altersabhängiger Penetranz diskutiert.¹³

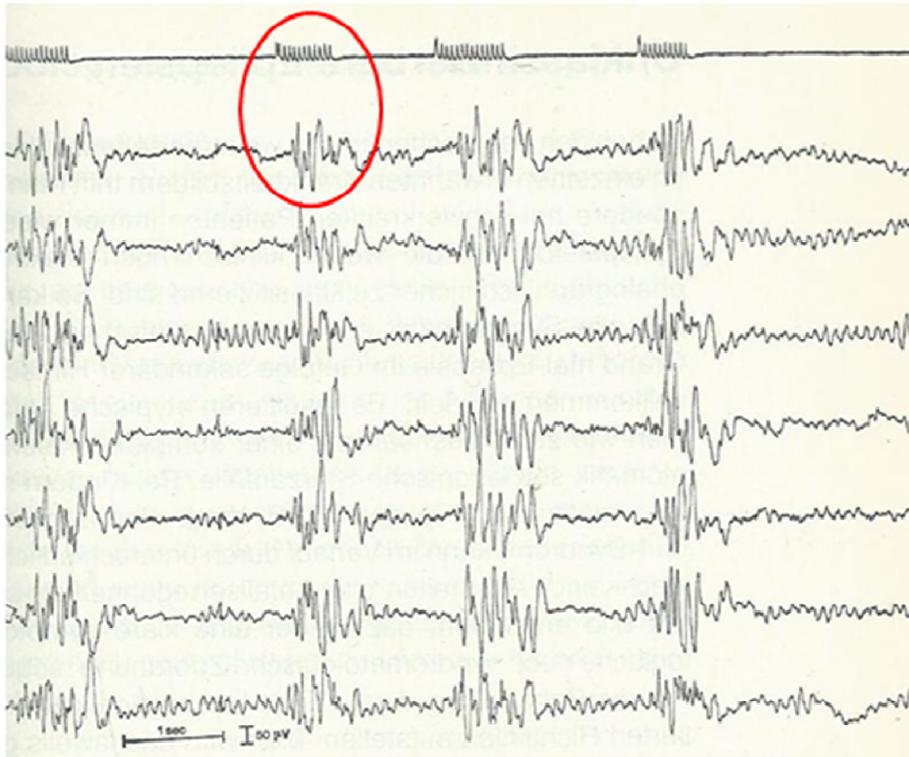


Abbildung 3² Typisches Bild bei photoparoxysmaler Reaktion: Bei Stimulation mit 20/Sek. Blitzen (Ableitung 1) treten paroxysmale Gruppen von spikes und sharp waves auf.

1.2.4 Theta-Rhythmen

Theta-Rhythmen weisen eine rhythmische Frequenz von 4-8/ s auf.⁴

Sie treten bei Erwachsenen vermehrt bei Schläfrigkeit und in den leichten Schlafphasen auf. Im Wachzustand sind sie bei Kleinkindern physiologisch.

Sie kommen gehäuft in einem Alter von 2-5 Jahren vor und können durch emotionale Stimuli verstärkt werden. Jungen sind häufiger betroffen als Mädchen.

Bei Kleinkindern lassen sich die Rhythmen in der Mehrzahl der Fälle über den parietalen Hirnregionen ableiten. Bei älteren Kindern und Erwachsenen findet man das

EEG-Muster eher frontal im Bereich der Mittellinie. Weiterhin kann das Öffnen der Augen die Theta-Rhythmen bei älteren Kindern und Erwachsenen blockieren, bei sehr jungen Kindern ist dies nicht der Fall. ¹⁴

Die meisten Kinder mit Theta-Rhythmen über der parietalen Hirnregion sind klinisch gesund. Im Erwachsenenalter findet man Theta-Wellen hier fast nie. Sie treten jedoch vermehrt bei Eltern von Kindern mit einer generalisierten spike-wave positiven Epilepsie auf. ¹⁴

Theta-Rhythmen sind also nicht per se ein spezifisches EEG-Merkmal bei kindlichen Epilepsien. Bei Kindern mit epileptischen Anfällen und Theta-Rhythmen im EEG findet man diese jedoch auch in andere Hirnregionen verteilt oder sie dominiert sogar die Aktivität des EEGs. Bei Kindern mit symptomatischer Epilepsie können Theta-Rhythmen asymmetrisch auftreten. Dabei findet sich eine Verlangsamung der EEG-Wellenfrequenz meistens im Bereich der Hirnläsion. ¹⁴

Epileptische Anfälle, die mit Theta-Rhythmen einhergehen können sind zum Beispiel Fieberkrämpfe sowie frühkindliche generalisierte Grand-mal Epilepsien. Hier findet sich eine vermehrte Persistenz der Theta-Rhythmen bis zur Adoleszenz. ⁵

Studien zu der Genetik der Theta-Rhythmen zeigten ein erhöhtes Risiko für die spätere Manifestation von generalisierten spike and waves, wenn die Theta-Rhythmen in der frühen Kindheit mit photoparoxysmaler Reaktion verbunden waren. Weiterhin wurde aber eine voneinander unabhängige, polygene Vererbung von Theta-Wellen, sharp-wave sowie photoparoxysmaler Reaktion diskutiert. ¹⁴

Weiterhin ist eine erhöhte Inzidenz von Theta-Rhythmen bei Geschwistern von Kindern mit diesem EEG-Merkmal im Vergleich zu einer Vergleichsgruppe beschrieben. Die negativen Befunde in der Elterngeneration lassen auf eine Altersabhängigkeit schließen.



Abbildung 4¹⁵ Theta Rhythmus mit einer Aktivität von 4-7/sec. Der rote Pfeil markiert typische Theta Welle in Ableitung F1-A1

1.3 Methoden zur genetischen Forschung

1.3.1 Epidemiologische Studien

Die genetische Epidemiologie untersucht die Rolle genetischer und nicht-genetischer Risikofaktoren und deren Zusammenwirken bei Entstehung und Verlauf von Krankheiten.

Im Laufe der letzten Jahrzehnte haben Epidemiologie und molekulare Forschung das Wissen zur Genetik auch im Bereich der Epileptologie verwandelt.

1.3.1.1 Zwillinge

Die klassische humangenetische Zwillingsstudie vergleicht Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen genetisch identischen und nicht identischen Menschen.

Sie geht von der Annahme aus, dass monozygote Zwillinge genetisch zu 100 % identisch und damit auch immer gleichgeschlechtlich sind.

Die Ähnlichkeit eines Merkmals bei dizygoten Zwillingen kann sowohl durch gemeinsame Umweltfaktoren (vor allem pränatale und innerfamiliäre Einflüsse) als auch durch die gemeinsamen Genvarianten bedingt sein. Bei monozygoten Zwillingen wirken die gleichen Faktoren, hier ist aber der Einfluss der gemeinsamen Gene doppelt so stark wirksam.

Dementsprechend wird für Merkmale mit genetischem Einfluss eine stärkere Übereinstimmung innerhalb der monozygoten Zwillinge, verglichen mit der Übereinstimmung bei dizygoten Zwillingen, erwartet.

Es werden monozygote und dizygoten Zwillingspaare untersucht und der Prozentsatz an übereinstimmender (Konkordanz) und nicht übereinstimmender (Diskordanz) Merkmalsausprägung festgestellt.¹⁶

So kann die Zwillingsforschung interessante Aussagen bezüglich der Frage, welcher Anteil bei der Entstehung und Ausbildung von Krankheiten durch das Erbgut und welcher durch die Umwelt bedingt ist, geben.

Die Analyse großer Zwillings-Kohorten von William Lennox ergab früh den überzeugenden Beweis für eine genetische Grundlage von epileptischen Anfällen.¹⁷

Eine erneute Prüfung der Daten aus Lennox Zwillings-Studien mehr als 50 Jahre später mit neuerer Klassifizierung epileptischer Anfälle und Epilepsie-Syndromen durch ILAE Kriterien zeigte eine hohe Konkordanz eineiiger Zwillinge für idiopathisch generalisierte Epilepsien, symptomatisch generalisierte Epilepsien sowie Fieberkrämpfe.

Es folgten weitere Zwillingsstudien, die den genetischen Einfluss auf von der ILAE klassifizierte Epilepsie-Syndrome untersuchten. Sie konnten eine genetische Komponente, insbesondere für die idiopathisch generalisierte Epilepsie, bestätigen.^{18, 17}

In der Vergangenheit haben verschiedene Zwillingsstudien zu epileptischen Anfällen bei Fieber immer wieder gezeigt, dass die Anfälle bei monozygoten Zwillingen im

Vergleich zu dizygoten Zwillingen etwa drei dreifach so oft bei beiden Geschwistern auftreten.^{19, 20, 21, 22}

So sahen Eckhaus et al²³ bei der Untersuchung von 179 Zwillingspaaren mit epileptischen Anfällen bei Fieber eine höhere Konkordanz bei Subtypen der Anfälle bei Fieber (0,62) in der Gruppe der eineiigen Zwillinge als in der Gruppe zweieiiger Zwillinge (0,16) und deuteten dies als einen starken genetische Beitrag zu verschiedenen Subtypen von epileptischen Anfällen bei Fieber.

Es wurden allerdings in den Studien die Subtypen und Subsyndrome der epileptischen Anfälle bei Fieber nicht differenziert.

Zudem beschreiben die Autoren eine höhere Konkordanz bei monozygoten Zwillingen für alle Subtypen und Syndrome der Fieberkrämpfe, insbesondere bei „febrile seizures plus (FS+)“, in Verbindung mit Fieber auftretende epileptische Anfälle die nach dem 6. Lebensjahr beginnen.

Die Autoren deuten dies als eine starke genetische Komponente bei dem Auftreten der epileptischen Anfälle dieses Formenkreises.²⁴

1.3.1.2 Populationsstudien

Die Populationsgenetik beschäftigt sich mit den genetischen Strukturen in Populationen sowie ihren Veränderungen im Lauf der Geschichte.

Der Vorteil von Populationsstudien ist, dass die großen epidemiologischen Studien einen Überblick der Verteilung des zu untersuchenden Gegenstandes geben, der der Verteilung in der Bevölkerung entspricht. Es werden in solchen Studien aber selten detaillierte Informationen über Phänotypen gesammelt.

Als Beispiel einer Populationsstudie ist die bevölkerungsbasierte Studie von Silverberg zu nennen, die 642 Kindern im Alter von 0-17 Jahren aus den USA untersuchte um den Zusammenhang zwischen der Prävalenz von Epilepsie und allergische Erkrankung zu bestimmen. Sie zeigte eine höhere Prävalenz von epileptischen Anfällen im Laufe eines Lebens bei Kindern mit allergischen Erkrankungen als nicht-allergischen Kindern.²⁵

1.3.1.3 Familienstudien (Permutationsanalyse)

Aggregation (die Häufung betroffener Personen) in Familien ist ein typischer Ausgangspunkt für die Suche nach Anzeichen für einen genetischen Beitrag zur Ausbildung einer Krankheit.

So werden Familien mit einer positiven Familiengeschichte für eine Krankheit oder ein Merkmal häufig für genetisch-epidemiologische Studien genutzt.

Die Häufung eines Merkmals kann sowohl auf mögliche genetische Ursachen als auch auf gemeinsame nichtgenetische Faktoren (gemeinsame Umwelt, Kultur, soziale Faktoren, etc.) hindeuten.

In Familienstudien ist die Phänotypisierung umfangreicher als in Populationsstudien, die Patienten sind daher so gezielt ausgewählt, dass sie nicht repräsentativ für die allgemeine Bevölkerung sind.

Auch Familienstudien haben Belege für genetische Effekte auf epileptische Anfälle und Epilepsie-Syndrome erbracht.

Ottmann et al fand zum Beispiel in Untersuchungen von Familien ein erhöhtes Risiko für generalisierte Epilepsie bei Verwandten von Probanden mit partialer Epilepsie und umgekehrt. Sie schlossen daraus, dass einige genetische Komponenten sowohl das Risiko für generalisierte als auch partielle Epilepsien erhöhen.²⁶

Auch die Familienstudie der University of Columbia fand ein erhöhtes Risiko für Epilepsie bei Eltern, Geschwistern und Kindern von Probanden mit idiopathischer Epilepsie. Dabei war die Art der epileptischen Anfälle nicht auf den Typ von Epilepsie des Probanden beschränkt.²⁷

1.3.1.4 Molekulargenetische Studien

Ein weiteres Verständnis der Vererbung wird durch molekulargenetische Analysen auf der Basis von Proteinen, DNA und RNA erreicht. So konnten derzeit bereits für etwa 2500 genetische Erkrankungen die molekularen Ursachen aufgeklärt werden.

In bestimmten Abschnitten der Erbsubstanz (DNA), so genannten Genen, konnten Veränderungen (Mutationen) identifiziert werden, die mit dem Auftreten einer erblichen Erkrankung einhergehen.

Seltene Mutationen aber auch häufige Varianten können humangenetische Erkrankungen andeuten.

Ein Extrem sind seltene Mutationen mit großem Effekt auf den Phänotyp, die monogenetische Erkrankungen auslösen können.

Seltene Mutationen mit kleinen Effekten auf den Phänotyp, wie z. B. der Einzel-Nukleotid-Polymorphismus, sind das andere Extrem.

Der Beitrag eines Gens zum Erkrankungsrisiko wird mit der so genannten Odds Ratio, d. h. dem Vielfachen der normalen Chance zu erkranken ausgedrückt und entspricht in etwa dem relativen Erkrankungsrisiko.

In den letzten drei Jahren konnten durch viele parallel durchgeführte Sequenzierungstechnologien mehrere Gene identifiziert werden die für einige monogene Epilepsien ursächlich zu sein scheinen.

In molekulargenetischen Analysen wurden prädisponierende Loci identifiziert, die verantwortlich für eine familiäre Häufung von Fieberkrämpfen sind.

So fanden Wallace et al.²⁸ in einer großen Familie positiver Anamnese für Epilepsien eine gehäufte Mutation in einem Gen, welches für eine GABA(A)-Rezeptor-Untereinheit codiert. Die beiden wichtigsten Phänotypen die mit dieser Mutation assoziiert waren, sind zum einen die juvenile Absence-Epilepsie und zum anderen Fieberkrämpfe. So konnten die Autoren eine genetische Beziehung zwischen beiden Syndromen herstellen obwohl sich diese im Alter bei Erkrankungsbeginn und in der Art des epileptischen Anfalls unterscheiden.

In einer weiteren Studie untersuchten Wallace et al.²⁹ Familien mit generalisierter Epilepsie und Fieberkrämpfen (GEFS+). Bei dieser Epilepsie treten Krampfanfälle mit Fieber auf, die über sechs Jahren fortbestehen oder mit generalisierten Anfällen bei

Fieber verbunden sein können. Die Autoren konnten eine Mutation in der Chromosomenregion 19q13.1 identifizieren. Das Gen (SCN1B), welches auf diesem Chromosomenabschnitt liegt codiert für den spannungsgesteuerten Natrium-Kanal beta1. Die Mutation ändert die Faltung des Kanalproteins und führt somit zu einem Funktionsverlust.

Claes et al berichten 2001 von de novo Mutationen des neuronalen Natrium-Kanal Alpha-Untereinheit-Gens SCN1A bei sieben Patienten mit Dravet-Syndrom. Die ersten Krankheitserscheinungen der Kinder mit myoklonischer Epilepsie des Kindesalters (Dravet-Syndrom/ SMEI) sind in der Regel Fieber-assoziierte epileptische Anfälle. Im Laufe ihres Lebens entwickeln sie dann verschiedene Arten von Anfällen einschließlich myoklonische Anfälle ohne Fieber.

Häufig tritt ein psychomotorischer Entwicklungsstillstand im zweiten Lebensjahr auf und die meisten Patienten entwickeln ataktische Symptome.

Die Kinder sind oft resistent gegen medikamentöse antiepileptische Therapie.³⁰

Die in dieser Arbeit beschriebenen Mutationen waren zumeist Missense-Mutationen in der S4-S6 Region SCN1A. Missense-Mutationen im (SCN1A-Gen) wurden auch in Familien mit generalisierter Epilepsie mit Fieberkrämpfen identifiziert (GEFS +).^{31 32}

Unter anderem standen auch die benignen familiären infantilen Anfälle (BFIS) im Interesse der molekulargenetischen Forschung. Dieses Epilepsiesyndrom ist charakterisiert durch selbstlimitierende Anfällen im Laufe des ersten Lebensjahrs.³³

Bereits 1997 wurde die Assoziation von BIFS mit Veränderungen auf Chromosom 16 beschrieben.³⁴ Eine genaue Analyse des Gens PRRT2 gelang jedoch erst 2011 im Rahmen einer Familienstudie von Chen et al.³⁵ mit Familien in denen gehäuft die Bewegungsstörung „paroxysmale kinesogene Dyskinesie“ auftrat. Diese Bewegungsstörung wird ebenfalls gehäuft in Familien mit BFIS beobachtet. Die Mutation wurde so auch in bis zu 70% der Familien mit BFIS gefunden.³⁶ Es konnte herausgestellt werden, dass die Veränderung des PRRT2 Gens auf Chromosom 16 als Hauptmutation für BFIS angenommen werden kann.³⁶ Desweiteren wurden PRRT2 Mutationen auch in mehreren anderen gutartigen kindlichen Epilepsien identifiziert.

Dabei müssen benigne familiäre infantile Anfälle genetisch und phänotypisch von gutartigen familiären, neonatalen Anfällen (BFNS), bei denen Mutationen der Gene KCNQ2, KCNQ3³⁷ gefunden wurden, und benignen familiären neugeborenen infantilen Anfällen (BFNIS) mit gehäuften Mutationen im SCN2A-Gen³⁷, unterschieden werden.

1.3.1.5 Kopplungsstudien

In Kopplungsstudien werden gezielt chromosomale Regionen untersucht, in denen Gene lokalisiert sind, die aufgrund ihrer biologischen Funktion zur Krankheitsentstehung beitragen könnten.

Da Familien untersucht werden, besteht im Gegensatz zu Fall-Kontroll-Studien keine Gefahr, die Studie durch eine zu große genetische Heterogenität in der Fall- bzw. Kontrollgruppe zu verfälschen.

Maß für die gemeinsame Vererbung von genetischen Markern und der Erkrankung in Familien ist der „Transmission Disäquilibrium Test“ (TDT) für das Kopplungsungleichgewicht: Vererben heterozygote Eltern einen bestimmten Marker signifikant häufiger als 50 % auf kranke Kinder, so weist dies auf eine Assoziation des vermehrt übertragenen Allels mit dem Krankheitsgen bzw. der Erkrankung hin.

Weiterhin wird das Ausmaß der Kopplung bestimmt durch den Abstand von Basenpaaren zwischen Marker und Gen, da bei zunehmender Entfernung zwischen beiden die Wahrscheinlichkeit für eine Separation durch „crossing-over“ in der Meiose zunimmt. Beträgt der Abstand mehr als ein „centiMorgan“ (cM), was etwa 106 Basenpaaren entspricht, kann eine Kopplung kaum noch angenommen werden.³⁸

1.3.1.6 Assoziationsstudien

Genetische Assoziationsstudien werden entworfen, um Unterschiede in den Allelfrequenzen zwischen Patienten und gesunden Personen zu suchen.

Die zu untersuchenden Kandidatengene werden anhand biologischer und funktioneller Gesichtspunkte ausgewählt. Weiteres Auswahlkriterium ist die Assoziation der Gene zu Genen, die ursächlich für monogen vererbte Erkrankungen sind.³⁹

Eine Assoziation liegt dann vor, wenn ein spezifisches Allel in der Population signifikant häufiger bei Erkrankten als bei gesunden Personen vorkommt.

Als Marker werden derzeit zumeist Single Nukleotid Polymorphismen (SNPs) verwendet, die sich in nur einer Base unterscheiden und somit häufige Varianten in den Allelen sind.

Im Falle einer Assoziation bestehen zwei Möglichkeiten: Zum einen kann der SNP eine funktionelle Auswirkung auf das Gen besitzen, zum anderen kann er sich mit dem eigentlich die Erkrankung verursachenden Polymorphismus im so genannten Kopplungsungleichgewicht (Linkage Disequilibrium) befinden.

Dies bedeutet, dass der Marker mit dem eigentlichen krankheitsassoziierten Abschnitt gekoppelt ist und beide durch eine enge Lage häufig gemeinsam vererbt werden.

Assoziationsuntersuchungen weisen im Vergleich zu Kopplungsstudien eine hohe Nachweiskraft für Gene mit einem kleinen krankheitsspezifischen Risiko auf.

Allerdings dürfen die Populationen genetisch nicht zu heterogen sein, da es sonst aufgrund der ethnischen Unterschiede zu falsch positiven Befunden durch Confounding kommen kann. Es entstehen so positive Testergebnisse ohne das ein biologischer Zusammenhang zwischen dem untersuchten Marker und der Krankheit existiert. Dadurch können geringe Effekte verstärkt oder wahre Assoziationen maskiert werden.³⁸

1.4 Fragestellung

Bei vielen Epilepsie-Syndromen wie z. B. der gutartigen Rolando-Epilepsie oder der kindlichen Absence-Epilepsie stellen elektrographische Merkmale wesentliche Bestandteile bei der elektroklinischen Diagnose dar.

Dennoch ist es durchaus denkbar, dass die Endophänotypen der Epilepsie-assoziierten EEG-Muster, eine stärkere Assoziation mit der der Epilepsie zugrundeliegenden Genarchitektur haben als die Epilepsie-Phänotypen selbst.

Der Effekt der Gene, die verantwortlich für die entsprechenden EEG-Muster sind, könnte so größer sein als die der Epilepsie-Phänotypen.

Die Vererbbarkeit von EEG Mustern steht schon seit langer Zeit im Interesse der epileptologischen Forschung.

So schlossen Davis und Davis 1936 aus Ihren Untersuchungen im Rahmen einer Zwillingsstudie, dass „die Datensätze der EEG- Ableitungen eines eineiigen Zwillings denen des anderen so ähnlich waren, wie sich Aufzeichnungen von der gleichen Person in aufeinanderfolgenden Tests ähneln.“⁴⁰

Es folgte eine Reihe von Untersuchungen im Rahmen von Familienstudien und Zwillingsstudien, die eine polygenetische Determination in der Vererbung von EEG-Merkmalen annehmen. So beschrieb Lennox bereits 1951 epileptiforme EEG-Muster bei Familienmitgliedern von Kindern mit Epilepsie.¹⁷

Die in diesen Studien immer wieder postulierten Hypothesen der Vererbung der EEG-Muster sind zum einen die Interaktion von genetischen und exogenen Faktoren sowie zum anderen die Interaktion von verschiedenen genetischen Faktoren.

In diesem Zusammenhang bemerkte Doose 1997, dass, falls die genetischen Variationen, welche sich in EEG-Merkmalen ausdrücken unabhängig voneinander vererbt werden sollten, diese “mit einer statistisch kalkulierbaren Wahrscheinlichkeit“ auftreten müssten.⁴¹

Allerdings waren die Rahmenbedingungen in diesen Studien durch unterschiedliche Grundlagen der Methodik zur Beurteilung von EEG- Mustern sowie kleiner Fallzahlen schlecht miteinander vergleichbar.

Viele der Studien in der Vergangenheit bedienten sich einer rein deskriptiven Statistik, die die Verteilung eines Merkmals nur beschreibt, aber keine Aussage über eine statistische Signifikanz der Ergebnisse macht um die Aussage zu kontrollieren. So ist die Bedeutung der Ergebnisse nicht klar.

In der heutigen Zeit werden Familienstudien kindlicher EEG-Muster nicht mehr systematisch durchgeführt, so dass das qualitativ hochwertige EEG Archiv der Klinik für Neuropädiatrie als einzigartige Ressource dient, Fragen nach der Segregation dieser EEG-Muster in Familien zu beantworten.

Ziel dieser Arbeit ist es den Hinweis der Segregation genetischer Grundlagen von EEG-Mustern in Familien mittels statistischer Verfahren wie Permutationsanalysen und logistischer Regression auf die zugrundeliegende Signifikanz hin zu beurteilen und somit eine eindeutigere Antwort auf die oben genannten Hypothesen zur Vererbung der Merkmale im EEG zu erlangen.

Die in dieser Arbeit benutzten statistischen Methoden wie die Permutationsanalyse und die logistische Regression wurden bereits von Winawer et al.^{42, 43} zur Fragestellung, ob die Konkordanz von epileptischen Anfallstypen in Familien größer ist als durch Zufall zu erwarten ist, eingesetzt. Die Arbeitsgruppe konnte so Beweise für verschiedene genetische Effekte auf generalisierte und lokalisierte epileptische Anfälle sowie myoklonische Epilepsie und Absenzen finden.^{42, 43}

In dieser Arbeit sollen vor allem folgende altersabhängige EEG-Muster untersucht werden: generalisierte spike-wave, fokale sharp-wave, photoparoxysmale Reaktion, abnorme Theta-Rhythmen sowie das Alpha-EEG.

2 Material und Methoden

2.1 Das Familienarchiv der Klinik für Neuropädiatrie Kiel

Das Familienarchiv der Klinik für Neuropädiatrie an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel beinhaltet EEG-Aufzeichnungen von über 2000 Familien von pädiatrischen Patienten und wurde kontinuierlich seit den 1960iger Jahren fortgeführt.

Pädiatrische Probanden bei denen ein EEG abgeleitet wurde, waren Kinder aus dem stationären und ambulanten Bereich der Neuropädiatrie. Verwandte der Probanden wurden angesprochen, um in das Familienarchiv aufgenommen zu werden und anschließend wurden auch bei ihnen Elektroenzephalographien abgeleitet.

2.2 Rekrutierung der Familien

2.2.1 Beurteilung und Auswertung der Elektroenzephalographie

Die Ableitung der Elektroenzephalographie erfolgte in den frühen Familienableitungen durch hochfrontale, präzentrale, temporale, parietale, occipitale, saggitale sowie Ohrelektroden als Referenz.

Die Zeitkonstante hierbei betrug in der Regel 0,1 sec bei einer Verstärkung von 5 mm = 50 μ V.

In späteren Ableitungen wurde das heute übliche, international anerkannte 10-20-System angewandt. Es wurde 1958 von Herbert H. Jasper beschrieben.³ Bei dieser Art der Ableitung werden Elektroden in 10- bzw. 20 %-Schritten auf der Kopfoberfläche platziert. Da die Schädelform und -größe jedoch von Mensch zu Mensch sehr unterschiedlich ist, wurde ein relatives System definiert, bei der als Orientierung eine diagonale sowie eine transversale Vermessung des Schädels dient. Die Regionen der Körperoberfläche entsprechen somit weitgehend den darunterliegenden Hirnregionen. Dadurch entstehen vergleichbare Ergebnisse.⁴

Im Rahmen der Elektroenzephalographien wurden sowohl Hyperventilations- als auch Photostimulationsreaktionen abgeleitet.

Die Photostimulation erfolgte dabei nach dem Schema von Doose 1973.⁴⁴

Es wird eine bipolare Reihenableitung bei geschlossenen Augen im halb abgedunkelten Raum angefertigt. Die Stimulation erfolgt durch einen Grass-Stimulator mit einer Lichtintensität von II. Dabei besteht ein kontinuierlicher Abstand zwischen den Augen und der Blitzlichtröhre von 10-20 cm. Die Frequenz des Blitzlichts wird über 30 Sekunden langsam von 4 auf 20 /s gesteigert (in neueren Ableitungen auch 25 /s, 60 /s) und dann in den folgenden 30 Sekunden von 20 auf 4 /s reduziert. Dann folgt eine Stimulation mit 5, 10, 12, 15 und 20 Blitzen pro Sekunde (z.T. auch 25 /s, 60 /s, siehe oben). In allen Perioden der Stimulation wird die Provokation von pathologischen Potentialen durch Augenöffnen und Augenschluss getestet(on-/off-Effekt).

Für die folgenden 80 Sekunden erfolgt eine Reizung mit irregulären Blitzen mit einer durchschnittlichen Frequenz von 10 / s.

Ausgangsmaterial dieser Studie war zunächst eine EEG-Datenbank, die durch das Team der Elektroenzephalographie der Neuropädiatrie der Christian-Albrechts-Universität Kiel gepflegt wurde. Zudem gab es einige Stammbäume von Familien des Archivs durch eine vorhergehende Promotionsarbeit von Frau Godt.⁴⁵

Anhand der Datenbank, Sicht von Probandenakten und Befunden der Originalableitungen (Papierausdrucke) der Elektroenzephalogramme wurden im Rahmen dieser Arbeit die Stammbäume der Familien hinsichtlich Theta-Rhythmen, spike-waves, fokal sharp-waves und des Alpha-EEGs erstellt, korrigiert, ergänzt und in tabellarischer Form aufgearbeitet.

2.2.2 Kriterien der EEG-Muster

2.2.2.1 Generalisierte spike-waves:

Das Merkmal der spike-wave Komplexe ist gekennzeichnet durch in Ruhe auftretende oder durch Hyperventilation provozierte Komplexe. Dazu zählen jedoch nicht spike-wave Komplexe, die im Rahmen einer Photostimulation auftreten.^{2, 41}

Ein positives Merkmal für spike-wave Komplexe wurde angenommen, wenn diese in einer Wach-oder Schlafableitung, unabhängig des Alters der untersuchten Person, gefunden wurden.

Probanden, die in mindestens 3 verschiedenen EEG-Ableitungen während des Kindes- und Jugendalters keine spike-wave Komplexe aufwiesen, wurden für das Merkmal als negativ gewertet.

Probanden, bei denen weniger als drei EEG-Ableitungen in der oben genannten Zeitspanne aufgenommen wurden und bei denen keine spike-wave Komplexe gefunden wurden, galten als unzureichend untersucht und wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Bei Geschwisterkindern musste mindestens eine Ableitung im Kindesalter erfolgt sein. Um ein negatives Merkmal zu bekommen, musste diese Ableitung negativ sein.

Wurden von den Geschwistern erst im Erwachsenenalter EEGs aufgezeichnet, galten auch sie als nicht ausreichend untersucht.

Bei Eltern und höhergradigen Verwandtschaften reichte eine negative Ableitung, egal welchen Alters aus, um negativ für das Merkmal spike-wave zu sein.

2.2.2.2 Focal sharp-waves

Das EEG-Muster mit den Grundelementen Spitze und langsame Welle zeigt hinsichtlich der morphologischen Details eine beträchtliche Variabilität und tritt in verschiedenen Arealen der Hemisphären auf.²

Zentrotemporale spikes wurden diagnostiziert, wenn ein-oder beidseitig gut strukturierte sharp-slow-wave Entladungen mit dem typischen Merkmal der Rolando-spikes zu beobachten waren.

Bei der Klassifikation der Studienmitglieder galten hier für Probanden und Familienangehörige keine unterschiedlichen Kriterien.

Es wurde das erste EEG mit positivem fokal-sharp wave Befund als positiv für dieses Merkmal gewertet.

2.2.2.3 Photoparoxysmale Reaktion

Bei einer photoparoxysmalen Reaktion treten unter intermittierender Photostimulation irreguläre spike-wave Komplexe auf.

Die Stimulation erfolgte wie oben beschrieben.

Die photoparoxysmale Reaktion lässt sich wie in 1.2.3 angeführt in 4 Grade differenzieren.⁵

Hier wurden alle Typen als photoparoxysmale Reaktion gewertet, wenn sie bei Probanden oder Verwandten unabhängig des Lebensalters einmal aufgetreten sind.

Waren bereits während der Ruheableitung oder unter Hyperventilation spike-wave Komplexe aufgetreten, war die photoparoxysmale Reaktion nur dann positiv bewertet, wenn spike-wave Komplexe während der Stimulation wiederholt erschienen sind.

Es wurde das Alter, bei dem als Erstes im EEG eine photoparoxysmalen Reaktion auftrat, erfasst.

Da bei Verwandten häufig nur eine Photostimulation erfolgte und diese oft unter unzureichenden Bedingungen durchgeführt wurde, wurden hier die Kriterien niedriger gesetzt. Für Verwandte reichte das einmalige Auftreten des EEG-Musters bei Photostimulation aus, um positiv (für dieses Merkmal) bewertet zu werden.

2.2.2.4 Theta-Rhythmen

Theta-Rhythmen sind beschrieben als bilateral auftretende synchrone monomorphe 4-7 /s Rhythmen in der Wachableitung.²

Ein Proband oder ein Verwandter wurde als positiv für Theta-Rhythmen befundet, wenn eine Gruppe von Theta-Entladungen mindestens alle 20 Sekunden während der EEG-Aufzeichnung gesehen wurde.

Dabei durften die Studienmitglieder zu dem Zeitpunkt der EEG-Ableitung nicht unter sedierenden Medikamenten stehen oder müde sein, da sonst Theta-Rhythmen auch physiologisch vorkommen. Ein Auftreten im Zusammenhang mit einer Absence wurde ebenfalls nicht als positiver Theta-Rhythmus bewertet.

Die Kriterien für Theta-Rhythmen wurden als erfüllt erachtet, wenn ein Proband unabhängig seines Lebensalters in zwei Ableitungen, ein Verwandter in einer Ableitung Theta-Rhythmen vorwies.

2.2.2.5 Monomorphes Alpha-EEG

Als Personen mit monomorphem generalisierten Alpha –EEG wurden diejenigen Familienmitglieder klassifiziert, bei denen über allen Hirnregionen sowohl in den Referenz als auch den bipolaren Ableitungen kontinuierlich 8-12 /s–Rhythmen gefunden wurden. Dabei sollte vor allem über den frontalen Hirnregionen wiederholt ein klarer Alpha-Rhythmus zu finden sein.²

2.2.3 Rekrutierung der Familien

Für die statistische Analyse, wurde die Kohorte in zwei Teilkohorten in- eine frühere Kohorte (Kohorte 1) als Screening-Kohorte und eine jüngere Kohorte (Kohorte 2) als Bestätigungskohorte geteilt.

Kohorte 1 wurde beginnend mit den ersten Familien des EEG-Archivs bis zu einer Kohorte mit 250 Familien aufgestellt.

Dabei galt als Einschlusskriterium ein positiver Befund eines der fünf EEG-Muster spike-waves, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion, Theta-EEG oder Alpha EEG, bei mindestens zwei Familienmitgliedern. Es war nicht relevant, ob der Proband selbst eines der untersuchten EEG-Muster aufwies.

Das Vorhandensein von EEG-Mustern in mindestens zwei Familienmitgliedern stellt eine Voraussetzung für die Permutationsanalyse dar.

Alle Familien, die zu einem späteren Zeitpunkt als die letzte Familie der Kohorte 1 in das EEG-Familienarchiv aufgenommen wurden, wurden zu Kohorte 2 zugeordnet. Hier mussten ebenfalls mindestens 2 Familienmitglieder eines der fünf EEG-Muster aufweisen.

Familien, bei denen, abgesehen von dem Probanden, nur Halbgeschwister ein positives Elektroenzephalogramm aufwiesen wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Ebenso Familien bei dem außer einem Probanden nur ein eineiiger Zwilling betroffen war.

2.2.3.1 Kohorte 1

Die Kohorte 1 umfasst 247 Familien mit 649 Familienmitgliedern und beinhaltet somit die früh aufgenommenen Familien des EEG-Archivs in den Jahren von 1960-1990.

Zu dieser Kohorte gibt es lediglich aufgestellte Stammbäume einer früheren Doktorarbeit, da die Probandenakten und Original-Ableitungen (Papierausdrucke) des Familien-EEGs nicht mehr zur Verfügung stehen.

Es wurde überprüft, dass die EEGs jedoch nach oben beschriebenen Kriterien befundet wurden.

2.2.3.2 Kohorte 2

Die Kohorte 2 umfasst 293 Familien mit 1118 Familienmitgliedern.

Zusätzlich zu den EEG- Befunden wurden hier bei Probanden zusätzlich das Alter bei Erstmanifestation des entsprechenden EEG-Musters sowie die epileptologische bzw.

neurologische Diagnose wie zum Beispiel Migräne oder Tic-Störung durch Akteneinsicht bestimmt.

Bei Familienmitgliedern wurde im Falle von mehreren EEGs ebenfalls das Alter der Erstmanifestation aufgenommen. War nur eine EEG-Ableitung vorhanden, wurde das Alter bei dieser Ableitung aufgenommen. Ebenfalls wurden hier neurologische Diagnosen, insbesondere epileptische Anfälle, erfasst.

Die einzelnen EEG Aufzeichnungen der Familienmitglieder mussten durch zwei unabhängige Personen identisch befundet worden sein.

2.3 Statistik

Familien mit einer positiven Familiengeschichte für eine Krankheit oder ein Merkmal werden häufig für genetisch-epidemiologische Studien genutzt. Die Häufung eines Merkmals kann sowohl auf mögliche genetische Ursachen als auch auf gemeinsame nichtgenetische Faktoren wie z.B. eine gemeinsame Umwelt hindeuten.

Die Studien schätzen so beispielsweise das relative Risiko für Verwandte erkrankter Personen in Bezug auf die allgemeine Bevölkerung ab. Ein solches Risiko ist ein wichtiger Parameter für eine familiäre Aggregation (die Häufung erkrankter Personen in Familien).

Es kann festgestellt werden, ob die Häufung einer/s Krankheit/Merkmals in einer Familie über die normale zufällige Verteilung hinausgeht. Statistische Tests, die in solchen Assoziations- und Aggregationsstudien angewendet werden können, sind exakte Tests wie der Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test).

Der χ^2 -Test wird zur Überprüfung von Häufigkeitsverteilungen bestimmter Merkmale, die zwar unterschieden werden können, jedoch keine natürliche Rangfolge aufweisen, eingesetzt. Es handelt sich also um Variablen mit nominalem Skalenniveau.

2.3.1 Permutationsanalyse

Bei den Vorüberlegungen und Durchführungen von genetischen epidemiologischen Studien eines Merkmals in einer Population mit mehreren verschiedenen klinischen Manifestationen, ist es nützlich zu wissen, ob Prädispositionen zu den verschiedenen Manifestationsarten, in dieser Studie also die untersuchten EEG-Merkmale: spike-waves, sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion, Theta-Rhythmen und Alpha-EEG , durch Gene übertragen werden oder ob die EEG-Merkmale unabhängig einer Prädisposition auftreten. Als Ansatz zur Untersuchung dieser Frage ist zu prüfen, wie und ob sich die einzelnen EEG-Merkmale bei verwandten Personen häufen.

Da die Grundvoraussetzung für einen Einschluss einer Familie in die Studie jedoch auf einem mehrfachen Auftreten der verschiedenen Merkmale bei mehreren Verwandten beruht, kann es zu einer verzerrten Wahrnehmung der familiäre Häufung der untersuchten Eigenschaften kommen.⁴³

Daher ist es nötig, statistische Methoden anzuwenden die eine rein zufällige Verteilung von Merkmalen in einer Familie von einer Aggregation durch genetische Komponenten unterscheiden.

Dazu werden zu Beginn der Studie zwei Hypothesen formuliert: Die erste Hypothese nimmt an, dass das relative Risiko für ein Kind ein EEG-Merkmal oder die Kombination mehrerer Merkmale zu haben nicht genetisch beeinflusst ist. Die zweite Hypothese nimmt an, dass die familiäre Häufung eines oder die Kombination verschiedener EEG-Muster genetisch bedingt ist.

Dieser Ausgangspunkt ist wichtig für die in dieser Familienstudie angewandte Permutationsanalyse.

Unter Permutation versteht man die Veränderung der Anordnung einer Menge durch Vertauschen ihrer Elemente. Eine Permutation ist somit eine Umsortierung von Objekten aus einer vorgegebenen Reihung oder eine Anordnung von Gebilden in einer bestimmten Reihenfolge.³⁸

Mit einer Permutationsanalyse wird die statistisch zufällige Merkmalsverteilung in Konstellation der aufgestellten Kohorte (zum Beispiel in Bezug auf Familienstrukturen) berechnet, also gemäß der Hypothese, dass das relative Risiko für ein Kind ein EEG-Merkmal, oder die Kombination mehrerer Merkmale zu haben nicht genetisch beeinflusst ist.

Durch zufällige Verteilung der EEG-Merkmale können so Datensätze erstellen werden.

Bei der Permutation wird die Zahl der Familienmitglieder und der EEG-Status des Probanden konstant gehalten, aber die Zuordnung der verschiedenen EEG-Muster auf die Familienmitglieder wurde sonst zufällig verteilt.

Es wird dann jeweils die Teststatistik T berechnet. Dies ergibt die vollständige Permutationsverteilung der Teststatistik, anhand derer man am p -Wert ablesen kann, wie wahrscheinlich der beobachtete Wert T oder extremere Werte sind.

Der so ermittelte p -Wert gibt also die Wahrscheinlichkeit an, dass die mit der Permutationsanalyse bestimmte Verteilung mindestens so extrem ist, wie in der Kohorte beobachtet.

Für ein bestimmtes EEG-Muster können Familien entweder konkordant bzw. diskordant oder konkordant für die Abwesenheit des EEG-Musters sein.

Eine Familie ist konkordant, wenn alle Familienmitglieder, bei denen EEG-Aufzeichnungen durchgeführt worden sind, für ein bestimmtes EEG Merkmal positiv sind.

Familien sind diskordant, wenn das EEG-Merkmal nur bei einigen Familienmitgliedern beobachtet wird, aber nicht bei allen. Familien sind konkordant für die Abwesenheit eines EEG-Musters, wenn das EEG-Muster bei keinem der Familienmitglieder beobachtet wird. Dies ist in der Abbildung 5 veranschaulicht.

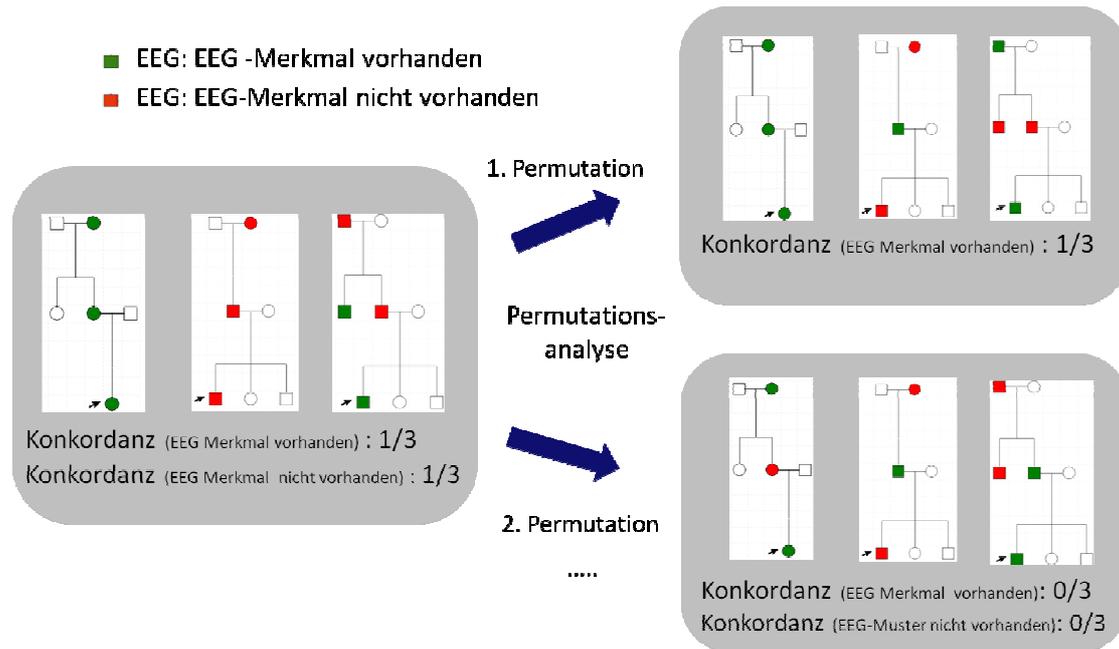


Abbildung 5 Permutationsanalyse für die Konkordanz von Anwesenheit und Abwesenheit von EEG- Phänotypen (Erklärung)

Die Permutationsanalyse zielt darauf ab, die beobachtete und erwartete Verteilung der Konkordanzen von Phänotypen in den Familien zu vergleichen. Familienstrukturen, Probanden und die Anzahl der Personen mit einem bestimmtem EEG-Phänotypen werden konstant gehalten, während die Individuen zufällig über die bestehenden Familien in jedem Permutationsschritt verteilt werden. Konkordanzen können sowohl für die Präsenz eines Phänotyps (Familie 1, alle Individuen enthalten die Farbe Grün) und in Abwesenheit von einem Phänotyp (Familie 2, alle Individuen enthalten die Farbe Rot) beurteilt werden. Wenn ein Phänotyp in Familien gehäuft vorkommt, wird die beobachtete Häufung sowohl für die Gegenwart und Abwesenheit eines Phänotyps höher sein als bei der erwarteten Verteilung. Wenn jedoch die Penetranz gering ist, könnte die beobachtete Konkordanz für den Phänotyp nicht hoch genug sein, um ein statistisch signifikantes Ergebnis in der Permutationsanalyse zu ergeben, da viele Familien nicht vollständig konkordant für einen EEG-Phänotyp sind (wie Familie 3 mit Einzelpersonen sowohl in Farbe Rot und Grün).

Bei Phänotypen mit verminderter Penetranz, kann die beobachtete Häufung für das Fehlen eines Phänotyps höher sein als bei der zufälligen Verteilung, was einen Hinweis auf die familiäre Häufung sein könnte.

Während eine vollständige Penetranz im Clustering (Anhäufung) eines EEG-Merkmals in Familien zu signifikanten Ergebnissen der Permutationsanalyse für Konkordanz der Präsenz dieses Merkmals und Konkordanz der Abwesenheit der anderen EEG-Merkmale zur Folge hat, könnte eine reduziert Penetranz nur signifikante Ergebnisse für das Clustering der Abwesenheit eines EEG-Merkmals zur Folge haben.

Für die Permutationsanalyse werden die Anzahl der betroffenen Individuen in der Familie sowie das beobachtete EEG-Merkmal des Probanden fixiert. Außerdem ist die

Familienstruktur fixiert. Die Konkordanz in der Kohorte wurde nach jeder Permutation beurteilt.

Die Permutationsanalyse wurde mit dem R-Statistikprogramm durchgeführt. R ist eine freie Programmiersprache für statistisches Rechnen und statistische Grafiken.⁴ Die

Abbildung 6 zeigt einen Ausschnitt aus der Programmierung einer Permutationsanalyse.

```
## generate array for permutations
tw <- array(dim=c(3,5,100))

rowx <-
c(
"present_cc",
"discordant",
"absent_cc")

colx <-
c(
"theta",
"spike_wave",
"PPR",
"focal_sw",
"alpha")

dimx <- c(1:100)

dimnames(tw) <- list(rowx, colx, dimx)

## Permutate 100 x

for (i in 1:100)
{
ax <- permutate_proband_constant(a, acx3)
fx <- create(ax)
gx <- count(fx)
tw[,1,i] <- gx[,2]
tw[,2,i] <- gx[,3]
tw[,3,i] <- gx[,4]
tw[,4,i] <- gx[,5]
tw[,5,i] <- gx[,6]
print(i)
}

## Plot results
```

status	theta	spike_wave	PPR	focal_sw	alpha
present_cc	18	13	34	8	8
discordant	125	161	150	82	151
absent_cc	107	76	66	160	91

Abbildung 6 Permutationsanalyse: Beispiel einer Programmierung mit R

Mit Hilfe von „rowx“ und „colx“ werden zunächst die Zeilenbeschriftungen für die spätere Tabelle der Ergebnisse der Permutationsanalyse festgelegt. Der Ausdruck „dim“ gibt die Zeilenanzahlen an. Zusätzlich werden in der Permutationsgleichung Variablen bestimmt (hier also: Status des Probanden soll konstant gehalten werden). Der Ausdruck „Plot result“ ermöglicht eine tabellarische Ansicht der Ergebnisse

Für die Analyse mit dem R Statistikprogramm, wurde die Zahl der betroffenen Familienmitglieder (d. h. Familienmitglieder mit einem bestimmten Merkmal EEG) variabel gehalten.

Eine Permutationsanalyse wurde zunächst für Kohorte 1 angefertigt (Permutation 1).

Außerdem wurde eine zweite Permutationsanalyse bei einer ausgewählten Gruppe der Kohorte 2 durchgeführt (Permutation 2) (siehe unten).

Dabei wurde Permutation 1 mit 100 Permutationen und Permutation 2 mit 10.000 Permutationen durchgeführt. Exakte p-Werte wurden in beiden Permutationen für Konkordanz eines EEG-Merkmals und Konkordanz für das Fehlen eines bestimmten Merkmals EEG beurteilt.

Durch dieses Verfahren kann computergeneriert die Verteilung in eine beinahe beliebig große Zahl von Replikationen durchgeführt werden.³⁸

Zusammenfassend lässt sich mit Hilfe der Permutationsanalyse somit die beobachteten und erwarteten Verteilungen von Konkordanzen in den Familien vergleichen und erlaubt somit Rückschlüsse auf eine zufällige Verteilung versus signifikantes Clustering.

2.3.2 Logistische Regression:

Regressionsmodelle dienen der Beschreibung des Zusammenhangs zweier oder mehrerer Variablen durch eine Gleichung, die durch Parameterschätzung den beobachteten Daten so angepasst wird, dass die Datenpunkte möglichst wenig von den unter dem Regressionsmodell erwarteten Daten abweichen.³⁸

Die logistische Regressionsanalyse wird eingesetzt, um Gruppenunterschiede zu erklären oder Gruppenzugehörigkeiten zu prognostizieren.

Zur Klärung von Gruppenunterschieden werden zunächst Variablen identifiziert, die die im Interesse der Untersuchung stehenden Unterschiede produzieren und die Stärke und Richtung ihres Einflusses bestimmen.

Da bei der logistischen Regressionsanalyse Gruppenzugehörigkeitswahrscheinlichkeiten geschätzt werden, sind auch Aussagen darüber möglich, wie sich die Wahrscheinlichkeiten verändern, wenn sich die Werte der unabhängigen Variablen (Regressoren) verändern.

Bei der logistischen Regressionsanalyse sind keine Verteilungsannahmen im Vorfeld nötig. Zwischen den Kovarianten (Einflussvariablen) sollte keine starke Korrelation vorliegen, da sonst verzerrte Schätzungen und erhöhte Standardfehler auftreten können.^{46, 47}

Die logistische Regressionsanalyse für Kohorte 2 wurde unter Regression des Vorhandenseins von einem der fünf EEG-Mustern bei Verwandten durchgeführt.

Kovarianten waren der Probandenstatus und das Alter der Verwandten bei Erstmanifestation des EEG-Merkmals.

Die logistische Regression erfolgte dem R-Programm.⁴⁸

Nur EEG-Muster mit signifikanten Ergebnissen der Permutationsanalyse für eine der zwei Konkordanzen (Vorhandensein oder Fehlen des EEG-Musters) in Kohorte 1 wurden für die Analyse der Kohorte 2 einbezogen.

In einem zweiten Schritt wurde die logistische Regressionsanalyse für Kohorte 2 für alle Kombinationen von EEG-Mustern von Probanden und Verwandten, unter Einschluss des Alters der Verwandten als Kovariante, wiederholt, um zu beurteilen, ob eines der fünf EEG-Muster bei Verwandten die Chance für das Auftreten eines entweder gleichen oder anderen spezifischen EEG-Muster im Probanden erhöht.

So wurde beispielsweise untersucht, ob das Auftreten von generalisierten spike-waves beim Probanden in Zusammenhang zum Auftreten von PPR bei seinen Verwandten steht.

Als sekundäre Analyse wurden 134 Familien aus Kohorte 2 ausgewählt, in denen jedes der fünf EEG-Muster bei dem Probanden und mindestens einem zusätzlichen Familienmitglied zu finden war.

Es wurden eine Permutationsanalyse sowie eine logistische Regressionsanalyse (Analyse 2) an dieser Untergruppe durchgeführt. Ziel der sekundären Analyse war die Effekte und Ergebnisse der logistischen Regression in der gesamten Kohorte und die logistische Regression sowie die Permutationsanalyse in einer ausgewählten Kohorte zu vergleichen.

3 Ergebnisse

3.1 Struktur der Kohorten

Das Familienarchiv der Neuropädiatrie umfasst insgesamt 1012 Familien.

Es wurden Stammbäume von 372 Familien, ab dem Zeitpunkt der frühesten Rekrutierung, durchgesehen, um für Kohorte 1 250 Familien mit mindestens zwei Familienmitgliedern mit EEG-Muster zu identifizieren.

3 von 250 Familien erfüllten bei Überprüfung der Daten aufgrund von Fehlern bei der Dateneingabe nicht die Einschlusskriterien, so dass 247 Familien in Kohorte 1 enthalten sind.

Bei diesen Familien bestehen keine Angaben zur Erstmanifestation der EEG-Muster und eventuellen neuropädiatrischen Diagnosen, da keine Unterlagen mehr vorhanden waren.

Bei den restlichen 640 Familien wurden die EEG-Befundung bei allen Familienmitgliedern durch zwei unabhängige Befunder konsequent durchgeführt.

293 von 640 Familien erfüllten die Einschlusskriterien und wurden durch beide Befunder identisch befundet. Sie bilden die Kohorte 2.

3.2 Demographische Daten

3.2.1 EEG-Muster

Die demographischen Daten der Familien aus Kohorte 1 und Kohorte 2 sind tabellarisch dargestellt. (Siehe Tabelle 1)

Sie beinhaltet zum einen, die Anzahl der für die jeweiligen EEG-Muster positiven Personen in Kohorte 1 und 2 sowie deren Prozentzahl bezüglich der Gesamtzahl der Individuen mit positivem EEG-Befund.

Ebenfalls aufgeführt ist die Anzahl der betroffenen Individuen in den Familien.

Tabelle 1: Demographie der Kohorte 1 und 2

	Kohorte 1		Kohorte 2	
	Anzahl	Anteil / %	Anzahl	Anteil / %
Familien	247		293	
2 Individuen	120		27	
3 Individuen	84		9	
4 Individuen	27		114	
>5 Individuen	15		59	
Individuen insgesamt	694		1118	
EEG positiv	694		520	
Generalisierte spike-waves	228	33	192	37
Fokale sharp-waves	108	16	191	37
Photoparoxysmale Reaktion	313	45	241	46
Theta-Rhythmen	202	29	102	19
Alpha-EEG	216	31	54	10

Legende Tabelle1:

Aufgeführt sind jeweils die Anzahl der Familien mit entsprechend vielen EEG-positiven Familienmitgliedern, i.e. in Kohorte 1 waren in 129 Familien 2 Mitglieder die eines oder mehrere der untersuchten EEG-Muster aufwiesen. Prozentangaben beziehen sich auf Individuen mit positiv befundetem EEG in Bezug auf die Gesamtanzahl der Kohorte, i.e. 520 Individuen in Kohorte 2

So finden sich in Kohorte 1 am häufigsten Familien mit 2 Individuen die ein positives EEG-Merkmal aufweisen (129).

Es wurde in dieser Kohorte eine ähnliche Häufung aller EEG-Muster mit Ausnahme fokaler sharp-waves gefunden. Dieses EEG-Muster wurde seltener registriert.

Für die Merkmalskombinationen wurde eine Odds-Ratio (OR) bestimmt.

Die Odds ergibt sich aus dem Quotienten der beiden Wahrscheinlichkeiten, dass eine Person die untersuchte Kombination aufweist oder nicht.

Die Odds-Ratio ist eine Analogie zum relativen Risiko. Sie stellt die Chance der Merkmalsausprägung bei Personen mit positiver Familienanamnese der Menschen ohne Familienanamnese gegenüber.

Tabelle 2: Kombinationen von 2 EEG-Mustern in allen Individuen Kohorte 1

	Theta %	GSW %	PPR %	FSW %	Alpha %
Theta	203	111 (0,547) p=2,29 OR=0,26	80 (0,394) p=0,79 OR=1,39	44 (0,217) p=1,66 OR=0,54	13 (0,060) p=0,154 OR=10,38
GSW	111 (0,487)	228	121 (0,530) p= 2,39 OR= 0,62	50 (0,219) p=2,76 OR= 0,51	43 (0,189) p= 0,50 OR= 2,56
PPR	80 (0,256)	121 (0,387)	313	43 (0,137) p=0,13 OR= 1,24	35 (0,112) p= 0,23 OR= 7,26
FSW	44 (0,407)	50 (0,462)	43 (0,398)	108	7 (0,064) p= 0,18 OR= 8,06
Alpha	13 (0,060)	43 (0,198)	35 (0,161)	7 (0,032)	217

Legende Tabelle 3: Fett markierte Werte zeigen signifikante Ergebnisse, Klammerausdrücke in % beziehen sich auf den Anteil der Personen mit zusätzlich untersuchtem positivem EEG Muster an der Gesamtzahl derer mit positivem ersten EEG-Muster a.e 111 Personen der 203 Personen mit Theta haben gleichzeitig GSW, entsprechend 55%, und von den 228 Personen mit GSW sind 111 Personen gleichzeitig Theta positiv, das entspricht 49%

Bei Betrachtung der Merkmalskombinationen der Individuen aus Kohorte 1 in Tabelle 2 fällt auf, dass Individuen mit dem EEG Muster der Alpha-Rhythmen gehäuft ebenfalls eines der weiteren untersuchten Merkmale aufweisen.

Zudem sind Individuen mit Theta Rhythmen eher PPR (OR 1,39) und Individuen mit PPR eher FSW (OR 1,24) positiv.

Die Kohorte 2 umfasst 293 von 640 Familien.

Hier wurden am häufigsten Familien mit 4 betroffenen Individuen (114) beobachtet.

Es dominieren die EEG-Muster generalisierte spike-waves, fokal-sharp waves und die photoparoxysmale Reaktion.

Zusätzlich ist für Kohorte 2 die Altersverteilung beim Auftreten der EEG-Muster in der **Abbildung 7** dargestellt.

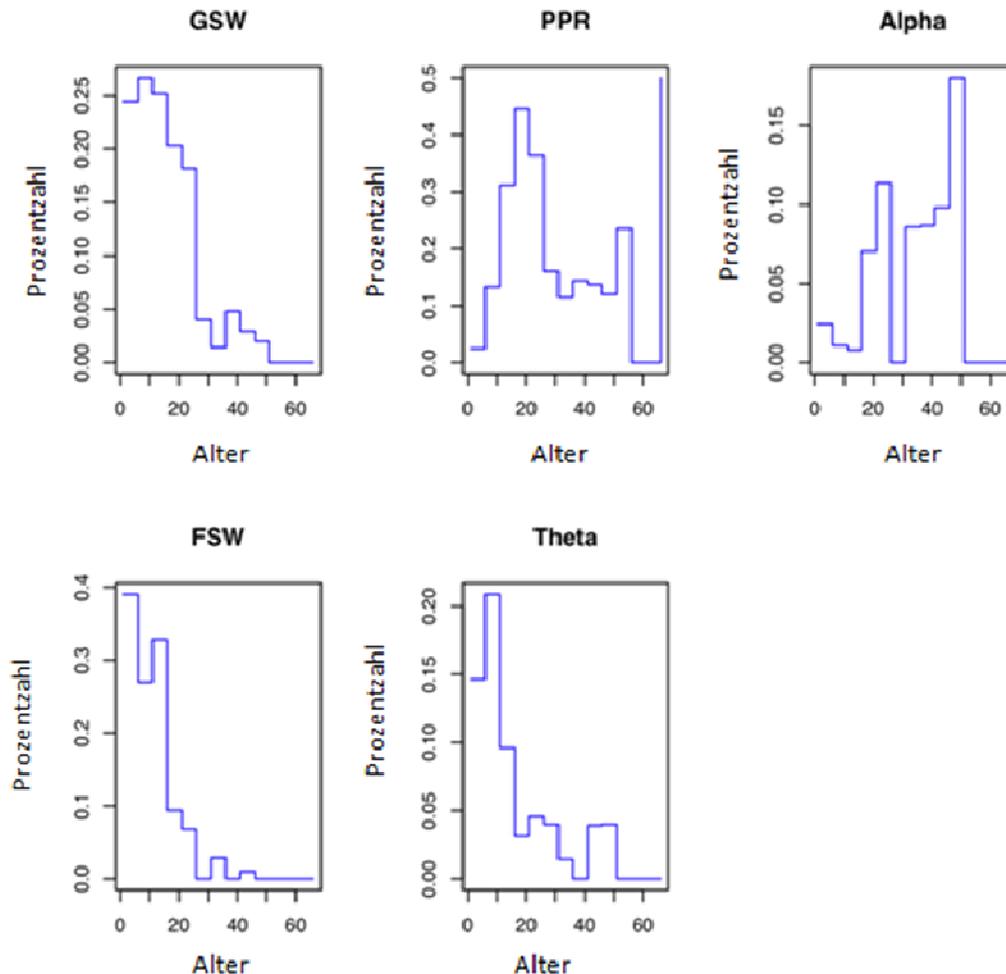


Abbildung 7 Altersverteilung der EEG-Muster

Auf der x-Achse ist das Alter bei Erstmanifestation eines EEG-Merkmals in Jahren angegeben, die y-Achse zeigt den Prozentsatz der Personen mit einem bestimmten EEG-Muster.

Die Zahl der positiven EEG-Befunde mit dem Merkmal Theta-Rhythmen hat hier ein Maximum im Alter zwischen 5 und 10 Jahren. Die Anzahl an positiven Befunden bei älteren Kindern fällt stark ab.

Das Auftreten von generalisierten spike-waves hat sein Maximum in einem Alter von 10-15 Jahren, dennoch tritt dieses EEG-Muster auch im Kleinkindalter bereits mit einer Häufigkeit von 24 % auf.

Ein Auftreten nach dem 20. Lebensjahr ist mit unter 5 % in dieser Kohorte eher selten.

Auch fokale sharp-waves sind in der Kohorte 2 bereits im frühen Kindesalter abzuleiten.

So finden sie sich bei fast 40 % der untersuchten Kinder bereits in einem Alter zwischen 0 und 10 Jahren.

PPR hat einen Altersgipfel zwischen dem 15. und 20. Lebensjahr, dennoch ist es mit einer Häufigkeit von 15-25 % auch bis zum 55. Lebensjahr zu finden.

Alpha-Rhythmen finden sich vermehrt im Erwachsenenalter.

Bereits bei einfacher Betrachtung der Merkmalskombinationen in Tabelle 3 aller Individuen in Kohorte 2 fällt auf, dass Individuen mit Theta-Rhythmen vermehrt auch die EEG-Muster GSW (OR 7,85), PPR (OR 1,86) und CTS (OR 3,18) aufwiesen.

Darüber hinaus waren Individuen mit GSW eher PPR (OR 3,39) und CTS (OR 3,04) positiv.

Tabelle 3: Kohorte 2: Kombinationen von 2 EEG -Mustern in allen Individuen

	Theta (%)	GSW (%)	PPR (%)	FSW (%)	Alpha (%)
Theta	102	56 (55%) p=3.4 x 10⁻²⁰ OR=7.85	33 (32%) p=0.008 OR=1.86	37 (36%) p=7.4 x 10⁻⁷ OR=3.18	4 (4%) p=1 OR=0.81
GSW	56 (29%)	192	80 (42%) p=2.4 x 10⁻¹² OR=3.39	63 (33%) p=3.0 x 10⁻⁹ OR=3.04	10 (5%) p=0.71 OR=1.13
PPR	33 (14%)	80 (33%)	241	44 (18%) p=0.63 OR=1.11	15 (62%) p=0.23 OR=1.46
FSW	37 (19%)	63 (33%)	44 (23%)	191	4 (21%) p=0.06 OR=0.38
Alpha	4 (8%)	10 (29%)	15 (28%)	4 (8%)	54

Legende Tabelle 3:

Fett markierte Werte zeigen signifikante Ergebnisse, Klammersausdrücke in % beziehen sich auf den Anteil der Personen mit zusätzlich untersuchtem positivem EEG Muster an der Gesamtzahl derer mit positivem ersten EEG-Muster a.e 56 Personen der 102 Personen mit Theta haben gleichzeitig GSW, entsprechend 55%, und von den 192 Personen mit GSW sind 56 Personen gleichzeitig Theta positiv, das entspricht 29%

Zudem wurden aus den vorhandenen Patientenakten das Alter bei Erstmanifestation des EEG-Musters sowie die zugehörigen neuropädiatrischen Diagnosen aufgenommen und in zusammengestellt. (Tabelle 4).

Tabelle 4: Epilepsie-Phänotypen in Kohorte 2, (Klammerausdrücke in %)

	Probanden	Familien- mitglieder
Total	293	825
Personen mit Epilepsie/individuellem Anfall	229 (78%) ^a	33 (4%)
Generalisierte Epilepsie		
idiopathisch generalisierte Epilepsie	48 (21%) ^c	9 (27%)
Myoklonisch-astatische Epilepsie	15 (7%)	0
Frühkindliche Grand-Mal Epilepsie	21 (9%)	3 (9%)
Fokale Epilepsien		
Rolando-Epilepsie	42 (18%)	2 (0.06)
atypische benigne Partialepilepsie	9 (2%)	0
Symptomatische fokale Epilepsie (Hirnläsionen)	21 (9%)	6 (18%)
Einzelne Anfälle, Fieberkrämpfe		
Neugeborenenanfälle	4 (2%)	0
Fieberkrämpfe	37 (16%)	10 (3%)
Einzelne symptomatische Anfälle	16 (7%)	3 (9%)
Andere Epilepsie-Syndrome		
West-Syndrom	17 (7%)	0
Unklassifizierte Epilepsie	6 (3%)	0
Nicht von epileptischen Anfällen betroffen		
Andere neurologische Erkrankungen ^d	59	16

^a Anteil an allen Individuen ^c Anteil an allen Individuen mit Epilepsien

^d beinhaltet Kopfschmerzen, Migräne, Tic-Störungen

Von den 293 Probanden hatten 78 % epileptische Anfälle oder eine manifeste Epilepsie. Am Häufigsten vertreten waren die idiopathisch generalisierte Epilepsie (21 %), Rolando-Epilepsien (18 %) sowie Fieberkrämpfe (37 %).

Verwandte der untersuchten Probanden hatten in 4 % der Fälle ebenfalls epileptische Anfälle. Auch hier fanden wir in der Anamnese gehäuft idiopathisch generalisierte Epilepsien (27 %) und Fieberkrämpfe (16 %).

3.3 Statistische Ergebnisse

3.3.1 Permutationsanalyse in Kohorte 1:

Die Permutationsanalyse in Kohorte 1 wurde mit 100 Permutationen durchgeführt.

Ein signifikantes Ergebnis liegt vor, wenn der p-Wert unter 0,05 liegt.

Wie in Tabelle 5 dargestellt ergab die Analyse der Kohorte 1 für die Konkordanz der Präsenz der EEG Phänotypen ein signifikantes Ergebnis für das EEG Merkmal fokale sharp-waves ($p = 0,04$).

Für die EEG- Phänotypen generalisierte spike waves ($p = 0,46$), photoparoxysmale Reaktionen ($p = 0,44$), Theta-Rhythmen ($p = 0,06$) und Alpha-EEG ($p = 0,84$) konnten hingegen keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden.

Tabelle 5: Permutationsanalyse Kohorte 1

	Konkordanz für das Vorhandensein des EEG-Phänotyps		Konkordanz für die Abwesenheit des EEG-Phänotyps	
	beobachtet (erwartet)	p-Wert	beobachtet (erwartet)	p-Wert
GSW	14 (13,19)	0,46	76 (66,20)	< 0,001
FSW	8 (6,08)	0,035	161 (152,91)	0,0075
PPR	35 (33,88)	0,435	66 (51,27)	<0,001
Theta	19 (13,44)	0,06	108 (94,55)	<0,001
Alpha	8 (9,95)	0,737	92 (97,08)	0,942

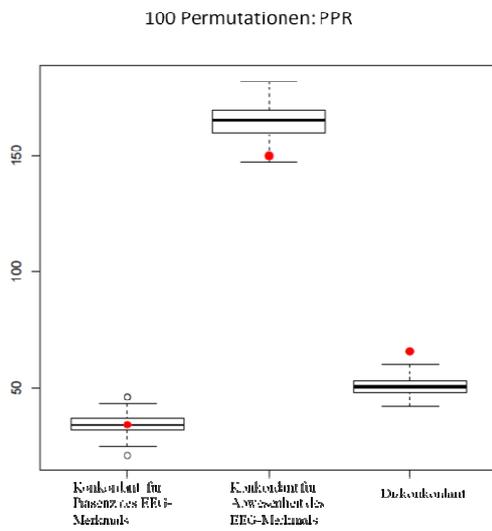
Legende Tabelle 5: gezeigt sind die beobachteten Konkordanzen für die Präsenz bzw. Abwesenheit der jeweiligen EEG-Muster sowie der in der Permutationsanalyse berechnete jeweilige p-Wert. Fett-Markierte Werte sind immer signifikante Ergebnisse.

Die graphische Aufarbeitung der Ergebnisse erfolgt als Box-Plots in Abbildung 8.

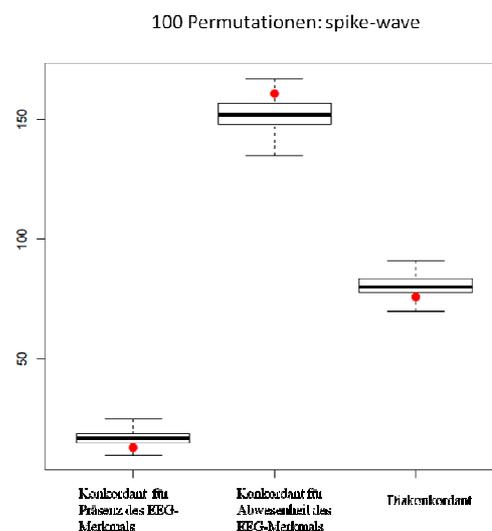
Der Boxplot zeigt die zufällige Verteilung der Daten, eine Markierung als roter Punkt, das in der Kohorte beobachtete Ergebnis.

So ergibt sich aus dem Boxplot beispielsweise für das EEG-Muster fokale sharp waves, dass mehr Familien konkordant für die Präsenz und Abwesenheit für dieses EEG-Muster beobachtet wurden als bei zufälliger Verteilung zu erwarten wäre, bzw., dass es weniger Familien als erwartet mit einer Diskordanz für fokale sharp waves gibt.

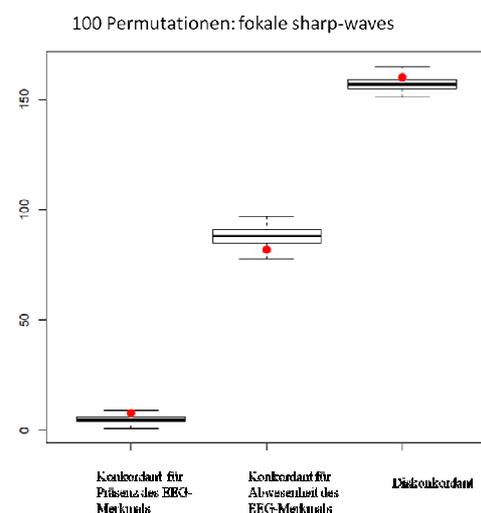
Permutation 2 mit 10000 Permutationen zeigte vergleichbare Ergebnisse für alle EEG-Muster. (Daten nicht gezeigt).



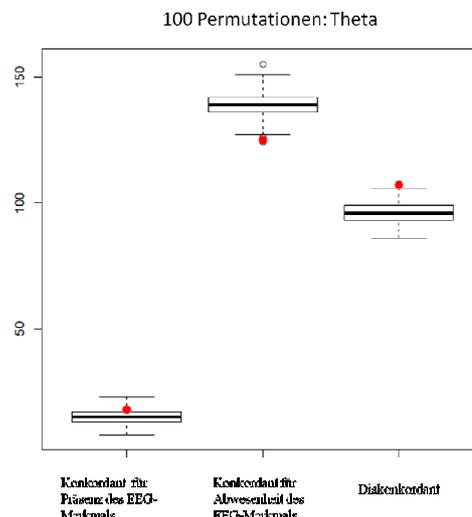
Die roten Punkte kennzeichnen den beobachteten Wert



Die roten Punkte kennzeichnen den beobachteten Wert



Die roten Punkte kennzeichnen den beobachteten Wert



Die roten Punkte kennzeichnen den beobachteten Wert

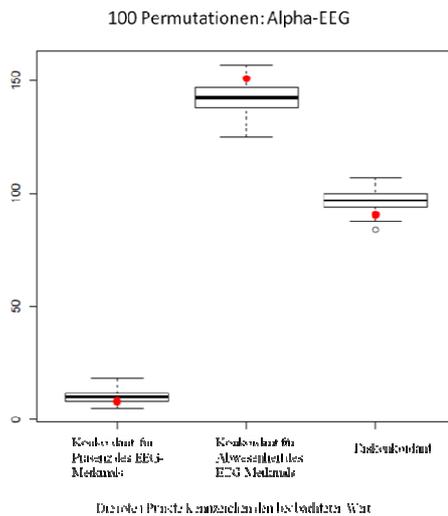


Abbildung 8: Ergebnisse der Permutationsanalyse: 100 Permutationen: Der Box-Plot zeigt jeweils die zufällige Verteilung, der rote Punkt das beobachtete Ergebnis.

3.3.2 Logistische Regressionsanalyse der Kohorte 2

In der logistischen Regressionsanalyse der Kohorte 2 wurden generalisierte spike-waves, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion und Theta-Rhythmen analysiert. Das Alpha-EEG wurde nicht berücksichtigt, da es für dieses EEG-Muster in der Permutationsanalyse in Kohorte 1 keine signifikanten Ergebnisse gab.

Wie in Tabelle 6 dargestellt, ergab sich für alle vier EEG-Phänotypen ein höheres Risiko der Merkmalsausprägung desselben Merkmals bei Verwandten, wenn ein EEG-Muster bei Probanden vorhanden war.

Tabelle 6 Beziehungen der EEG-Muster bei Verwandten und Probanden in Kohorte 2

p-Wert (OR)	Verwandte				
Proband	GSW	FSW	PPR	Theta	Alpha
GSW^a	$1,78 \times 10^{-5}$ 4,25 (2,26; 8,59)	0,131 0,60 (0,28; 1,22)	0,0075 1,63 (1,12; 2,38)	0,425 1,31 (0,63; 2,78)	0,155 1,55 (0,80; 3,08)
FSW	0,0005 0,37 (0,19; 0,69)	0,027 2,25 (1,12; 4,83)	0,163 0,79 (0,54; 1,14)	0,003 0,36 (0,15; 0,78)	0,898 0,97 (0,50; 1,89)
PPR	$1,01 \times 10^{-6}$ 3,70 (2,02; 6,87)	0,483 1,07 (0,50; 2,21)	$1,03 \times 10^{-15}$ 4,66 (3,21; 6,82)	0,311 1,28 (0,58; 2,70)	0,4 0,92 (0,43; 1,89)
Theta	0,079 1,65 (0,86; 3,07)	0,646 0,81 (0,32; 1,85)	0,924 0,97 (0,62; 1,50)	0,26 1,53 (0,71; 3,14)	0,82 0,96 (0,42; 2,05)
Alpha	0,32 1,68 (0,42; 4,98)	0,53 0,52 (0,01; 3,25)	0,0129 2,39 (1,10; 4,96)	0,756 1,23 (0,14; 5,15)	$8,04 \times 10^{-5}$ 7,35 (2,96; 17,15)

Legende Tabelle 6: Fett markierte Werte sind signifikant, ^a Regression auf dem EEG-Muster des Probanden mit dem jeweiligen EEG-Muster der Verwandten und des Alters des Verwandten als Kovariaten.

Die logistische Regressionsanalyse beinhaltete das Alter der Verwandten als Kovarianten sowie die Präsenz des jeweiligen EEG-Merkmals beim Probanden.

Die Analyse ergab signifikante Ergebnisse für generalisierte spike waves ($p < 0,0001$), photoparoxysmale Reaktion ($p < 0,0001$) und fokale sharp waves ($p = 0,027$), nicht aber für Theta-Rhythmen- ($p = 0,26$).

Signifikante Ergebnisse in der logistischen Regressionsanalyse implizieren, dass ein Verwandter eine höhere Wahrscheinlichkeit hat, ein bestimmtes EEG-Muster zu haben, wenn dieses Muster beim Probanden vorhanden ist. Dies lässt auf familiäre Häufung schließen.

Somit ergeben die untersuchten Daten, dass Verwandte eines Patienten mit einem der folgenden EEG-Muster: generalisierte spike waves, photoparoxysmale Reaktion oder fokale sharp waves ein erhöhtes Risiko tragen, das jeweilige Merkmal ebenfalls zu haben.

Für das Merkmal Theta-Rhythmen konnte hingegen keine familiäre Häufung festgestellt werden.

Zusätzlich wurde ein Chi-Quadrat Test durchgeführt. Die Kovariable des Alters bleibt in diesem Test allerdings unberücksichtigt. Die Ergebnisse des Chi-Quadrat-Tests bestätigen in etwa die Ergebnisse der logistischen Regressionsanalyse ohne Alterskorrektur.

Es wurde in der Kohorte 2 untersucht, inwieweit Beziehungen zwischen den verschiedenen EEG-Mustern beim Probanden zu EEG-Mustern seiner Verwandten bestehen. Die hier angewendete logistische Regressionsanalyse ergab folgende Ergebnisse aus Tabelle 7.

Tabelle 7 Logistische Regressionsanalyse der Kohorte 2

Logistische Regressionsanalyse				
	p-Wert	OR (95% CI)	p-Wert Alter	OR Alter (95% CI)
Generalisierte spike waves	1,78E-05	4.25 (2.26; 8.59)	0,000873	0.96 (0.94; 0.98)
Fokale sharp-waves	0,0274	2.25 (1.12; 4.83)	1,96E-05	0.93 (0.89; 0.96)
Photoparoxysmale Reaktion	1,03E-15	4.66 (3.21; 6.82)	0,0366	0.99 (0.97;0.999)
Theta-Rhythmen	0,25611	1.53 (0.71; 3.14)	0,00146	0.95 (0.92;0.98)
Alpha-EEG ^a	6,78E-06	7.35 (2.96; 17.15)	1,76E-06	1.06 (1.03;1.08)

Chi Quadrat-Test ^c			
	p-Wert	OR (95% CI)	RR ^d
Generalisierte spike-waves	4,04E-06	4.16 (2.11; 8.82)	1,7
Fokale sharp-waves	0,01308	2.45 (1.16; 5.54)	1,41
Photoparoxysmale Reaktion	2,31E-15	4.43 (3.01; 6.55)	2,36
Theta-Rhythmen	0,3109	1.49 (0.65; 3.23)	1,33
Alpha-EEG ^a	8,04E-05	6.60 (2.55; 15.73)	5,46

Legende Tabelle 7: ^a Alpha-Rhythmen sind schattiert da sie in Kohorte 1 nicht signifikant waren und anschließend nur in einer sekundären Analyse analysiert wurden. ^c Der Chi-Quadrat-Test enthält nicht die Kovariable des Alters und entspricht in etwa der logistischen Regressionsanalyse ohne Alterskorrektur. ^d relativen Risiken zum Vergleich

Die Manifestation der EEG-Muster bei Probanden zeigte sich weitgehend unabhängig von den EEG-Mustern der Verwandten.

Dennoch konnte für die folgenden EEG-Muster ein Zusammenhang festgestellt werden.: (1) PPR bei Verwandten erhöht das Risiko für generalisierte spike-waves im Probanden und umgekehrt, (2) das Risiko für fokale sharp waves des Probanden wurde verringert, wenn die Verwandten ein positives EEG für generalisierte spike waves oder Theta-Rhythmen hatten und (3) beim Proband ließ sich häufiger ein Alpha-EEG ableiten, wenn die Verwandten eine positive photoparoxysmale Reaktion aufwiesen.

3.3.3 Zweite Analyse der Kohorte 2

Ziel der sekundären Analyse war es die Wirkung der logistischen Regression in der gesamten Kohorte und die logistische Regression sowie die Permutationsanalyse in einer ausgewählten Kohorte zu vergleichen.

Für die sekundäre Analyse wurden 134 Familien aus Kohorte 2 ausgewählt, in denen jedes der fünf EEG-Muster (generalisierte spike-waves, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion, Theta-Rhythmen und Alpha-EEG) bei dem Probanden und mindestens einem zusätzlichen Familienmitglied zu finden war.

Die Daten wurden mittels Permutationsanalyse sowie logistischer Regressionsanalyse untersucht.

Die Permutationsanalyse, mit 134 Familien aus Kohorte 2, zeigte, wie in Tabelle 8 dargestellt, ein signifikantes Clustering für die photoparoxysmale Reaktion ($p = 0,01$), aber nicht für generalisierte spike-waves ($p = 0,45$), fokale sharp waves ($p = 0,06$) oder Theta-Rhythmen ($p = 0,17$).

Tabelle 8: Permutationsanalyse der Teilkohorte 2

	Konkordanz für Präsenz des EEG-Phänotyps		Konkordanz für Abwesenheit des EEG-Phänotyps	
	Beobachtet (erwartet)	p-Wert	Beobachtet (erwartet)	p-Wert
GSW	14 (13,20)	0,45	53 (49,59)	0,15
FSW	18(13,68)	0,06	55 (54,01)	0,43
PPR	31 (23,04)	0,01	46 (37,10)	0,002
Theta	5 (3,05)	0,17	86 (83,93)	0,22
Alpha	2 (1,83)	0,59	105 (102,55)	0,09

Legende Tabelle 8

Gezeigt sind die beobachteten Konkordanzen für die Präsenz bzw. Abwesenheit der jeweiligen EEG-Muster sowie der in der Permutationsanalyse berechnete jeweilige p-Wert. Dabei wurde der EEG-Status des Probanden konstant gehalten. Fett-markierte Werte sind signifikante Ergebnisse.

Die logistische Regression bezüglich des Status des Verwandten mit dem Probandenstatus und dem Alter des Verwandten als Kovarianten erbrachte signifikante Ergebnisse in Bezug auf generalisierte spike-waves ($p = 0,003$), fokale sharp-waves ($p < 0,001$) sowie für die photoparoxysmale Reaktion ($p < 0,001$), aber nicht für Theta-Rhythmen ($p = 0,13$).

Die Analyse des Alpha-EEGs mittels logistischer Regression war in der gesamten Kohorte 2 ($p < 0,001$) und in der Untergruppe von 134 Familien mit Hilfe der Permutationsanalyse ($p = 0,0306$) sowie der logistische Regression ($p = 0,0345$) signifikant.

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte, mit einer großen Familienstudie mit Familien aus dem EEG-Archiv, eine familiäre Häufung der fünf Epilepsie-assoziierte EEG-Muster generalisierten spike wave (GSW), fokale sharp waves (FSW), photoparoxysmale Reaktion (PPR), Theta-Rhythmen (Theta) und Alpha-Rhythmen (Alpha) untersucht werden.

In vorhergehenden Studien schien die Veranlagung für den EEG-Phänotyp für alle fünf EEG-Muster genetisch zu sein. Die Rahmenbedingungen in diesen Studien waren aber durch unterschiedliche Grundlagen der Methodik zur Beurteilung von EEG- Mustern sowie kleine Fallzahlen schlecht miteinander vergleichbar. Außerdem bedienten sich viele dieser Studien einer rein deskriptiven Statistik, die die Verteilung eines Merkmals nur beschreibt und keine Aussage über die statistische Signifikanz der Ergebnisse machen kann.

Neuere Studien zur Vererbung der kindlichen EEG-Muster wurden nicht mehr systematisch durchgeführt. Das qualitativ hochwertige EEG Archiv der Klinik für Neuropädiatrie dient somit als einzigartige Ressource um Fragen nach der Segregation dieser EEG-Muster in Familien beantworten zu können.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde nun die familiäre Häufung der EEG-Muster anhand der großen Datenmenge des EEG-Archivs mit modernen statistischen Methoden untersucht. Hierzu wurde ein kombinierter Ansatz aus Permutationsanalyse für familiäre Konkordanz und logistischer Regression mit Einbezug des Alters der Verwandten gewählt.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie ein signifikantes Clustering von GSW, PPR und FSW mit Hilfe zweier statistischer Analysen.

Dies deutet auf eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Konkordanz der Präsenz aber auch der Konkordanz der Abwesenheit der EEG-Muster und damit auf eine genetische Komponente der EEG-Phänotypen hin.

Die beiden anderen untersuchten EEG-Muster abnorme Theta-Rhythmen und Alpha-EEG zeigen in den Analysen gemischte Ergebnisse, so dass im Rahmen dieser Studie kein konsequenter Beweis für familiäre Häufungen geliefert werden kann.

So konnte für Theta-Rhythmen in Kohorte 1 kein signifikantes Ergebnis für die Konkordanz der Präsenz des EEG-Musters in der Permutationsanalyse, sondern nur für die Konkordanz der Abwesenheit des Phänotyps gefunden werden.

Die Permutationsanalyse im Rahmen einer zweiten Analyse Kohorte 2 erbrachte allerdings auch für die Konkordanz der Abwesenheit des EEG-Musters keine signifikanten Ergebnisse.

In der logistischen Regressionsanalyse der Kohorte 2 ergab sich auch kein erhöhtes Risiko für Ausprägung eines EEG-Phänotyps wenn Proband Theta-Rhythmen im EEG aufwies.

Das EEG Muster des Alpha-EEGs erbrachte in der Kohorte 1 mit Hilfe der Permutationsanalyse weder für die Konkordanz der Präsenz noch der Abwesenheit des EEG-Phänotyps signifikante Ergebnisse.

Jedoch ergab die Analyse des Alpha-EEGs mittels logistischer Regression der gesamten Kohorte 2 und der Sub-Kohorte mit Hilfe der Permutationsanalyse sowie der logistische Regression signifikante Ergebnisse für ein Clustering des EEG-Musters.

Im Folgenden werden die Ergebnisse zu den einzelnen untersuchten EEG-Mustern diskutiert.

4.1 *Generalisierte spike-waves*

Das EEG-Muster der generalisierten spike-wave-Aktivität repräsentiert den elektrographischen Endophänotyp der idiopathischen generalisierten Epilepsien (IGE).

Die Erbllichkeit der idiopathisch generalisierten Epilepsien wurde bereits in zahlreichen Familien-und Zwillingsstudien untersucht.

So fand bereits Lennox 1951 höhere Konkordanzen idiopathisch-generalisierter Epilepsien bei eineiigen Zwillingen im Vergleich zu zweieiigen Zwillingen.⁴⁹

Der Hinweis einer genetischen Vererbung konnten später von Vadlamudi et al für generalisierte Epilepsien sowie für febrile Anfälle bestätigt werden.¹⁷

Weitere Familien- und Zwillingsstudien ergaben eine Heritabilität von 80% und höher.^{18, 39} Kjeldsen et al berichten in diesem Zusammenhang sogar von monozygoten Zwillingen, die trotz diskordantem Anfallstyp eine Konkordanz für das EEG-Muster generalisierter spike-waves aufwiesen.⁵⁰

Mit molekulargenetischen Methoden haben bis heute zahlreiche Assoziationsstudien versucht, häufige Varianten in Genen zu identifizieren, die zur Manifestation des Phänotyps einer idiopathisch generalisierten Epilepsie führen könnten.

Allerdings wurden meistens kleine Stichproben verwendet, und selbst in einer großen Studie von Kandidatengen durch Cavalleri et al⁵¹, konnten keine Genvariationen gefunden werden, die als Risikofaktoren eine Manifestation von idiopathisch-generalisierten Epilepsien statistisch signifikant beeinflussen.

Helbig et al⁵² gelang es in 12 von 1223 Personen mit idiopathischer generalisierter Epilepsie (IGE), eine Mikrodeletion in der Region 15q13.3 nachzuweisen. Diese Mikrodeletion ist in der allgemeinen Bevölkerung (<0,02%) praktisch nicht vorhanden und tritt somit in dieser Studie mal 50 häufiger bei Patienten mit IGE(1%) auf.^{53, 52} Sie ist somit der bisher bekannte größte Risikofaktor zur Entwicklung einer idiopathisch generalisierten Epilepsie. Die meisten der Deletionsträger in dieser Studie hatten ein IGE-Syndrom ohne weitere Erkrankungen bei denen zuvor eine Assoziation mit einer Mikrodeletion im Bereich von 15q13.3 beschrieben wurde, wie z.B. geistige Behinderungen, Autismus oder Schizophrenie.⁵⁴

Der kritische Bereich der Deletion auf 15q13.3 umfasst mindestens sieben Gene, einschließlich der CHRNA7 Gen für die $\alpha 7$ -Untereinheit des nikotineren Acetylcholin-Rezeptor kodiert und ist somit ein plausibles Kandidaten-Gen für die Epilepsie.⁵¹

In einzelnen Familien mit einer positiven Anamnese für Fieberkrämpfe und Absencen wurde eine Assoziation mit Mutationen im Gen GABRG2 beschrieben.²⁸

Darüber hinaus wurden Mutationen in der Region des CLCN2-Gens in Familien mit heterogenen idiopathisch generalisierten Epilepsiesyndromen identifiziert.⁵⁵

Varianten in CACN1H-Gen sowie in den Genen GABRD, ME2, BRD2 und NED N4L scheinen ebenfalls mit Absencen und anderen generalisierten Epilepsien assoziiert zu sein.³⁹

Auch die familiäre Häufung des EEG-Musters als solches stand im Interesse einiger Studien.

So diskutierten Metrakos und Metrakos bereits 1961 einen autosomal-dominanten Erbgang mit altersabhängiger Penetranz.⁶

Ein methodischer Unterschied bei dieser Arbeit scheint zu sein, dass die Autoren nicht zwischen spike-waves unterschieden haben, die per Photostimulation induziert wurden und solchen die spontan auftreten, so dass die Ergebnisse nicht mit Folgearbeiten vergleichbar sind.²

Der vorgeschlagene Erbgang konnte von späteren Autoren auch nicht bestätigt werden. Dennoch ist eine genetische Komponente des EEG-Phänotyps unbestritten.

Allerdings lässt sich auch in jüngeren Arbeiten keine eindeutige Antwort auf den Erbgang des EEG-Musters spike waves finden. So diskutiert weiterführende Literatur eine Heterogenität in der Vererbung der spike-waves.

4.2 Fokale sharp-waves

Zentro-temporale sharp-waves (auch gutartige fokale sharp-waves genannt) sind das EEG-Merkmal der benignen Rolando Epilepsien und verwandter Epilepsien.

Große populationsbasierte Studien und Zwillingsstudien deuten darauf hin, dass das EEG-Merkmal auch bei 1,6 - 4,7 % der Kinder im Alter zwischen 1 und 15 Jahren zu finden ist.^{56, 57, 58}

Basierend auf diesen Studien entwickeln nur etwa 9 % der Personen mit fokalem sharp-wave Befund im EEG epileptische Anfälle.⁵⁹

Erste Studien über die Genetik der fokalen sharp-waves zeigen widersprüchliche Ergebnisse:

Bray und Wisner postulierten eine autosomal dominante Vererbung, basierend auf einer Studie mit 40 Kindern, die zentrotemporale sharp-waves zeigten. Sie beobachteten dass das EEG-Muster zentrotemporale sharp-waves mit einer hohen Frequenz von 36 % ebenfalls bei den Geschwistern der Probanden auftrat, während die Frequenz in einer Kontrollgruppe bei nur 2 % lag.^{9, 60}

Studien der Arbeitskreise um Degen und Degen sowie Okubo et al konnten den von Bray und Wisner aufgestellten Erbgang allerdings nicht bestätigen.

So beschreiben Degen und Degen ein Auftreten von fokalen sharp-waves bei nur 6 % unter Geschwistern von Kindern mit diesem EEG Muster und Epilepsie.⁶¹

Hingegen haben Okubo et al eine größere Anzahl von Geschwistern von nicht epileptischen Kindern untersucht, die aber dieses EEG Muster trugen. Sie fanden das Merkmal der fokalen sharp waves bei ebenfalls 5,3 % der Geschwister der gesunden Probanden.⁵⁸

Der Erbgang der fokalen-sharp waves ist somit bisher nicht endgültig geklärt.

Es kann aber davon ausgegangen werden, dass die Annahme einer autosomal dominanten Vererbung als unzureichend bewiesen angesehen werden muss.

Ottmann bemerkte im Zusammenhang mit der Studie von Bray und Wisner, dass hier nur Familien untersucht wurden, in denen mehrere Verwandten neben dem positiven EEG-Phänotyp auch eine Rolando-Epilepsie zeigten, so dass die Familienmitglieder der Kohorte per se ein erhöhtes und nicht populationsidentisches Risiko für dieses EEG Muster aufweisen.⁶²

Eine neuere Familien-Studie von Doose und Neubauer, die die von Ottman kritisierten Bias nicht aufweist bestätigt eine erbliche Komponente der zentro-temporalen spikes.⁶³

Die Häufigkeit des EEG-Musters bei Geschwistern wird mit 11 % bestimmt und liegt somit höher als die der allgemeinen Population von 1,6 % ².

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit multifaktorieller Vererbung.

In einer multizentrischen Zwillingsstudie von Vadlamudi et al konnte 2006 festgestellt werden, dass in den Zwillings-Daten eine Diskordanz für die klassische Rolando-Epilepsie zu finden ist.¹⁰

Die Autoren vermuten daher, dass nicht vererbte Faktoren eine große Bedeutung bei der Manifestation der Rolando-Epilepsie haben.

Die Modellierung der Daten zeigte zudem, dass das gehäufte Vorkommen von zentro-temporalen sharp-waves in Familien nur in einem geringen Anteil mit einer gleichzeitigen familiären Häufung von Rolando-Epilepsien assoziiert ist.

Die Ergebnisse von Vadlamudi zeigen somit, dass Ätiologie und Formen der Vererbung von Rolando-Epilepsien und zentro-temporalen sharp-waves deutlich komplizierter sind als anfänglich angenommen wurde.

Die molekulare Ursache der genetisch vererbten fokalen sharp-waves steht im Interesse der Forschung.

So konnten zwei Studien die, unter Annahme verschiedener Erbgänge, die Verknüpfungsstelle mit der HLA-Region auf dem Chromosom 6p ⁶⁴ und die fragile Region auf dem X-Chromosomen ⁶⁵ untersuchten, nur negative Ergebnisse erbringen.

Die untersuchten Regionen konnten somit als wichtige Kandidatengene ausgeschlossen werden.

Neubauer et al gelang mittels einer DNA-Linkage Studie für die benignen Epilepsien der Kindheit mit zentrottemporalen spikes (BECTS) eine Verknüpfung mit einer Region auf Chromosomen 15q14 herzustellen.⁶⁶

Diese Chromosomenregion ist entweder mit der Alpha 7 Untereinheit des neuronalen nikotinergen Acetylcholin-Rezeptor (AChR) oder einem eng benachbarten Gen verknüpft.

Überraschenderweise wurde zuvor eine Verknüpfung des gleichen chromosomalen Bereichs in Familien mit myoklonischer Epilepsie, einem idiopathisch generalisierten Epilepsie-Syndrom, beschrieben.⁶⁷

2009 erkannten Strung et al mit einer Genom-weiten Linkage Analyse von Personen mit Rolando Epilepsie eine Verknüpfung von zentrotemporalen sharp-waves (CTS) mit der Chromosomenregion 11p13.⁶⁸ Mit Hilfe von statistischen Analysen und Feinkartierung der Varianten des Elongator-Proteins Complex 4 (ELP4) in zwei unabhängigen Datensätzen gelang eine Verknüpfung der CTS mit einer Veränderung des Intron 9 von ELP4. Ein Elongator-Proteinmangel führt im Gehirn zu einer Herunterregulierung von Genen die an der Zellbeweglichkeit und Migration beteiligt sind, welches die Anfälligkeit für epileptische Anfälle und neurologische Entwicklungsstörungen begünstigt.⁶⁸

Desweiteren beschrieben Reutlinger et al 2010⁶⁹ erstmals in drei Fällen eine Verbindung zwischen benignen fokalen Epilepsien mit zentrotemporalen sharp-waves und der Genregion GRIN 2A auf Chromosom 16p13, einem Gen welches für die Alpha 2-Untereinheit des neuronalen N-Methyl-D –Aspartate NMDA Rezeptor codiert und somit eine wichtige Rolle der Neurotransmitter einnimmt.

Lemke et al⁷⁰ berichteten 2013 von heterozygoten Mutationen im GRIN 2A-Gen in 7,5% der Fälle bei einer Kohorte von 359 Individuen mit idiopathisch fokalen Epilepsien mit fokalen sharp-waves.

Eine weitere Arbeit von Lesca et al⁷¹ zeigte, dass in etwa 20% der Fälle von Landau-Kleffner Syndromen, und dem Epilepsiesyndrom der kontinuierlichen spike und waves während des Schlafs eine de novo oder vererbte Mutationen im Gen gefunden werden kann. Diese Syndrome haben elektroenzephalographische Überschneidungen mit der Rolando-Epilepsie und können als verschiedene klinische Ausprägungen einer Erkrankung mit Symptomen von epileptischen Anfällen und Sprach-, Verhaltens- und kognitiven Behinderungen angesehen werden.

In der vorliegenden Arbeit konnte nun eine signifikante Häufung der Konkordanz sowohl für die Anwesenheit als auch für die Abwesenheit von fokalen sharp-waves in

Kohorte 1 gefunden und das familiäre Clustering mittels logistischer Regression zudem in Kohorte 2 bestätigt werden.

Die Befunde stützen somit die Ergebnisse der früheren Studien von Vadlamudi und Doose und weisen darauf hin, dass die Häufung von fokalen sharp-waves in Familien eine starke genetische Komponente hat.

Allerdings ist das Risiko für den EEG-Phänotyp fokale sharp-waves des Probanden nur geringfügig erhöht, wenn die Familie positiv für fokale sharp-waves ist (OR 2,25).

Des Weiteren konnte anhand der untersuchten Daten gezeigt werden, dass ein Auftreten keines der vier weiteren untersuchten EEG-Muster (spike-waves, Theta-Rhythmen, PPR und Alpha-EEG) bei Verwandten eines Probanden das Risiko für diesen erhöht das EEG-Muster fokale sharp waves zu zeigen (siehe Tabelle 6).

Dieser Befund stützt die Daten einer früheren Untersuchung von Doose und Baier⁸, die nahe legt, dass der genetische Beitrag zum EEG-Phänotyp fokale sharp waves unabhängig von dem anderer epilepsietypischer EEG-Muster ist.

4.3 Photoparoxysmale Reaktion

Die photoparoxysmale Reaktion, d.h. epileptiforme Aktivität in Reaktion auf intermittierende photische Stimulation, ist ein häufiges, altersabhängiges EEG Merkmal, das in bis zu 8 % aller Kinder mit einem Altersmaximum zwischen 5 und 15 Jahren gefunden wird.²

Das EEG Merkmal der photoparoxysmalen Reaktion ist eng mit dem der generalisierten spike-waves assoziiert.

Historisch wurde wenig Unterschied zwischen GSW und PPR in Bezug auf ihr hereditäres Auftreten gemacht, bis die Untersuchungen von Doose und Mitarbeitern den Gedanken aufbrachten, dass die beiden EEG-Merkmale unabhängig voneinander vererbt werden könnten.⁴⁴

Ein weiteres Problem bei der Interpretation älterer Studien ist, dass hierbei die photoparoxysmale Reaktion nicht einheitlich abgeleitet wurde und die Angaben zu

methodischen Parametern fehlen. Weiterhin wurde nicht in allen Studien eine einheitliche Klassifikation der photoparoxysmalen Reaktion herangezogen, so dass die Ergebnisse verschiedener Studien oft nicht vergleichbar sind.⁴⁴

In der vorliegenden Studie wurde festgestellt, dass unter den fünf untersuchten EEG-Mustern PPR sowohl in Kohorte 1 als auch in Kohorte 2 das EEG-Muster ist, bei dem das höchste Risiko für Familienmitglieder (OR 4,7) besteht, ebenfalls positiv für diesen EEG-Phänotyp zu sein, wenn der Proband diesen zeigt.

Unsere Studie fügt sich somit gut in die wachsende Zahl von klinisch-genetischen Daten ein, die einen starken genetischen Beitrag für photoparoxysmale Reaktionen betonen.

Waltz und Stephani untersuchten in ihrer Studie zu der Vererbbarkeit von Photosensitivität Datensätze von Familien mit einem PPR positiven Elternteil und betroffene Kinder ohne Eltern mit einer positiven PPR.¹³

Dabei ergab sich für die Manifestation ein Altersmaximum zwischen dem 5.-15. Lebensjahr, entsprechend einer altersabhängigen Penetranz.

Sie zeigten, dass ein positiver EEG-Phänotyp der photoparoxysmalen Reaktion eines Elternteils eine wichtige Determinante für das Risiko einer eben solchen Reaktion bei den Nachkommen ist. Dies ist kompatibel mit einem autosomal dominanten Erbgang und einer altersbedingten reduzierten Penetranz bei einem Risiko von bis zu 50 %.¹³

In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch in Kohorte 1 mittels Permutationsanalyse keine übermäßige Konkordanz für Familien mit PPR beobachtet werden. Der beobachtete Wert betrug 35 im Vergleich zu einem in der Permutationsanalyse errechneten Wert von 33,88 bei einem p Wert von 0,435. Hier wird jedoch das Alter der Familienmitglieder nicht berücksichtigt.

Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse der Analyse von Kohorte 2, dass das Risiko für Familienmitglieder, deren Kind positiv für PPR ist, ebenfalls diesen Phänotyp zu zeigen, jeweils mit und ohne Alter als Kovariante nur geringfügig (OR von 4,7 und 4,4) differiert.

Dies deutet darauf hin, dass die Differenz zwischen beobachteter Häufigkeit und erwarteter Häufigkeit unter Annahme autosomal-dominanter Vererbung aus den Arbeiten von Waltz und Stephani nicht allein durch einen einfachen Alterseffekt erklärt werden kann.

Von der molekulargenetischen Sicht betrachtet, ist PPR eines der wenigen EEG-Merkmale für das Genloci identifiziert wurden, die für die Ausprägung des Phänotyps verantwortlich zu sein scheinen.

Durch Familien-Linkage-Analysen^{72 73} und einer neueren Mega-Analyse⁷⁴, basierend auf nicht-parametrischer Kopplungsanalyse, konnte für die Genloci 5q35.3, 8q21.13, 16p13.3 und 17q21 gezeigt werden, dass verschiedene Loci mit PPR-positiven Familien assoziiert sind.

Die unterschiedlichen Loci könnten auf Untergruppen von PPR-positiven Individuen hindeuten, die sich durch subtile klinische Phänotypen oder geografische Herkunft unterscheiden.^{74 75}

Die Daten unserer Studie lassen hingegen nicht ausschließen, dass die Vererbung der photoparoxysmalen Reaktion wenigstens in einigen Familien einem klaren autosomalen Vererbungsmuster folgt.

Jedoch lässt die Gesamtheit der Daten eher ein komplexes Vererbungsmuster für PPR in den meisten Familien mit mehreren interagierenden Suszeptibilitätsloci vermuten.

4.4 Theta-Rhythmen

Theta-Rhythmen repräsentieren Rhythmen von 4-7 /s hauptsächlich über den parietalen EEG Ableitungen, die im Wachzustand bei 10-15 % der gesunden Kinder im Alter zwischen zwei und sechs beobachtet werden können.⁷⁶

Es besteht eine starke Assoziation mit Epilepsien wie dem Dravet-Syndrom oder der myoklonisch-astatischen Epilepsie.^{41 2}

Abnorme Theta-Rhythmen werden oft als hypnagogische Aktivität bei schläfrigen Kindern fehlinterpretiert. Medikamentöse Effekte könnten zu ähnlichen EEG-Befunden führen.

Daher wurde für Einzelpersonen, die in der vorliegenden Arbeit als positiver EEG-Phänotyp mit Theta-Rhythmen, eingestuft wurden, die Wirkung von Medikamenten sowie Müdigkeit abgeklärt und ausgeschlossen.

In der Literatur findet man bereits einige Untersuchungen zur Vererbung des EEG-Merkmals Theta-Rhythmen.

Doose und Baier gehen davon aus, dass die relativ hohe Frequenz von Theta-Rhythmen in der allgemeinen Bevölkerung und ihre Altersabhängigkeit kompatibel mit einer polygenen Vererbung dieses EEG-Merkmals ist.¹⁴

Eine genetische Komponente im Auftreten von Theta-Rhythmen wird angenommen.²⁷

Weiterhin findet man in der Literatur epidemiologische Untersuchungen und Familienstudien, die gezeigt haben, dass Theta-Rhythmen wahrscheinlich polygen vererbt werden und genetisch unabhängig von sowohl Photosensibilität als auch fokalen sharp waves auftreten.^{14 44}

Doose et al fanden, dass auch 30 % der Geschwister von Kindern mit dem EEG Merkmal der Theta-Rhythmen dieses Merkmal zeigen.⁷⁶

Hingegen ist die Untersuchung mehrerer Generationen einer Familie in Hinblick auf Theta-Rhythmen schwer durchzuführen, da das Merkmal in der frühen Kindheit auftritt und bei erwachsenen Personen in der Regel nicht mehr nachzuweisen ist.

Jedoch konnten Doose und Baier bei Geschwistern von Kindern mit Epilepsie ein erhöhtes Risiko (32 %) für den EEG-Phänotyp der Theta-Wellen feststellen, wenn die Mutter ebenfalls ein auffälliges EEG aufwies. In der Kontrollgruppe ergab sich ein Risiko von nur 6 %.⁸

Scheffner et al beobachteten eine höhere Inzidenz von Theta-Rhythmen bei Kindern von Eltern mit primär generalisierter Epilepsie.^{77 14}

In der vorliegenden Studie wurden widersprüchliche Ergebnisse für Theta-Rhythmen gefunden.

Es fand sich ein signifikantes Ergebnis für eine familiäre Häufung der Abwesenheit von Theta-Rhythmen in Familien aus Kohorte 1 (p -Wert $< 0,001$), dies bedeutet, dass Theta-Rhythmen in Familien signifikant seltener auftreten wenn kein Familienmitglied betroffen ist, als durch zufällige Verteilung zu erwarten wäre. Dies ist ein Hinweis auf eine Häufung der Abwesenheit von Theta-Rhythmen mit verminderter Penetranz.

In der Subkohorte 2 konnte ein familiäres Clustering der Abwesenheit für das EEG-Merkmal Theta-Rhythmen nicht bestätigt werden (p -Wert=0,22).

Auch die logistische Regressionsanalyse ergab kein signifikantes Ergebnis für das EEG-Muster der Theta-Rhythmen ($p = 0,079$) in Bezug auf eine familiäre Häufung.

Der Unterschied der in Kohorte 1 und Kohorte 2 verwendeten Daten liegt darin, dass die EEGs der Familien aus Kohorte 2 durchweg von zwei Personen beurteilt wurden und zusätzlich Alter und neuropädiatrische Diagnosen vorhanden waren und diese logistische Regressionsanalyse einfließen.

Gerade in Bezug auf Theta-Rhythmen wurden in Kohorte 2 viele Familien ausgeschlossen, da die beiden Begutachter in den Befunden nicht identisch waren.

Da für Kohorte 1 keine Akten mehr vorlagen wurde hier auf vorgefertigte Stammbäume der Familien zurückgegriffen und es standen weder Daten zum Alter der Testpersonen bei EEG-Ableitung noch neuropädiatrische Diagnosen zur Verfügung.

Zudem stellt sich die Frage, ob unsere Arbeit besonders für Kohorte 1 Bias in der Auswertung der EEGs gerade in Bezug auf Theta-Rhythmen aufweisen könnte, da deren Befundung nicht so eindeutig ist wie zum Beispiel die der generalisierten spike-waves und wie erwähnt hier auf Daten zurückgegriffen wurde, die von nur einer Person befundet wurden.

Dies deutet darauf hin, dass noch weitere Daten und Analysen erforderlich sein werden, um die Frage zu klären, ob abnorme Theta-Rhythmen in Familien gehäuft vorkommen.

Das Design zukünftiger Studien sollte die starke altersabhängige Penetranz dieses EEG-Musters berücksichtigen.

4.5 Alpha-EEG

EEG-Ableitungen mit kontinuierlicher und stabiler Alpha-Aktivität über allen Hirnregionen werden als generalisiertes Alpha- EEG bezeichnet.

Historisch gesehen war das Alpha-EEG von Interesse, da angenommen wurde, dass ein solches EEG in der Elterngeneration das Risiko für generalisierte EEG-Muster und damit assoziierte Epilepsien bei den Nachkommen erhöht.⁷⁸

Aus diesem Grund wurde das Alpha- EEG als Parameter in diese Studie eingeschlossen.

Die Genetik des Alpha-EEGs wurde 1967 von Dieker und Mitarbeiter untersucht, die einen autosomal-dominanten Erbgang vorschlugen.⁷⁹

Weiterhin beschreiben die Autoren, dass keine Korrelation zwischen dem EEG-Merkmal und somatischen oder konstitutionellen Eigenschaften gefunden wurde, jedoch Ehen zwischen Personen mit Alpha-EEG häufiger waren als erwartet.

Doose et al fanden den Phänotyp des Alpha-EEGs signifikant häufiger bei Eltern von Kindern mit primär generalisierter Epilepsie (18 %) im Vergleich zu Kontrollgruppen (8 %) oder Eltern von Kindern mit fokalen Anfällen (9 %).⁷⁸

In der vorliegenden Studie hat die Permutationsanalyse keine Hinweise für eine familiäre Häufung des Alpha-EEGs in Kohorte 1 geliefert. (p-Wert für Anwesenheit Alpha-EEG =0,74; p-Wert für Abwesenheit Alpha-EEG= 0,94).

Dementsprechend wurde der Phänotyp des Alpha-EEGs nicht in die primäre Analyse der Kohorte 2 eingeschlossen.

Wie jedoch eine sekundäre Analyse mit Hilfe der logistischen Regression zeigte, ergab sich hier ein starker Hinweis auf familiäres Clustering mit einer Odds Ratio von 7,35 (95% CI 2,96-17,15, $p = 6,78 \times 10^{-6}$) unter Einbezug der Kovariablen des Alters und des Probandenstatus.

Die Ergebnisse der Untersuchung beider Kohorten ergeben somit keine klare Antwort auf die Frage nach einer familiären Häufung des Alpha-EEGs.

4.6 Kombinationen der EEG-Muster

In der vorliegenden Arbeit wurde für Kohorte 2 beobachtet, dass Individuen mit Theta-Rhythmen vermehrt auch die EEG-Muster generalisierte spike-wave (OR 7,85), photoparoxysmale Reaktion (OR 1,86) und fokale sharp-waves (OR 3,18) aufwiesen.

Darüber hinaus waren bei Individuen mit generalisierte spike-waves gehäuft eine photoparoxysmale Reaktion zu finden (OR 3,39) oder sie waren positiv für das EEG-Merkmal der fokalen sharp-waves (OR 3,04).

Doose et al⁸⁰ fanden eine Beziehung zwischen spike-waves und abnormen Theta-Rhythmen insbesondere bei Kindern mit primär generalisierten Anfällen in der frühen Kindheit sowie mit Fieberkrämpfen.

Kinder mit Fieberkrämpfen und dem EEG-Phänotyp der Theta-Rhythmen entwickelten später in 63 % der Fälle im späteren Leben das EEG-Muster spike-wave.

Bei nur 23 % der Kinder mit Fieberkrämpfen aber ohne Theta-Rhythmen war später im EEG spike-waves zu finden.

Entsprechende Befunde wurden durch Baier und Doose⁸ bei Geschwistern von Patienten mit spike-wave Rhythmen im Zusammenhang mit primär generalisierten Anfällen, wie myoklonisch-astatischen Anfällen oder Absencen, berichtet.

Sie beschreiben eine signifikante Assoziation zwischen Theta-Rhythmen und spike-waves sowie zu einem geringeren Teil auch zwischen PPR und spontanen spike-waves durch die statistische Datenanalyse der Geschwister-EEGs mit Hilfe eines Chi-Quadrat sowie des exakten Fischer-Test.

In ihrer Arbeit zeigte das gemeinsame Auftreten von Theta-Rhythmen und spike-waves in der photoparoxysmalen Reaktion keine signifikanten Zusammenhänge.

In früheren Studien wurde ebenfalls eine genetische Unabhängigkeit von PPR und Theta angenommen, das heißt es wurde vermutet, dass beide Phänotypen keine gemeinsame genetische Grundlage haben.⁴

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in Bezug auf photoparoxysmale Reaktion und generalisierte spike-waves, treten in den Familien diese EEG-Phänotypen eng zusammen auf.

So erhöht der EEG-Phänotyp der photoparoxysmalen Reaktion bei Verwandten das Risiko für den der generalisierten spike-waves bei Probanden und umgekehrt ($^{\circ}\text{OR}=3.39$). (siehe Tabelle 6).

Die in der vorliegenden Studie beobachtete Assoziation von generalisierten spike-waves und Theta-Rhythmen, sowie in der Photostimulation hervorgerufene spike-waves entsprechen somit den Beschreibungen der Literatur und lassen ebenfalls eine Heterogenität der Vererbung des EEG-Musters vermuten.

In Bezug auf den Phänotyp des Alpha-EEGs fanden Doose et al⁷⁸ dieses Merkmal signifikant häufiger bei Eltern von Kindern mit fokalen sharp waves und generalisierten spike and waves als bei Eltern von Probanden mit fokalen sharp-waves ohne zusätzliche generalisierte spike-waves im EEG.

Es zeigte sich auch ein erhöhte Inzidenz des Alpha-EEGs in der Elterngeneration, wenn in den EEG-Ableitungen des Kindes spike-waves und Theta-Rhythmen zu finden waren, nicht aber wenn Theta-Rhythmen einzeln auftraten.⁷⁸

In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Zusammenhang zwischen Alpha-EEG und generalisierten spike-waves nicht nachgewiesen werden. (Kohorte 2: p-Wert=0,155).

Es kann somit kein klares Ergebnis zum genetischen Beitrag dieses EEG-Musters formuliert werden.

4.7 Permutationsanalyse

Die Daten der Kohorte 1 wurden mittels Permutationsanalyse untersucht. Diese wurde angewendet, um die Hypothese zu testen, ob in der Kohorte Familien mit Konkordanz für eines der fünf EEG Muster häufiger auftreten als durch Zufall zu erwarten wäre.

Die gleiche Methodik wurde zuvor bereits durch die Arbeitsgruppe um Winawer verwendet, um ein Häufung von beobachteter Konkordanz für fokale versus generalisierte Epilepsie zu demonstrieren^{42 43} und das Clustering von verschiedenen Arten epileptischer Anfälle innerhalb der idiopathischen generalisierten Epilepsie herauszustellen.⁸¹

Grundidee dieser Studien ist es mit Hilfe der Permutationsanalyse eine zufällige Verteilung bestimmter beobachteter Epilepsietypen in Familien von einer signifikanten Häufung zu differenzieren.

Die verwendete Methode prüft das Clustering eines Epilepsietyps in den Familien unter Berücksichtigung der Tatsache, dass sich die Aufnahme der Familien in eine Studienkohorte bereits auf das Vorhandensein des untersuchten Phänotyps bei mehreren Verwandten stützt.

Winawer et al erkannten mit dieser Arbeitsweise, dass in allen Analysen die Konkordanzen in den Familien deutlich größer waren als durch Zufall zu erwarten wäre.

In der vorliegenden Arbeit wurde nun untersucht, ob dieselbe Methode auch angewendet werden kann, um familiäre Häufungen von EEG-Mustern zu untersuchen.

In Kohorte 1 ergibt sich für die Konkordanz der Anwesenheit eines EEG-Musters nur ein signifikantes Ergebnis für das EEG-Muster fokale sharp-waves.

Die Permutationsanalyse der Sub-Kohorte 2 in der Konkordanzanalyse für die Präsenz des EEG-Merkmals zeigte bezüglich der photoparoxysmalen Reaktion Anzeichen für eine familiäre Häufung.

Dieses schwache Ergebnis beider Kohorten lässt vermuten, dass ein familiäres Clustering für EEG-Muster nicht in der gleichen Weise wie das Clustering der Epilepsiesyndrome beurteilt werden kann.

Die vorliegende Arbeit untersucht folgende Theorien:

Erstens, dass die Anzahl von Familien mit Konkordanz für die Abwesenheit der fünf EEG-Muster höher ist als durch zufällige Verteilung zu erwarten wäre.

Zweitens, dass die Anzahl von Familien mit Konkordanz für die Präsenz der fünf EEG-Muster höher ist als durch zufällige Verteilung zu erwarten wäre.

Drittens, dass es keine genetische Komponente der Manifestation der EEG-Muster gibt und die Familien also diskordant für die Präsenz und Abwesenheit der EEG-Muster sind.

Mit der entsprechend veränderten Permutationsanalyse wurden signifikante Ergebnisse in Kohorte 1 für die Konkordanz der Abwesenheit für die EEG-Muster generalisierte spike-waves, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion sowie Theta-Rhythmen gefunden, jedoch nicht für das Alpha-EEG.

In der Subkohorte 2 lediglich für die Konkordanz des Abwesenheit des EEG-Merkmals photoparoxysmale Reaktion.

Dieses Phänomen der Abwesenheit der Konkordanz kann entstehen, wenn eine erbliche Eigenschaft eine deutlich reduzierte Penetranz zeigt.

Ein anderer Erklärungsansatz könnte sein, dass die familiäre Häufung zu schwach ist um mit der Permutationsanalyse detektierbar zu sein.

Weiterhin muss bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden, dass die Kohorte durch das Einschlusskriterium „mindestens 2 Personen einer Familie mit einem der 5 EEG-Muster“ nicht randomisiert erstellt wurde. Somit sind Familien, in denen alle Familienmitglieder für ein bestimmtes EEG-Muster ("Konkordanz der Abwesenheit") negativ sind weniger häufig vertreten als durch Zufall zu erwarten wäre.

Die Ergebnisse der Permutationsanalyse der Kohorte 1 und 2 stehen im Einklang mit früheren Berichten, die nahe legen, dass bei einer Vererbung mit reduzierter Penetranz die Häufung der EEG-Phänotypen zu schwach sein könnte, um zu einer deutlichen Anhäufung konkordanter Familien zu führen.

Die Hinweise auf eine familiäre Häufung der betrachteten EEG-Muster in früheren Studien könnte auf Selektions-Bias zurückzuführen sein und darauf, dass mit deutlich kleineren Kohorten gearbeitet wurde.

Zusammengenommen zeigen die Ergebnisse der Permutationsanalyse eine unerwartete Komplexität in der familiären Häufung und so auch in der Vererbung von Epilepsie-assoziierten EEG-Mustern.

Für die meisten EEG-Phänotypen sind Familien in den Kohorten dieser Arbeit nicht so konkordant, dass ein eindeutiges Vererbungsmuster beschrieben werden könnte.

Allerdings können indirekte Beweise für einen genetischen Beitrag für die meisten EEG-Merkmale entnommen werden, da ein Überschuss von Familien mit Konkordanz für die Abwesenheit von generalisierten spike-waves, fokalen sharp-waves, der photoparoxysmalen Reaktion sowie Theta-Rhythmen beobachtet werden konnte.

4.8 Logistische Regressionsanalyse

Die logistische Regressionsanalyse wurde angewendet um weitere Variablen, die einen Einfluss auf die Manifestation der fünf EEG-Muster haben, zu testen.

Die logistische Regressionsanalyse für Kohorte 2 wurde unter Regression des Vorhandenseins von einem der fünf EEG-Mustern bei Verwandten durchgeführt.

Kovarianten waren der Probandenstatus und das Alter der Verwandten bei Erstmanifestation des EEG-Merkmals.

Es fanden sich signifikante Ergebnisse für generalisierte spike waves ($p < 0,0001$), photoparoxysmale Reaktion ($p < 0,0001$) und fokale sharp waves ($p = 0,027$), nicht aber für Theta-Rhythmen- ($p = 0,26$).

Signifikante Ergebnisse in der logistischen Regressionsanalyse implizieren, dass ein Verwandter eine höhere Wahrscheinlichkeit hat ein bestimmtes EEG-Muster zu haben, wenn dieses Muster beim Probanden vorhanden ist. Dies lässt auf familiäre Häufung schließen.

Das Ergebnis unterstützt die bei allen fünf EEG-Mustern bereits diskutierte genetische Komponente.

In Bezug auf Theta-Rhythmen muss diskutiert werden, ob das Ergebnis der Permutationsanalyse in Kohorte 1 einen gemeinsamen Bias enthalten könnte, da die Familien dieser Kohorte nicht durch zwei Befunder befundet wurden und somit falsch positive Familienmitglieder enthalten könnte.

4.9 Vergleich von Kohorte 1 und 2

Während die Ergebnisse für Kohorte 1 und 2 für die EEG-Muster generalisierte spike-waves, fokale sharp-waves und photoparoxysmale Reaktion konsistent sind - die Untersuchungen ergeben signifikantes Clustering der Abwesenheit der oben genannten EEG-Muster in Kohorte 1 und signifikante Ergebnisse der EEG-Muster mittels logistischer Regression in Kohorte 2 - gibt es Unterschiede in Bezug auf Theta-Rhythmen und das Alpha-EEG.

Für Theta-Rhythmen wurde in Kohorte 1 ein signifikantes Ergebnis für die Konkordanz der Abwesenheit (siehe 3.3.1) gefunden, die logistische Regression der Kohorte erbrachte aber kein signifikantes Ergebnis in Bezug auf Theta-Rhythmen.

Die Konkordanz der Abwesenheit für Theta-Rhythmen konnte auch nicht in der Permutationsanalyse der Subkohorte aus Kohorte 2 bestätigt werden.

Bezüglich des Alpha-EEG, zeigte Kohorte 1 kein signifikantes Ergebnis, während die Analyse der Kohorte 2 mittels logistischer Regression eine Signifikanz erbrachte.

Die Ergebnisse der Subkohorte 2 mittels Permutationsanalyse sind ebenfalls überraschend, da sie lediglich eine Konkordanz für die An- und Abwesenheit des EEG-Musters der photoparoxysmalen Reaktion zeigen.

Beide Kohorten wurden aus einer laufenden Rekrutierung ausgewählt, die mehrere Jahrzehnte einschließt.

Jedoch standen für Kohorte 1 nur Stammbäume als Ausgangsmaterial zur Verfügung, Akten zu den Probanden und Kopien der EEG-Ableitungen sind nicht mehr verfügbar. Für Kohorte 2 liegen hingegen sowohl Akten zu den Probanden als auch Ausdrücke der Original-EEG-Ableitungen vor. Die EEGs dieser Kohorte wurden von 2 unabhängigen Befundern befundet, während die EEGs der Probanden aus Kohorte 1 nur durch eine Person befundet wurden.

Obwohl alle EEGs durch geschulte Befunder befundet wurden, kann man nicht ausschließen, dass eine bestimmte Bias besonders das Ergebnis der EEG-Muster beeinflusst, die eine gewisse quantitative Beurteilung benötigen, wie z. B. das Alpha-EEG sowie Theta-Rhythmen.

Da insbesondere in Bezug auf diese EEG-Muster beide Befunder häufig in der Befundung differierten wurden, viele Familien bei abweichendem Befund ausgeschlossen.

Im Gegensatz dazu sind generalisierte spike-waves, fokale sharp waves sowie EEG-Merkmale unter Photostimulation EEG-Muster, deren Befund zwischen geschulten Beobachtern kaum diskutierbar ist. In der Tat wurden die meisten Familien in Kohorte 2 auf Grund von widersprüchlichen Befunden zwischen Gutachtern bezüglich des Vorhandenseins von Theta- Rhythmen ausgeschlossen.

Hieraus lässt sich schließen, dass die unterschiedlichen Ergebnisse in Kohorte 1 und 2 bezüglich der Theta-Rhythmen (Konkordanz für die Abwesenheit von Theta-Rhythmen in Kohorte 1 $p < 0,01$, Kohorte 2 $p = 0,22$) vermutlich auf eine subjektive Befundung des EEG-Musters durch nur eine Person in der ersten Kohorte zurückzuführen sind. Tendenziell könnte man somit davon ausgehen, dass die Ergebnisse der Kohorte 2 ein verlässlicheres Bild abgeben.

Auch die unterschiedlichen Ergebnisse der Analysen von Kohorte 1 und 2 bezüglich des Alpha-EEGs lassen sich vermutlich auf subjektivere Befundung in der ersten Kohorte zurückführen.

Für künftige Studien wäre es somit von großer Bedeutung, dass die EEGs gerade in Bezug auf Theta-Rhythmen von denselben Personen analysiert werden, um möglichst einheitliche Befunde zu erhalten, oder klar definierte, objektive Kriterien für die Befundung zu erstellen. Werden Daten verwendet, die von verschiedenen Personen befundet wurden, muss damit gerechnet werden, dass für die Studie in Bezug auf Theta-Rhythmen möglicherweise nur eine schwache Reliabilität angenommen werden kann.

4.10 Limitationen der Arbeit

Die vorliegende Studie basiert auf Daten des Familienarchivs der Klinik für Neuropädiatrie Kiel. Da die Daten im Rahmen des Krankenhausbetriebs durch die EEG-Abteilung rekrutiert wurden und somit nur Familien enthalten, bei denen ein Familienmitglied in neuropädiatrischer Behandlung war, können sie nicht als populationsbasiert angesehen werden.

Aus diesem Grund können die beobachteten Häufigkeiten, die aus den Kohorten abgeleitet wurden keine Aussage zu Bevölkerungsrisiken liefern.

Eine weitere Limitation besteht darin, dass die Familien des EEG-Archivs in zwei unterschiedliche Kohorten aufgeteilt wurden. Dies sollte es ermöglichen die Daten mit zwei verschiedenen statistischen Methoden zu analysieren und die Ergebnisse der analytischen Methoden zu vergleichen. Retrospektiv ist bei diesem Vorgehen anzumerken, dass die Strategie durch das Aufteilen der Datenmenge in zwei kleinere Kohorten, die Stärke der Ergebnisse der einzelnen angewandten Methoden (Permutationsanalyse oder logistische Regression) im Vergleich zu einer einheitlichen Analyse reduziert haben könnte.

Dies könnte besonders für die EEG-Merkmale Theta-Rhythmen und Alpha-EEG relevant sein, da eine größere Stichprobe vielleicht auch signifikante Ergebnisse für diese EEG-Merkmale in jeder der angewandten statistischen Methoden hätte ergeben können.

5 Zusammenfassung

Eine genetische Komponente der epilepsie-assoziierten EEG-Muster wird schon sehr lange diskutiert und viele Arbeitsgruppen konnten bereits Hinweise auf eine genetische Komponente der EEG-Phänotypen erbringen.

Es wurden häufig rein deskriptive statistische Methoden zur Auswertung der beobachteten Ergebnisse verwendet und oftmals kleine Gruppengrößen gewählt.

Zudem hat die Vererbung der klinischen Epilepsie-Syndrome vor allem in den letzten zwei Jahrzehnten mehr Aufmerksamkeit auf sich gezogen als die Genetik der Epilepsie assoziierten EEG- Merkmale.

Dies bewog uns dazu die Daten des umfangreichen Familienarchivs der Klinik für Neuropädiatrie Kiel zu nutzen, um der Frage der Segregation der EEG-Phänotypen generalisierten spike-wave, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion, Theta-Rhythmen und Alpha-EEG mit statistischen Methoden nachzugehen.

Hierzu wurden die Daten des Familienarchivs entsprechend aufgearbeitet.

Es wurden Familien in die Studie eingeschlossen, bei denen bei mindestens zwei Familienmitglieder im EEG eines der fünf EEG-Phänotypen nachgewiesen werden konnte und die Daten mittels statistischer Methoden, Permutationsanalyse bzw. logistischer Regression, untersucht.

Die aufgearbeiteten Daten wurden in zwei Kohorten unterteilt. Kohorte 1 umfasst 247 Familien, die früh in das Archiv aufgenommen wurden. Zu dieser Kohorte existieren leider keine Original-EEG-Ableitungen und Akten, so dass die Daten aus bestehenden Stammbäumen entnommen wurden.

Kohorte 2 umfasst 293 Familien. Hier wurden zusätzlich das Geschlecht, Alter bei Erstmanifestation des EEG-Musters (Proband) bzw. EEG-Ableitung (Verwandte) sowie neuropädiatrische Diagnosen aufgenommen.

Zur Analyse der Daten aus Kohorte 1 wurde die Permutationsanalyse herangezogen und die Daten aus Kohorte 2 wurden mittels logistischer Regression untersucht.

Zusätzlich wurde eine Subkohorte mit 134 Familien aus Kohorte 2 die ebenfalls mittels einer Permutationsanalyse untersucht wurde.

Die Ergebnisse der statistischen Analysen legen einen genetischen Beitrag zur Manifestation der EEG-Muster generalisierte spike waves, fokale sharp-waves und der photoparoxysmalen Reaktion nahe.

So konnten für Kohorte 1 mittels Permutationsanalyse für das EEG-Muster der fokalen sharp-waves ein signifikantes Ergebnis für familiäres Clustering gezeigt werden. Die Analyse ergab ein ebenfalls signifikantes Ergebnis für die Konkordanz der Abwesenheit der EEG-Muster spike-wave, fokale sharp-waves, photoparoxysmale Reaktion und Theta-Rhythmen. Auch dieses Ergebnis deutet auf eine genetische Komponente bei der Vererbung der EEG-Muster hin.

Die logistische Regression für Kohorte 2 ergab für die EEG-Muster generalisierte spike waves, fokale sharp-waves und die photoparoxysmale Reaktion eine signifikante Häufung in den Familien. Dies lässt sich ebenfalls als Hinweis auf einen genetischen Anteil bei der Manifestation der EEG-Phänotypen deuten.

Diese EEG-Muster gelten gemeinsam als Endophänotypen für epileptische Anfälle und stellen für viele Epilepsie-Syndrome wie z. B. die gutartige Rolando-Epilepsie oder die kindliche Absence-Epilepsie wesentliche Bestandteile bei der Diagnosestellung dar.

Die statistischen Analysen der Kohorte 1 und 2 ergaben inhomogene Ergebnisse für die untersuchten Merkmale abnorme Theta-Rhythmen und das generalisierte Alpha-EEG. So ergab die Permutationsanalyse für Kohorte 1 für Theta-Rhythmen ein signifikantes Ergebnis für die Konkordanz der Abwesenheit des EEG-Musters und kein signifikantes Ergebnis für das Alpha-EEG, entsprechend einer Diskordanz und somit keiner familiären Häufung der An-oder Abwesenheit des EEG-Merkmals.

In der Subkohorte 2 konnte ein familiäres Clustering der Abwesenheit für das EEG-Merkmal Theta-Rhythmen leider nicht bestätigt werden.

Auch die logistische Regressionsanalyse ergab kein signifikantes Ergebnis für das EEG-Muster der Theta-Rhythmen ($p = 0,079$) in Bezug auf eine familiäre Häufung. Hingegen

konnte für das Alpha-EEG ein starker Hinweis auf familiäres Clustering gefunden werden.

Eine bestimmte familiäre Häufung, welche Ausdruck eines Einflusses von genetischen Faktoren wäre, konnte damit für diese beiden EEG-Merkmale nicht eindeutig nachgewiesen werden.

Diese EEG-Muster sind in den Ableitungen jedoch nicht so eindeutig zu befunden, wie zum Beispiel spike-waves.

In der Tat wurden die meisten Familien in Kohorte 2 auf Grund von widersprüchlichen Befunden zwischen Befundern bezüglich des Vorhandenseins von Theta- Rhythmen ausgeschlossen.

Dies belegt die Notwendigkeit der strengen und einheitlichen Begutachtung der EEGs für folgende Studien.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass in dieser Arbeit mit einer strengen zweistufigen Analyse die familiäre Häufung von generalisierten spike-waves, fokalen sharp waves und der photoparoxysmalen Antwort demonstriert werden konnte.

Die familiäre Häufung dieser EEG-Merkmale unterstreicht die Wahrscheinlichkeit zugrunde liegender genetischer Faktoren und stellt somit einen zusätzlichen, unabhängigen Beweis für einen genetischen Beitrag dieser EEG-Muster zur Verfügung.

6 Literaturliste

1. Mahsuhr, K. F. & Neumann, M. *Duale Reihe Neurologie*. (MLP).
2. Doose, H. *Das EEG bei Epilepsien im Kindes- und Jugendalter*. (Desitin Arzneimittel GmbH, 2002).
3. Neundörfer, B. *EEG-Fiebel- das EEG in der ärztlichen Praxis*. (Urban und Fischer, 2002).
4. Wellach, I. *Praxisbuch EEG: Einführung in die Befundung, Beurteilung und Differentialdiagnose*. (Thieme Verlag, 2011).
5. Doose, H. & Gerken, H. On the genetics of EEG anomalies. III.-Spike and waves in the resting record and/or during hyperventilation. *Neuropädiatrie* (1997).
6. Metrakos, K. & Metrakos, J. D. Genetics of convulsive disorders. II. Genetic and electroencephalographic studies in centrencephalic epilepsy. *Neurology* **11**, 474–83 (1961).
7. Lipinsky, C. *et al.* Historical data and EEG findings in children of epileptic and nonepileptic parents. *Thieme* 29–32 (1976).
8. Doose, H. & Baier, W. K. Genetic factors in epilepsies with primarily generalized minor seizures. *Neuropediatrics* 1–64 (1987).
9. Bray, P. & Wisner, W. The relation of focal to diffuse epileptiform EEG discharges in genetic epilepsy. *Arch Neurology* 223–37 (1965).
10. Vadlamundi, L., Kjeldsen, M., Corey, L. & Solaas, M. H. Analyzing the Etiology of Benign Rolandic Epilepsy: A Multicenter Twin Collaboration. *Epilepsia* **47**, 550–555 (2006).
11. Appleton R., Beirne M. & Acomb B. Photosensitivity in juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure* **9**, 108–11 (2000).
12. Lu, Y., Waltz, S., Muhle, H. & Stephani, U. Photosensitivity in epileptic syndromes of childhood and adolescence. *Epileptic disord.* **10**, 136–43 (2008).
13. Stephani, U. & Waltz, S. Inheritance of Photosensitivity. *Thieme* 82–85 (2000).
14. Doose, H. & Baier, W. K. Theta Rhythms in the EEG: A Genetic Trait in Childhood Epilepsy. *Brain Dev* 347–54 (1988).
15. Pharma cases. <http://www.pharmacases.de/cases/Fall22/data/presentation.xml>.
16. Graw, J. & Hennig, W. *Genetik*. (Springer, 2010).
17. Vadlamundi, L. *et al.* Epilepsy in twins: Insights from unique historical data of William Lennox. *Neurology* 1127–1133 (2004).

18. Berkovic, S. F., Howell, R. A. & Hay, D. A. Epilepsy in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. *Ann Neurology* 435–45 (1998).
19. Corey, L., Berg, K., Pellock, J., Solaas, M. H. & Nance, W. The occurrence of epilepsy and febrile seizures in Virginian and Norwegian twins. *Neurology* **41**, 1433–1436 (1991).
20. Kjeldsen, M., Corey, L., Solaas, M. H., Friis, M. & Harris, J. Genetic factors in seizures: a population-based study of 47,626 US, Norwegian and Danish twin pairs. *Twin Res Hum Genet.* **8**, 138–147 (2005AD).
21. Kjeldsen, M., Kivity, S., Friis, M. & Christensen, K. Genetic and environmental factors in febrile seizures: a Danish population-based twin study. *Epilepsy Res* **51**, 167–177 (2002).
22. Corey, L., Pellock, J., Kjeldsen, M. & Nakken, K. Importance of genetic factors in the occurrence of epilepsy syndrome type: a twin study. *Epilepsy Res* **97**, 103–111 (2011).
23. Jazmin Eckhaus, Kate M Lawrence, Ingo Helbig, Minh Bui, Lata Vadlamudi, John L Hopper, Ingrid E Scheffer, Samuel F Berkovic. Genetics of febrile seizure subtypes and syndromes: A twin study. *Epilepsy research (Impact Factor: 2.48)* (2013).
24. Eckhaus, J., Kate Lawrence, Helbig, I., Bui, M. & Vadlamundi, L. Genetics of febrile seizure subtypes and syndromes: A twin study. *Epilepsy Res* **105**, 103–109 (2013).
25. Silverberg JI, Joks R, Durkin HG. Allergic disease is associated with epilepsy in childhood: a US population-based study. *Allergy* (2013).
26. Ottman, R., Lee, J. H., Hauser, W. H. & et al. Are generalized and localization-related epilepsies genetically distinct? *Arch Neurology* 339–44 (1998).
27. Ottman, R., Annegers, J. F. & Hauser, W. H. Seizure risk in offspring in parents with generalized versus partial epilepsy. 157–61 (1989).
28. Wallace, R., Marini, C., Petrou, S. & Harkin, L. Mutant GABA(A) receptor gamma2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. *Nat Genetic.* **28**, 49–52 (2001).
29. Wallace RH1, Wang DW, Singh R, Scheffer IE, George AL Jr, Phillips HA, Saar K, Reis A, Johnson EW, Sutherland GR, Berkovic SF, Mulley JC. Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na⁺-channel beta1 subunit gene SCN1B. *Nat Genet.* 366–70 (1998).
30. Neubauer, B. A., Groß, S. & Hahn, A. Epilepsie im Kindes- und Jugendalter. *Deutsches Ärzteblatt* 319–27 (2008).
31. Claes, L. *et al.* De Novo Mutations in the Sodium-Channel Gene SCN1A Cause Severe Myoclonic Epilepsy of Infancy. *Am J Hum Genet.* **68**, 1327–1332 (2001).

32. Claes, L. *et al.* De novo SCN1A mutations are a major cause of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Hum Mutat.* **21**, 615–21 (2003).
33. Helbig, I. & Lowenstein, Daniel. Genetics of epilepsies: where are we and where are we going? *Curr Opin Neurol.* **26-2**, 179–185 (2013).
34. Szepetowski, P., Rochette, J., Berquin, P. & et. al. Familial infantile convulsions and paroxysmal choreoatetosis: a new neurological syndrome linked to the pericentromeric region of human chromosome 16. *Am J hum Genetic* **61**, 889–898 (1997).
35. Chen, W., Lin, W. & Xiong, Z. Exome sequencing identifies truncating mutations in PPRT2 that cause paroxysmal kinesigenic dyskinesia. *Nat Genetic.* 1252–1255 (2011).
36. Heron, S., Grinton, B. & Kivity, S. PRRT2 mutations cause benign familial infantile epilepsy and infantile convulsions with choreoathetosis syndrome. *AmJ hum Genetic* 152–160
37. Becker, F., Weber, Y. G. & Lerche, H. Genetik fokaler Epilepsien. *Epileptologie* **27**, 10–18 (2010).
38. Bickeböller, H. & Fischer, C. *Einführung in die Genetische Epidemiologie.* (Springer, 2007).
39. Helbig, I., Scheffner, I. E., Mulley, J. C. & Berkovic, S. F. Navigating the channels and beyond: untravelling the genetics of epilepsies. *Lancet Neurol* 231–45 (2008).
40. Davis, H. & Davis, P. A. Action Potentials Of The Brain in Normal Persons and in Normal States of Cerebral Activity. *Arch NeurPsych.* **36**, 1214–1224 (1936).
41. Doose, H. Genetic EEG Traits in the Pathogenesis of Epilepsies. *Elsevier Science Inc.* 97–110 (1997).
42. Winawer, M. R., Rabinowitz, D. & Barker-Cummings, C. Evidence of Distinct Genetic Influences on Generalized and Localization-related Epilepsy. *Epilepsia* **44**, 1176–1182 (2003).
43. Winawer, M. R., Rabinowitz, D. & Pedley, T. A. Genetic influences on myoclonic and absence seizures. *Neurology* 1576–81 (2003).
44. Doose, H. & Gerken, H. On the genetics of EEG-anomalies in childhood. IV. Photoconvulsive reaction. **4**, 162–171 (1973).
45. Godt, Ute. Vererbung von EEG-Mustern.
46. Backhaus et al. *Multivariate Analysemethoden:eine anwendungsorientierte Einführung.* (Springer, 2000).
47. Baltes-Götz, B. Regressionsanalyse mit SPSS. (2004).
48. Ross Ihaka & Robert Gentleman. *R-Project for Statistical Computing.* (1992).

49. Lennox, W. The heredity of epilepsy as told by relatives and twins. *J Amer Med Ass* **146**, 529–536 (1951).
50. Kjeldsen, M., Corey, L. & Christensen, K. Epileptic seizures and syndromes in twins: the importance of genetic factors. *Epilepsy Res* **51**, 167–177 (2003).
51. Cavalleri, G. & et al. Multicentre search for genetic susceptibility loci in sporadic epilepsy syndrome and seizure types: a case-control study. *Lancet Neurol* **6**, 970–980 (2007).
52. Helbig, I., Mefford, H. C., Sharp, A. J. & Guipponi, M. 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. *Nat Genetic.* **41**, 160–162 (2009).
53. Kirov, A., Dimova, P. & Todorova, A. 15q13.3 microdeletions in a prospectively recruited cohort of patients with idiopathic generalized epilepsy in Bulgaria. *Epilepsy Res* **104**, 241–5 (2013).
54. Sharp, A. J., Mefford, H. C., Li, K. & Baker, C. A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nat Genetic.* **40**, 32–328 (2008).
55. Haug, K., Warnstedt, M., Alekov, A., Sander, T. & Poser, B. Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nat Genetic.* **33**, 527–532 (2003).
56. EeG-Olofsson, O., Petersen, I. & Selleden, U. The development of the electroencephalogram in the normal children from age 1 through 15 years. *Pa. Neuropädiatrie* **2** 393–4202 (1971).
57. Cavazzutti, G. B., Cappella, L. & Nalin, A. . Longitudinal study of epileptiform EEG patterns in normal children. *Epilepsia* **21**, 43–55 (1980).
58. Okubo, Y., Matsuura, M., Asai, K. & Kato, M. Epileptiform EEG discharges in healthy children: prevalence, emotional and behavioral correlates, and genetic influences. **35**, 832–841 (1994).
59. Luders, H., Lesser, R. & Dinner, D. in *Epilepsy, electroclinical syndromes* 303–346 (Springer, 1987).
60. Bray, P. & Wiser, W. Evidence for a genetic etiology of temporal-central abnormalities in focal epilepsy. *Arch Neurology* **13**, 223–237 (1965).
61. Degen, R. & Degen, H. Some genetic aspects of rolandic epilepsy: waking and sleep EEGs in siblings. *Epilepsia* **31**, 795–801 (1990).
62. Ottman, R. Genetics of the partial epilepsies: a review. *Epilepsia* **30**, 107–111 (1989).

63. Doose, H., Brigger-Heuer, B. & Neubauer, B. A. Children with focal sharp waves: clinical and genetic aspects. *Epilepsia* **38**, 788–796 (1997).
64. Whitehouse, W., Diebold, U., Rees, M., Parker, K. & Doose, H. Exclusion of linkage of genetic focal sharp waves to the HLA region on chromosome 6p in families with benign partial epilepsy with centrotemporal sharp waves. *Neuropediatrics* **24**, 208–210 (1993).
65. Rees, M., Diebold, U., Parker, K., Doose, H. & Whitehouse, W. Benign childhood epilepsy with centrotemporal spikes and the focal sharp wave trait is not linked to the fragile X region. *Neuropediatrics* **24**, 211–213 (1993).
66. Neubauer, B. A., Fiedler, B., Himmelein, B. & Kämpfer, F. Centrotemporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14. *Neurology* **51**, 1608–1612 (1998).
67. Elmslie, F., Rees, M., Williamson, M. & Keer, M. Genetic mapping of a major susceptibility locus for juvenile myoclonic epilepsy on chromosome 15q. *Hum Mol Genet.* **6**, 1329–1334 (1997).
68. Strung, L., Clarke, T. & Chiang, T. Centrotemporal sharp wave EEG trait in rolandic epilepsy maps to Elongator Protein Complex 4 (ELP4). *Human genetics* 1171–1181 (2009).
69. Reutlinger, C., Helbig, I., Gawelczyk, B. & Subero, J. Deletions in 16p13 including GRIN2A in patients with intellectual disability, various dysmorphic features, and seizure disorders of the rolandic region. *Epilepsia* **51**, 1870–1873 (2010).
70. Lemke, R., Lal, D., Reinthaler, E. & Steiner, I. Mutations in GRIN2A cause idiopathic focal epilepsy with rolandic spikes. *Nat Genetic.* **45**, 1067–1172 (2013).
71. Lesca, G., Rudolf, G., Burneau, N. & Lozovaya, N. GRIN2A mutations in acquired epileptic aphasia and related childhood focal epilepsies and encephalopathies with speech and language dysfunction. *Nat Genetic.* **45**, 1061–1066 (2013).
72. Pinto, D., Westland, B., De Haan, G. & da Silva, B. Genome-wide linkage scan of epilepsy-related photoparoxysmal electroencephalographic response: evidence for linkage on chromosomes 7q32 and 16p13. *Hum Mol Genet.* **14**, 171–178 (2004).
73. Pinto, D., Kasteleijn-Nolst, T. D. & Cordell, H. Explorative two-locus linkage analysis suggests a multiplicative interaction between the 7q32 and 16p13 myoclonic seizures-related photosensitivity loci. *Genet. Epidemiol.* **31**, 42–50 (2007).
74. De Kovel, C., Pinto, D., Tauer, U. & Lorenz, S. Whole-genome linkage scan for epilepsy-related photosensitivity: a mega-analysis. *Epilepsy Res* **89**, 286–294 (2010).

75. Tauer, U., Lorenz, S., Lenzen, K. P. & Heils, A. Genetic Dissection of Photosensitivity and Its Relation to Idiopathic Generalized Epilepsy. *Ann Neurology* 866–873 (2005).
76. Doose, H., Gerken, H. & Voelzke, E. On the Genetics of EEG-Anomalies in Childhood1 - I. Abnormal theta rhythms. *Neuropediatrics* **3**, 386–401 (1972).
77. Scheffner, D., Matthis, P., Benninger, C. & Lipinsky, C. in *Advances in Epileptology XIth International Symposium of Epilepsy* 359–361 (Raven Press, 1980).
78. Doose, H., Castiglione, E. & Waltz, S. Parental generalized EEG alpha activity predisposes to spike wave discharges in offspring. *Human genetics* **96**, 695–704 (1995).
79. Dieker, H. Untersuchungen zur Genetik besonders regelmäßiger hoher Alpha-Wellen im EEG des Menschen. *Humangenetik* **4**, 189–216 (1967).
80. Doose, H., Voelzke, E., Petersen, C. & Herzberger, E. Fieberkrämpfe und Epilepsie. *Psychiat Nervenkr* **208**, 400–412, 413–432 (1966).
81. Winawer, M. R., Marini, C., Rabinowitz, D., Grinton, B. & Berkovic, S. F. Familial Clustering of Seizure Types within the Idiopathic Generalized Epilepsies. *Neurology* **65**, 523–528 (2005).

7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir mein Studium und die Vollendung meiner Promotion ermöglichten:

Herrn Prof. Dr. med Ulrich Stephani danke ich für die Möglichkeit, in seinem Arbeitskreis meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. med Ingo Helbig danke ich für die anspruchsvolle und interessante Promotions-Thematik, seine ständige Diskussions- und Hilfsbereitschaft.

Auch für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens möchte ich mich bei beiden herzlich bedanken.

Besonderen Dank auch an die gesamte Arbeitsgruppe für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre, viele wertvolle Anregungen, die wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Bei meinen Eltern und Geschwistern möchte ich mich ganz besonders herzlich für die uneingeschränkte, liebevolle und vielseitige Unterstützung während meines Studiums bedanken, ohne die diese Arbeit so nicht möglich gewesen wäre.

Desweiteren möchte ich meinem Lebenspartner Benjamin Brack danken, der meiner Arbeit und dem Studium viel Verständnis und Geduld entgegenbrachte.

8 Veröffentlichung

Familial clustering suggests genetic contribution to common epilepsy-related EEG patterns.
Knoth J, Winawer M, Godt U, von Spiczak S, Muhle H, Neubauer B, Stephani U, Ottman R, Rabinowitz D, Helbig I. 29th IEC, Rome 2011.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Joerdis Knoth
Windebyer Weg 20
24340 Eckernförde
*30.05.1986
Geburtsort: Hannover
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig

AUSBILDUNG

BERUFLICHE WEITERBILDUNG:	Seit 10/12	Assistenzärztin in der Augenklinik des UKSH Campus Lübeck
STUDIUM:	10/05 – 06/12	Studium der Humanmedizin an der Christian Albrechts-Universität in Kiel
	03/08	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung, Note: 3.0
	06/12	Abschluss des Studiums der Humanmedizin an der Christian Albrechts-Universität zu Kiel, Note: 2,0

PRAKTISCHES JAHR:	02/11	Inlandklinik Eckernförde, Innere Medizin
	06/11	Taranaki Base Hospital New Plymouth/Neuseeland, Chirurgie durch ein PJ-Stipendium der Medizinischen Fakultät der CAU Kiel
	10/11	Augenklinik des UKSH Kiel, Augenheilkunde

SCHULAUSSBILDUNG

SCHULAUSSBILDUNG:	23/06/05	Abitur Carl-Friedrich-Gauß-Schule Hemmingen/Hannover, Note: 1.7
	08/96 - 06/05	Gymnasium der Carl-Friedrich-Gauß-Schule Hemmingen/Hannover
	08/92 - 08/96	Grundschule Hiddestorf/Hannover

BERUFLICHE WEITERBILDUNGEN

STUDIEN:	Seit 06/13	Mitarbeit an der multizentrischen klinischen Studie des Argus II- Retinaprothesensystems von Second sight Medical products
	Seit 08/13	Mitarbeit an der Cypass- CYCLE Study, Transcend Medical, Inc.

WEITERE TÄTIGKEITEN

ZUSÄTZLICHE KURSE IM RAHMEN DES STUDIUMS	SS 2007	Spezielle Präparation in der Makroskopischen Anatomie der CAU Kiel
	SS 2009	Seminar „English for medical studies“ der CAU Kiel

	SS 2010	Mitarbeit an einem Evaluationsprojekt im Rahmen des "Unterricht am Krankenbett" in der Klinik für Allgemeine Chirurgie des UKSH Kiel
WEITERE TÄTIGKEITEN:	01/09- 02/11	Extrawache des Deutschen Roten Kreuz am UKSH Kiel

15. März 2015

Joerdis Knoth