

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

DAS LYMPHOZYTEN-TRANSKRIPTOM VON  
NEUROLOGISCH RELEVANTEN GENEN BEI DER  
ABSENCE-EPILEPSIE DES KINDESALTERS

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

VERENA LOU STEINBACH geb. VOLZ  
aus Freiburg im Breisgau

Kiel 2016

1. Berichterstatter: PD. Dr. Hiltrud Muhle
2. Berichterstatter Prof. Dr. Dr. Gregor Kuhlenbäumer

Tag der mündlichen Prüfung 19.05.2017

Zum Druck genehmigt, Kiel den 03.02.2017

PD Dr. Andreas van Baalen

Vorsitzender der Prüfungskommission

Für Andi

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung .....	8
1.1	Die elektrische Stabilität von Nervenzellmembranen .....	8
1.2	Epilepsie .....	8
1.2.1	Epidemiologie.....	9
1.2.2	Klassifikation und Ätiologie.....	9
1.2.3	Absence-Epilepsie bei Kindern.....	11
1.3	Genexpressionsanalyse mittels Microarray .....	12
1.4	Ziel und Motivation für diese Studie.....	13
2	Material und Methoden.....	16
2.1	Recherche.....	16
2.2	Patienten- und Vergleichskollektiv.....	17
2.2.1	Patientenkollektiv .....	17
2.2.1.1	Einschlusskriterien .....	17
2.2.2	Vergleichskollektiv.....	18
2.2.2.1	Ausschlusskriterien .....	19
2.2.3	Ethikantrag.....	21
2.3	Probenentnahme und Vorverarbeitung.....	21
2.4	Der Microarrayversuch .....	22
2.4.1	Der Microarray .....	22
2.4.2	Zielmoleküle .....	26
2.4.3	Hybridisierung .....	27
2.4.4	Auswertung.....	27
2.4.4.1	Berechnung der Daten .....	27
2.4.4.2	Optische Kontrolle.....	28
2.4.4.3	Datenanalyse / Statistische Verfahren.....	28
2.4.4.4	Qualitätskontrolle des Microarrayversuches .....	30

---

3	Ergebnisse .....	32
3.1	Ergebnisse der Recherche .....	32
3.2	Ergebnisse der Microarrayversuche .....	35
3.2.1	Ergebnisse des gepoolten Microarrayversuches (Gruppenversuch).....	36
3.2.1.1	Analyse der identifizierten Gene.....	37
3.2.2	Ergebnisse der Microarrayversuche der einzelnen Individuen.....	38
3.2.2.1	Analyse der identifizierten Gene des Einzelversuchs .....	39
3.3	Überschneidungen von Recherche und Microarrayversuchen.....	43
4	Diskussion.....	46
4.1	Recherche.....	47
4.2	Experimentelle Arbeit .....	47
4.2.1	Auswahl der Patienten und Kontrollpersonen.....	47
4.2.2	Diskussion der Ergebnisse .....	48
4.2.2.1	Anmerkungen zur Statistik bei kleinem Studienkollektiv .....	48
4.2.3	Die Ergebnisse des Microarrayexperiments .....	48
5	Abbildungsverzeichnis.....	55
6	Tabellenverzeichnis.....	56
7	Literaturverzeichnis .....	57
8	Anhang.....	78
9	Lebenslauf.....	105
	Danksagung .....	105

## Abkürzungsverzeichnis

ATP Adenosintriphosphat

ATPasen Adenosintriphosphatasen

BFNC Benign Familial Neonatal Convulsions (Benigne familiäre Neugeborenenkrämpfe)

CAE Childhood Absence Epilepsy (Kindliche Absence-Epilepsie)

cDNA complementary Deoxyribonucleic Acid (komplementäre Desoxyribonukleinsäure)

CNS Central Nervous System (Zentrales Nervensystem)

Cy Cyanine

DNA Deoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure)

EDTA Ethylendiamintetraessigsäure

EEG Elektroenzephalographie

EOAE Early Onset Absence Epilepsy

ESTs Expressed Sequence Tags

FDR False Discovery Rate

FNR False Nondiscovery Rate

GABA Gamma-Aminobutyric Acid (Gamma-Aminobuttersäure)

GITC Guanidinium-Isothiocyanate

GTKA Generalisierte tonisch-klonische Anfälle

HNO Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde

ILAE International League against Epilepsy (Internationale Liga gegen Epilepsie)

JAE Juvenile Absence Epilepsy (Juvenile Absence-Epilepsie)

JME Juvenile Myoclonic Epilepsy (Juvenile Myoklonische Epilepsie)

MAS Microarray Suite

MERRF Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibers (Myoklonus-Epilepsie mit "ragged red fibers")

MMPSI Malignant Migrating Partial Seizures of Infancy (maligne migrierende Partialepilepsie des Kindes)

mRNA messenger Ribonucleic Acid (Boten-Ribonukleinsäure)

nAChR nikotinischer Acetylcholinrezeptor

NCBI National Center for Biotechnology Information

nm nanometer

PBMCs Peripheral Blood Mononuclear Cells (mononukleäre Zellen des peripheren Blutes)

qPCR quantitative polymerase chain reaction (quantitative Polymerase-Kettenreaktion)

RNA Ribonucleic Acid (Ribonukleinsäure)

rRNA ribosomale Ribonukleinsäure

SAM Significance Analysis of Microarrays

TLE Temporallappenepilepsie

tRNA Transfer-Ribonukleinsäure

UKSH Universitätsklinikum Schleswig-Holstein

# 1 Einleitung und Problemstellung

## 1.1 Die elektrische Stabilität von Nervenzellmembranen

Nervenzellmembranen haben, wie fast alle Zellen des Organismus, eine Ungleichverteilung der Ladungsträger zwischen Zellinnerem und dem sie umgebenden Medium. Dies generiert eine elektrische Potentialdifferenz. Zusätzlich haben Nervenzellen die besondere Fähigkeit, die elektrische Potentialdifferenz ihrer Membran zu verändern. Dies dient der Aufnahme, Verarbeitung und Weiterleitung von Information.

Die Ungleichverteilung der verschiedenen Ionensorten im Intra- und Extrazellulärraum und die selektive Permeabilität der neuronalen Membran (also ihrer Ionenkanäle) stellen die Grundvoraussetzung für die Potentialentstehung an Nervenzellen dar. Für den geregelten Ablauf einer Potentialänderung, also der „Erregung“ von Nervenzellen, sind viele Funktionsproteine notwendig. Diese bilden zum Beispiel Natrium-Kalium-Pumpen, welche als aktive, energieverbrauchende ATPasen das Konzentrationsgefälle dieser beiden Ionen aufrecht erhalten. Andere Funktionsproteine bilden spannungs- oder ligandengesteuerte Ionenkanäle, welche ihre Durchlässigkeit erhöhen, wenn das Membranpotential abnimmt oder das spezifische Molekül an den Rezeptor des Kanals bindet. In der Regel geschieht dies selektiv für ein Ion (Deetjen, 1999).

Die elektrische Stabilität einer Nervenzellmembran und die gezielte Potentialveränderung werden also durch diverse, vielfältig miteinander interagierende Proteine gewährleistet. Strukturelle oder funktionelle Störungen in diesen Komplexen führen zu sogenannten Ionenkanalerkrankungen, welche ein breites Spektrum nicht nur neurologischer Erkrankungen umfassen. In dieses Spektrum fallen beispielsweise gewisse Myopathien, die maligne Hyperthermie, kardiale Arrhythmien wie das Long-QT-Syndrom, aber eben auch die ersten identifizierten Formen der genetisch bedingten Epilepsien (Lehmann-Horn et al., 2000).

## 1.2 Epilepsie

Die Epilepsie ist eine der ältesten der Menschheit bekannten Krankheiten und wurde bereits in der Antike im „Corpus Hippocraticum“ beschrieben. Hippokrates nahm im Gegensatz zu vielen seiner Zeitgenossen eine natürliche (und nicht gottgegebene) Ätiologie an. Das Wort *Epilepsie* stammt ab von dem griechischen Wort „epilambanein“. Es bedeutet „anpacken, anfallen, angreifen“, was die Vorstellung eines epileptischen Anfalls als „Angriff von göttlicher Hand“ verdeutlicht (Schott, 2004).



Heute ist bekannt, dass es zu einem epileptischen Anfall kommt, wenn sich Gruppen großer Zellverbände im Gehirn synchron entladen (Schmitz & Steinhoff, 2004).

### 1.2.1 Epidemiologie

Epilepsien gehören zu den häufigsten chronischen Erkrankungen des zentralen Nervensystems. In den Industrienationen gibt es zwei Altersgipfel bei Diagnosestellung, einen ersten Gipfel im Kindesalter und einen Zweiten, bedingt durch neurodegenerative und vaskuläre Erkrankungen, jenseits des 70. Lebensjahres (Stephen & Brodie, 2000).

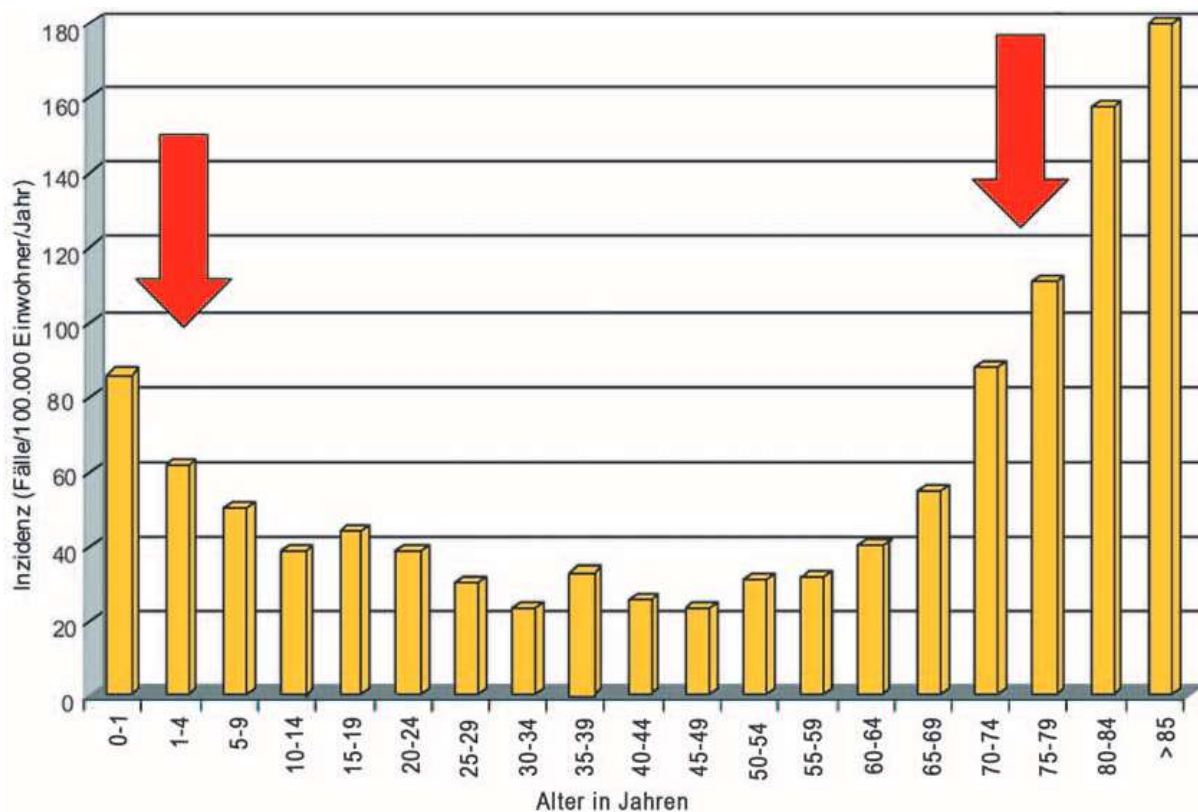


Abbildung 1: Altersabhängige Inzidenz von Epilepsien (Baumgartner & Pirker, 2012)

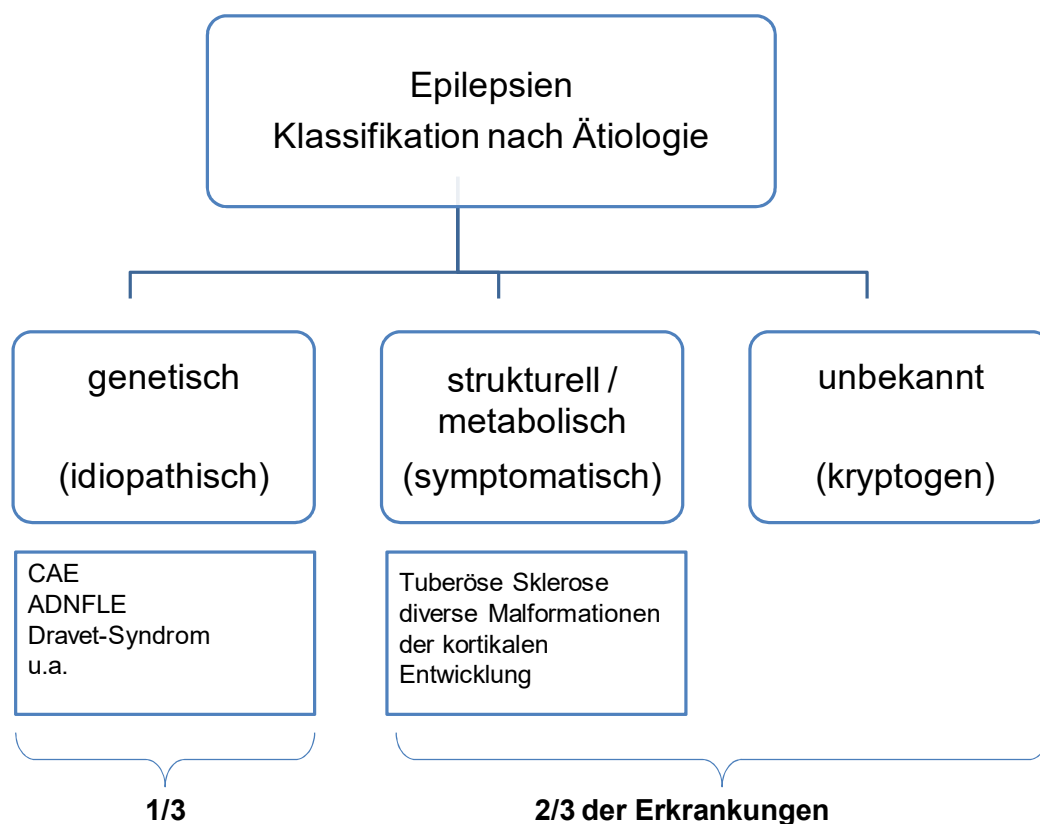
Die Inzidenz liegt bei 25-55 Neuerkrankungen je 100.000 Personen pro Jahr, die Prävalenz in industriell entwickelten Ländern bei 3 bis 5 Erkrankten auf 1000 Einwohner (Banerjee et al., 2009).

### 1.2.2 Klassifikation und Ätiologie

Es gibt viele Ursachen und diverse Auslöser für epileptische Anfälle. Berg und Mitarbeiter haben in der aktuellen überarbeiteten Klassifikation von 2010 den Versuch unternommen, die Epilepsien nach neuem Kenntnisstand zur Ätiologie in Bezug auf genetische Befunde und moderne Bildgebung einzuordnen. Die Einteilung der Erkrankungen ist nicht

unumstritten, insbesondere, da die vormals idiopathischen Epilepsien nun als „genetisch bedingte“ Epilepsien gelistet sind, obwohl für eine Vielzahl dieser Erkrankungen die ursächlichen Gene nicht bekannt sind.

Nach der neuesten Klassifikation der Internationalen Liga gegen Epilepsie (ILAE) werden 3 Hauptgruppen der Epilepsien unterschieden: genetische Epilepsien (früher als idiopathisch bezeichnet), strukturell metabolische Epilepsien (früher symptomatische Epilepsien) und Epilepsien unbekannter Ursache (früher kryptogen) (Berg et al., 2010). Bei Kindern sind in knapp 50% der Fälle strukturelle Hirnschädigungen ursächlich verantwortlich (Steinlein O. , 2004), als Beispiele sind hier angeborene Hirnfehlbildungen und erworbene Hirnschädigungen, wie zum Beispiel Hirnblutungen oder Hirntumoren zu nennen.



**Abbildung 2: Klassifikation der Epilepsien nach Berg et al., 2010.**

**Begriffe in Klammern entstammen der ILAE-Klassifikation von 1989 (ILAE, 1989).**

Die hier in Abbildung 2 aufgezeigte Klassifikation von 2010 stellt die Ätiologie in den Vordergrund. Die CAE wird unter genetisch bedingten Epilepsien gelistet. Es gibt ergänzend eine Klassifikation der Anfälle selbst (in tonische und atonische Anfälle, Absenzen u.a.). Die fokalen Anfälle werden nach dem Grad der generalisierten Beeinträchtigung eingeteilt (Berg et al., 2010).

### 1.2.3 Absence-Epilepsie bei Kindern

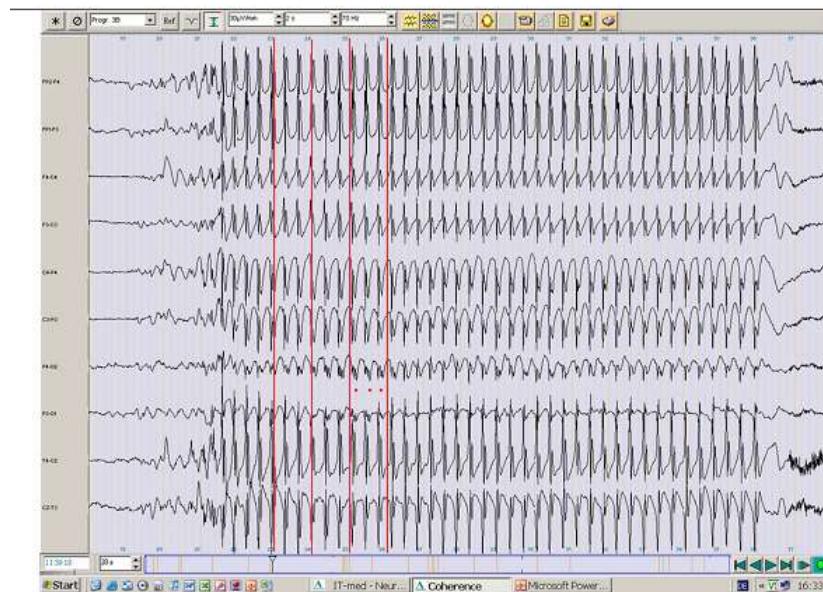
Die Absence-Epilepsie bei Kindern wird nach dem Alter der Patienten in drei Gruppen eingeteilt. Unterschieden werden die frühkindliche Absence-Epilepsie (EOAE, Early Onset Absence Epilepsy, Beginn der Symptome vor dem vierten Lebensjahr), die Absence-Epilepsie des Kindesalters, auch als Pyknolepsie bezeichnet (CAE, 4-10 Jahre) und die Juvenile Absence-Epilepsie (JAE, >10 Jahre). In der aktuellen Klassifikation von 2010 gilt die CAE / Pyknolepsie als genetisch bedingt (Berg et al., 2010), obwohl die ursächlichen Gene mit Ausnahme einiger weniger Familien bis heute unbekannt sind. Mit einem Anteil von 10-17% von allen im Kindesalter beginnenden Epilepsien stellt die CAE eine der häufigsten Epilepsieformen im Kindes- und frühen Jugendalter dar (Tenney & Glauser, 2013). Die CAE zeigt eine deutliche Geschlechtspräferenz für Mädchen, welche etwa doppelt so häufig betroffen sind wie Jungen. Die Erkrankung ist geprägt von hoher Anfallsfrequenz, 100 oder mehr Absencen pro Tag werden beobachtet. Diese Häufung der Anfälle kommt bei der Namensgebung „Pyknolepsie“ (pykno (griech.) = dicht) zum Ausdruck.

Absencen sind gekennzeichnet durch kurze, meist Sekunden (3-20) andauernde Bewusstseinspausen, in denen das Kind in seinen Tätigkeiten innehält. Äußere Anzeichen für eine stattfindende Absence können zum Beispiel das Verdrehen der Augen nach oben sein. Gelegentlich werden die Anfälle aber auch begleitet von Kau-, Schluck- oder Schmatzbewegungen. Für den Zeitraum der Absence besteht in der Regel eine Bewusstseinspause. Die Kinder erinnern weder den Anfall selbst noch das Geschehen um sie herum in diesem Zeitfenster. Bei einem Drittel der Patienten kommt es zusätzlich zu generalisiert tonisch-klonischen Anfällen (GTKA, früher als Grand-Mal-Anfälle bezeichnet).

Der Altersgipfel der CAE liegt im frühen Schulalter um das 6. bis 7. Lebensjahr. Die Absencen der JAE treten in den meisten Fällen weniger häufig auf (spanioleptisch (vom griechischen: spanios – vereinzelt, selten), im Gegensatz zu pyknoleptisch) und sind oft schwieriger medikamentös einzustellen. Auch kommt es häufiger zu generalisiert tonisch-klonischen Anfällen (Tenney & Glauser, 2013).

Die Prognose ist bei CAE und JAE ähnlich und insgesamt günstig. Mit der Einnahme von Medikamenten (als Antiepileptika der ersten Wahl gelten Valproinsäure, Ethosuximid und Lamotrigin) kann in bis zu 90% der Fälle Anfallsfreiheit erreicht werden (Kurlemann et al., 2003). Nach zwei bis drei Jahren Anfallsfreiheit wird in der Regel die Medikation ausgeschlichen. Über 90% der Patienten bleiben im Erwachsenenalter anfallsfrei (Roger et al., 2002).

Bei der CAE und der JAE sind, wie bei allen primär-generalisierten Epilepsieformen, von Beginn des Anfalls an beide Hirnhälften betroffen. Die typischen 3/s spike-wave Komplexe treten generalisiert in allen Hirnarealen auf. Dieses typische EEG-Muster ist in Abbildung 3 dargestellt.



**Abbildung 3: 3/s spike-wave Paroxysmus von 9 Sekunden Dauer. Es handelt sich um ein typisches EEG-Muster bei einer Absence, die klinisch von einer Bewusstseinspause begleitet ist (abgeleitet im EEG-Labor der Klinik für Neuropädiatrie, UKSH Kiel).**

Epileptische Anfälle können durch externe Reize ausgelöst werden. Drei Provokationsfaktoren gelten bei genetischen (idiopathischen) Epilepsien als Auslöser: Hyperventilation, Schlafentzug und Photostimulation (Lichtblitze). Durch Hyperventilation, also schnelle, vertiefte Atmung, lassen sich insbesondere Absencen im EEG provozieren. Flackerlicht oder Lichtblitze in bestimmten Frequenzen können selten (in 2 - 7%) auch bei gesunden Menschen EEG-Veränderungen bis hin zu epileptischen Anfällen auslösen (Trojaborg, 1992).

### 1.3 Genexpressionsanalyse mittels Microarray

Aktuell wird das menschliche Genom auf ca. 25.000 Gene geschätzt (Perteau & Salzberg, 2010), viele sind in ihrer genauen Funktion noch nicht geklärt. Eine nicht unerhebliche Anzahl von Genen konnte inzwischen mit verschiedenen erblichen Erkrankungen ursächlich in Zusammenhang gebracht werden. Auf der Suche nach verantwortlichen Genen für die Absence-Epilepsie führten neben Sequenzierungen einzelner Gene selbst neueste Hochdurchsatzmethoden wie die Exom-Sequenzierung nicht zur Identifizierung von Genen, die maßgeblich eine Rolle spielen könnten. Mittels Linkage-Analysen wurden zwar verdächtige Loci ausgemacht, wie zum Beispiel der kurze Arm des Chromosom 6 (Delgado-Escueta et al., 1990), Hauptgene für die Absence-Epilepsie bleiben jedoch bisher unbekannt. Parallel zu diesen Methoden wurden Analysen entwickelt, mit deren Hilfe die Ablesehäufigkeit und damit die Expression von Genen analysiert werden kann. Es stellt sich also die Frage, ob krankheitsauslösende Gene nicht in ihrer Struktur, sondern in ihrer Funktion passager verändert

sind, und damit die Umsetzung ihrer Information in Proteine. Diese Genexpression, also die Regulation der Gene ins Positive oder Negative lässt sich mit sogenannten Microarrays im Hochdurchsatzverfahren analysieren. Auf jedem Microarray (oder Biochip) werden gleichzeitig sehr viele DNA-Stücke untersucht, sodass mithilfe von Microarrays eine Vielzahl von Genen bzw. Gen-Transkripten gleichzeitig auf ihr quantitatives Vorkommen hin überprüft werden kann (Müller & Röder, 2004).

#### 1.4 Ziel und Motivation für diese Studie

Bereits ein halbes Jahrhundert vor Christus postulierte Hippokrates bei der Beschreibung der Epilepsie einen genetischen Hintergrund dieser Erkrankung (Golder, 2007). Steinlein und Mitarbeiter beschrieben 1995 bei einer großen australischen Familie eine Punktmutation in *CHRNA4* (*cholinergic receptor, nicotinic, alpha 4*), welches für eine Untereinheit des Acetylcholinrezeptors kodiert und bereits als Kandidatengen für Epilepsien im Verdacht gestanden hatte. Mit diesem Gen *CHRNA4* wurde erstmals ein Gen in einer Großfamilie beschrieben, welches ursächlich für die familiäre nächtliche Frontallappenepilepsie identifiziert werden konnte (Steinlein et al., 1995). Die folgenden Jahre sind bis heute geprägt durch eine Vielzahl weiterer Genentdeckungen (siehe Tabelle 9 im Anhang der Arbeit).

Für die genetischen (idiopathischen) Epilepsien wird ein komplexes Vererbungsmuster vermutet. Das bedeutet, dass nicht ein einzelnes Gen, sondern eine größere Anzahl von Genen in den Prozess der Krankheitsentstehung involviert ist. Daneben spielen Umweltfaktoren eine Rolle.

Sowohl in Tierversuchen als auch in Studien mit Menschen konnten inzwischen auch einige Gene identifiziert werden, welche ursächlich mit der kindlichen Absence-Epilepsie in Zusammenhang stehen. Diese sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Gen	Funktion	Erkrankung	Quelle
<i>CACNA1H</i>	Spannungsgesteuerter Kalziumkanal, alpha1H-Untereinheit	CAE, komplexe Epilepsie	(Vitko et al., 2007)
<i>CACNG3</i>	Spannungsgesteuerter Kalziumkanal, gamma3-Untereinheit	CAE	(Everett et al., 2007)
<i>CLCN2</i>	Chlorid-Kanal 2	CAE	(Combi, 2009)
<i>ECA1</i>	Kalzium-transportierende ATPase 4	CAE	(Sugimoto et al., 2000)
<i>GABRA1</i>	GABA-A-Rezeptor, alpha 1	CAE, Dravet-Syndrom	(Kang et al., 2009), (Carvill et al., 2014)
<i>GABRB3</i>	GABA-A-Rezeptor, beta 3	CAE	(Macdonald et al., 2004)
<i>LGI4</i>	Leucine-rich repeat LGI family, member 4	CAE, BNFC	(Gu et al., 2004)

**Tabelle 1: Im Zusammenhang mit CAE bekannte Gene**

Das Ziel dieser Studie ist die Identifikation neuer Kandidatengene für die Absence-Epilepsie des Kindesalters (CAE / Pyknolepsie). Die Beobachtung, dass ein genetischer Hintergrund für die CAE bestehen muss, belegen diverse Familien-, Geschwister- und Zwillingsstudien (Currier et al., 1963), (Bergamini et al., 1965), zitiert in (Hirsch & Panayiotopoulos, 2012)). Da bisher aber ein Großteil der Absence-Epilepsien nicht durch strukturelle Veränderungen in Genen zu erklären ist, soll in dieser Arbeit ein neuer Ansatz gewählt werden. Unter der Annahme, dass möglicherweise nicht die Struktur krankheitsauslösender Gene verändert ist sondern ihre Regulation, sollen die Transkriptmuster untersucht werden.

In zwei unterschiedlichen Herangehensweisen sollen Gene identifiziert werden, welche bei veränderter Expression assoziiert sein können mit der Ausbildung einer CAE.

1: Der erste Teil der Arbeit umfasst die Aufarbeitung vorhandener Literaturdaten und so die Erstellung einer Liste von Genen, welche bei der Epileptogenese relevant sein könnten.

2: Im zweiten praktischen Teil der Arbeit sollen Microarrayversuche durchgeführt werden. Hierzu soll aus den Lymphozyten des peripheren Blutes von Kindern mit kindlicher Absence-Epilepsie die mRNA gewonnen werden. Im Vergleich mit der mRNA von Kindern ohne neurologische Erkrankung soll so ein genomweiter Überblick erstellt werden über die

möglicherweise veränderte Regulation von Genen bei kindlicher Absence-Epilepsie. Der experimentelle zweite Teil gliedert sich in zwei Abschnitte.

Zunächst erfolgt ein Gruppenvergleich der Absence-Kinder gegenüber der Kohorte der neurologisch gesunden Kinder (Gruppenversuch), in einem zweiten Ansatz wird ein Vergleich von Einzelpatienten gegenüber Gesunden (Einzelversuch) durchgeführt.

Das Gewebe, von welchem die Epilepsie ausgeht und in welchem folglich Veränderungen im Transkriptmuster zu erwarten wären, sind Zellen des Gehirns. In bisher durchgeführten Studien wurden auch primär diese zentralen Nervenzellen untersucht (z.B. Temporallappenepilepsie) (Liu et al., 2012). Hirngewebe steht allerdings ohne Operation nicht zur Verfügung.

Von anderen übergeordneten Störungen des zentralen Nervensystems, wie zum Beispiel dem Morbus Parkinson und Multipler Sklerose ist bekannt, dass sich Veränderungen im Transkriptmuster von Genen im peripheren Blut nachweisen lassen (Mutez et al., 2011), (Ratzer et al., 2013), so dass wir diesen Ansatz auch für die Absence-Epilepsie gewählt haben, da kein Hirngewebe zur Verfügung steht.

Über die Suche nach neuen Kandidatengen und somit Klärung des genetischen Hintergrundes der Epilepsie besteht auch die Hoffnung, Rückschlüsse auf deren Pathophysiologie zu schließen. Dies könnte ein Schritt zur Entdeckung neuer therapeutischer Ziele sein (Roll & Szeptowski, 2002), (Snead, 1996).

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Aufbau der Studie

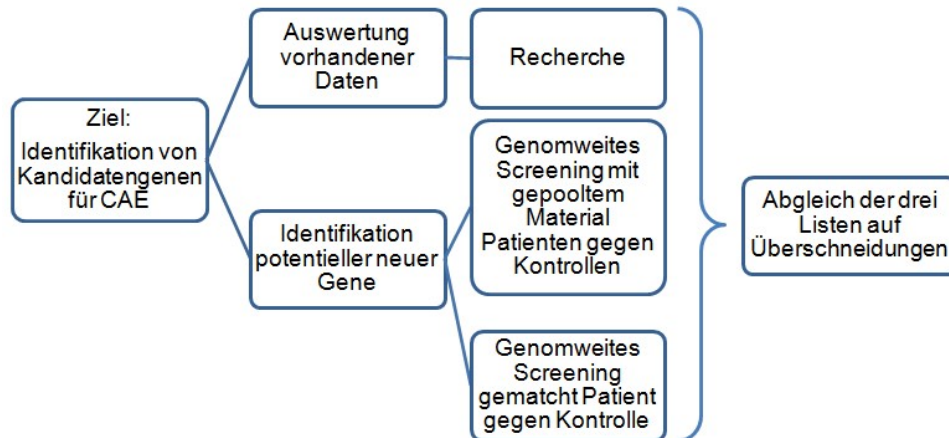


Abbildung 4: Aufbau dieser Studie

### 2.2 Recherche

Mittels Literaturrecherche sollen möglichst viele Gene identifiziert werden, welche entweder bereits im Zusammenhang mit Epilepsieerkrankungen bekannt sind oder aber als mögliche Kandidatengene in Frage kommen. Als Kandidatengene werden Gene in Betracht gezogen, die bereits im Zusammenhang mit anderen neurologischen Erkrankungen beobachtet werden konnten oder solche, die an einem pathogenetischen Mechanismus für eine genetisch bedingte Epilepsie beteiligt sind.

Die Recherche beinhaltete die Suche nach Genen für Ionenkanäle, nach Neurotransmitter und Gene im Zusammenhang mit Epilepsie. Diese Suche wurde im Jahr 2005 in der PubMed Datenbank durchgeführt, einer Online-Datenbank des „National Center for Biotechnology Information“ (NCBI). Entsprechend der Historie der Epilepsie-Genetik wurde zunächst nach Ionenkanal-Genen gesucht. Im Detail waren dies zwei erregende Ionenkanäle für Natrium und Calcium, sowie zwei hemmende Ionenkanäle für Kalium und Chlorid. Die Eingabe in die Suchmaske war also beispielsweise „chloride channel gene“ oder „potassium channel gene“, jeweils in Verbindung mit „epilepsy“, „seizures“ oder „brain“. Im weiteren Verlauf zielte die Suche dann auf Gene für Neurotransmitter wie GABA (gamma-aminobutyric acid), Glycin und Glutamat, Gene für Rezeptoren, sowie Gene, welche bei der Entwicklung des Gehirns eine Rolle spielen ab.

Gene, die bereits aufgrund von Studien als ursächlich für bestimmte Formen der Epilepsie bekannt waren, wurden tabellarisch katalogisiert.



## 2.3 Patienten- und Vergleichskollektiv

### 2.3.1 Patientenkollektiv

Für diese Arbeit konnten zehn Patienten rekrutiert werden, bei denen eine Absence-Epilepsie neu diagnostiziert wurde. Drei Jungen und sieben Mädchen wurden in die Studie eingeschlossen.

Die Eltern (und die Kinder selber, soweit es aufgrund des Alters möglich war) wurden über das Ziel und den rein wissenschaftlichen Charakter dieser Studie aufgeklärt. Nur bei Zustimmung der Erziehungsberechtigten und des Kindes (s.o.) wurde das Blut der Kinder für die Studie abgenommen. Diese Blutentnahme erfolgte im Zusammenhang mit der notwendigen Labordiagnostik vor antikonvulsiver Einstellung der Epilepsie.

#### 2.3.1.1 *Einschlusskriterien*

1. Diagnose Absence-Epilepsie des Kindes- bzw. Jugendalters  
Diese Diagnose wurde klinisch gestellt (Anamnese) und durch EEG Untersuchung bestätigt (spike-wave Paroxysmen begleitet von klinischer Abwesenheit).
2. Zeitpunkt der Epilepsie mit hoher Anfallsfrequenz  
Es ist anzunehmen, dass die Veränderungen auf Transkriptionsebene zu diesem Zeitpunkt am stärksten ausgeprägt sind.
3. Keine Medikation  
Die regelmäßige Einnahme von Medikamenten kann die Expression von Genen nachweislich verändern (Chang et al., 1999).
4. Keine Begleiterkrankungen  
Es wurde im Zusammenhang mit einigen chronischen Erkrankungen bereits eine damit einhergehende Veränderung im Transkriptmuster eines oder mehrerer Gene nachgewiesen (Mohammadi Amirabad et al., 2014), (Mutez et al., 2011), (Ratzer et al., 2013).
5. Präpubertärer Entwicklungsstand des Patienten  
Es wird angenommen, dass sich die Expression mancher Gene im Laufe des Lebens verändert, verstärkt in Phasen der Hormonumstellung, wie z.B. während der Pubertät (Lu et al., 2004), (Conforto & Waxman, 2012).
6. Zeitpunkt der Blutentnahme vormittags  
Von einigen Genen ist bekannt, dass ihre Transkription abhängig vom circadianen Rhythmus variiert (Oster et al., 2006), (Okamura, 2004). Für diese Studie, wurde der Zeitpunkt der Blutentnahme auf vormittags festgelegt. So sollte eine einheitliche Grundaktivität aller Gene erreicht werden.

7. Ausreichendes Untersuchungsmaterial und Qualität (ausreichende RNA Konzentration).

In der nachfolgenden Tabelle 2 sind die zehn Patienten anonymisiert mit Geschlecht, Diagnose sowie Alter bei Entnahme der Blutprobe aufgeführt.

Patient	Geschlecht	Diagnose	Alter (in Jahren) bei Probenentnahme
1	W	CAE	4
2	W	CAE	5
3	W	CAE	7
4	W	CAE	7
5	W	CAE	8
6	W	CAE	9
7	W	JAE	11
8	M	CAE	7
9	M	CAE	8
10	M	JAE	11

**Tabelle 2: Geschlecht, Diagnose und Alter der eingeschlossenen Patienten**

### 2.3.2 Vergleichskollektiv

Für den Vergleich mit dem Expressionsprofil eines gesunden Kindes wurde jedem Expressionsprofil eines Patienten jeweils ein Datensatz einer gesunden alters- und geschlechts-gematchten Kontrollperson zugeordnet. Für diese Arbeit wurden als Vergleichspersonen Kinder gewählt, welche sich für kleinere elektive operative Eingriffe in HNO-chirurgische Behandlung begaben, da hierfür eine Blutentnahme ohnehin notwendig war und die Kinder neben der vorliegenden Problematik neurologisch gesund sind.

Bei den Kindern dieser Vergleichsgruppe sollte durch Selektion gewährleistet sein, dass sich kein relevanter Unterschied in der zu untersuchenden Transkriptionsrate der Gene durch einen Alters- oder Geschlechtsunterschied ergibt.

Es ist bekannt, dass Entzündungen im Körper die Expressionsraten bestimmter Gene verändern können (Meynard et al., 2013). Für diese Studie wurden für die Vergleichsproben Kinder ausgewählt, die elektiv operiert werden sollten. Da dies im entzündungsfreien Intervall geplant wird, war weitgehend sichergestellt, dass in dieser Untersuchung kein entzündlicher Prozess im Körper die Expressionsraten der Gene verändern würde.

### 2.3.2.1 Ausschlusskriterien

Eine bei dem Kind oder seinen direkten Angehörigen vorliegende paroxysmale Erkrankung (z.B. Epilepsie, neurologische Grunderkrankungen) oder andere schwere chronische Erkrankungen wurde durch Befragung der Eltern so gut wie möglich ausgeschlossen (standardisierter Fragebogen, siehe Abbildung 20 im Anhang).

Wie bereits erwähnt, verändert sich die Expression verschiedener Gene abhängig von Geschlecht, Entwicklungsalter des Probanden und Tageszeit der Blutentnahme. Diese drei Faktoren sollten in den beiden Gruppen so weit wie möglich übereinstimmen. Tabelle 3 zeigt die klinischen Daten des Vergleichskollektives.

Proband	Geschlecht	Geplante Operation	Alter bei Probenentnahme
1	W	Exstirpation Fistel	4
2	W	Tonsillektomie	5
3	W	Tympanoplastik	6
4	W	Otopexie	6
5	W	Otopexie	8
6	W	Kieferhöhlen-OP	12
7	W	Tonsillektomie	13
8	M	Otopexie	7
9	M	Otopexie	8
10	M	Tympanoplastik	11

**Tabelle 3: Kinder der Vergleichsgruppe**

In der nachfolgenden Tabelle 4 sind Patienten und Vergleichskinder nebeneinandergestellt. Die Altersmediane unterscheiden sich nicht.

Nr.	Patient		Vergleichskind	
	Geschlecht	Alter	Geschlecht	Alter
1	W	4	W	4
2	W	5	W	5
3	W	7	W	7
4	W	7	W	8
5	W	8	W	8
6	W	9	W	12
7	W	11	W	13
8	M	7	M	7
9	M	8	M	8
10	M	11	M	11
	<b>Range</b>	<b>4-11 Jahre</b>		<b>4-13 Jahre</b>
	<b>Median</b>	<b>7</b>		<b>7,5</b>

Tabelle 4: Vergleich der Altersverteilung von Patienten und Vergleichskindern

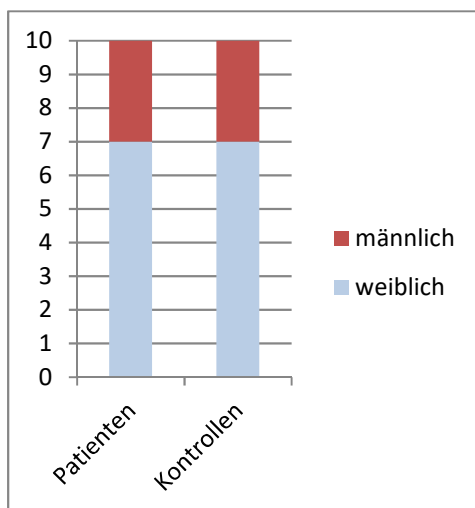


Abbildung 5: Geschlechterverteilung der Gruppen

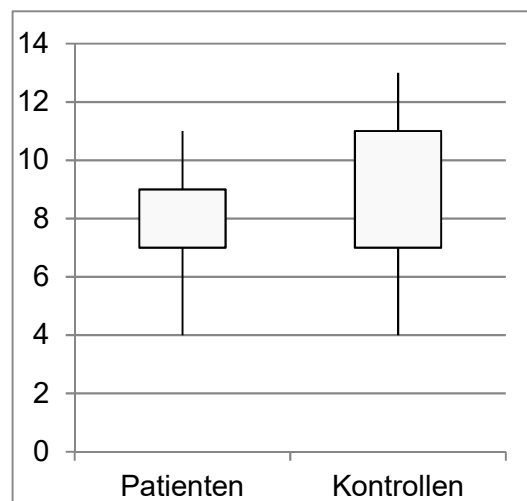


Abbildung 6: Altersverteilung der Gruppen (Die Enden der Antennen zeigen die Maximalwerte, die Box umfasst den Bereich der mittleren 50% der Werte)

### 2.3.3 Ethikantrag

Die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel hatte vorab einen Antrag für diese Studie erhalten und genehmigt (Ammendment zu Aktenzeichen A 115/02 und A 116 / 02).

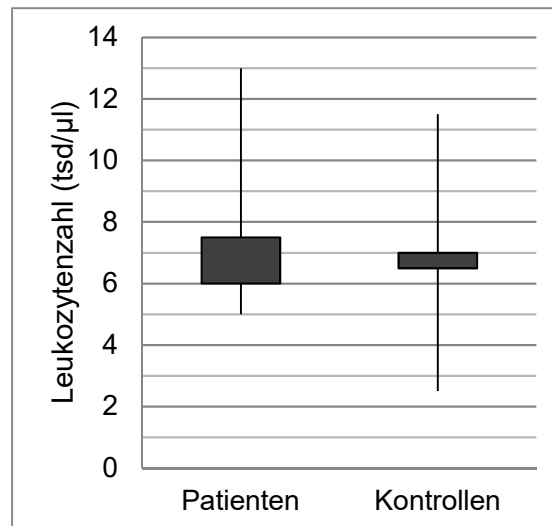
## 2.4 Probenentnahme und Vorverarbeitung

Den an Absence-Epilepsie erkrankten Kindern wurden im Rahmen der diagnostischen Blutentnahme vor Einstellung der antikonvulsiven Therapie 5ml EDTA Blut zusätzlich abgenommen. Bei den Kindern der Vergleichsgruppe geschah dies im Rahmen der routinemäßigen präoperativen Blutentnahme.

Die Blutproben wurden zeitnah in das Labor der Kinderklinik transportiert, wo nach vorliegendem Protokoll durch eine ausgebildete MTA die mononukleären Zellen des peripheren Blutes (= Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs) aus der Probe extrahiert wurden. Diese wurden aliquotiert und in Pufferlösung bei  $-80^{\circ}\text{C}$  eingefroren, so dass zu einem späteren Zeitpunkt die empfindliche mRNA aus allen Proben in einem Ansatz extrahiert, markiert und auf dem Microarray hybridisiert werden konnte. So wurden relevante Qualitätseinbußen vermieden. Dieses Vorgehen konnte so gewählt werden, da in zurückliegenden Studien nachgewiesen wurde, dass zum Einen das Transkriptom der PBMCs repräsentativ für das Transkriptom des Individuums stehen kann und zum Anderen ein Einfrieren der Proben bei  $-80^{\circ}\text{C}$  auch über einen längeren Zeitraum (untersucht wurden 15 Monate) toleriert werden kann, da die RNA über den entsprechenden Zeitraum in dem Puffermedium stabil ist (Marteau et al., 2005).

Es wurde von allen Kindern ein Differentialblutbild erstellt. So konnte einerseits laborchemisch ein vorliegender Entzündungsprozess ausgeschlossen werden, andererseits musste auch sichergestellt sein, dass von allen beteiligten Probanden die gleiche Menge Material (ausreichende Zellzahl) in die Untersuchung eingeht. Die Anzahl der Leukozyten im Blut der Patienten bzw. Kontrollen ist in Abbildung 7 dargestellt. Die Antennen der Grafik reichen vom größten bis zum kleinsten Wert, die Box entspricht dem Bereich, in dem die mittleren 50% der Daten liegen.

Die Zahl der Leukozyten differierte zwischen Patienten und Vergleichskindern nicht.



**Abbildung 7:** Darstellung der Leukozytenzahl der beiden Gruppen im Durchschnitt in Tausend pro Mikroliter (die Enden der Antennen erreichen die oberen und unteren Maximalwerte, im Bereich der Box liegen die mittleren 50% der Werte)

## 2.5 Der Microarrayversuch

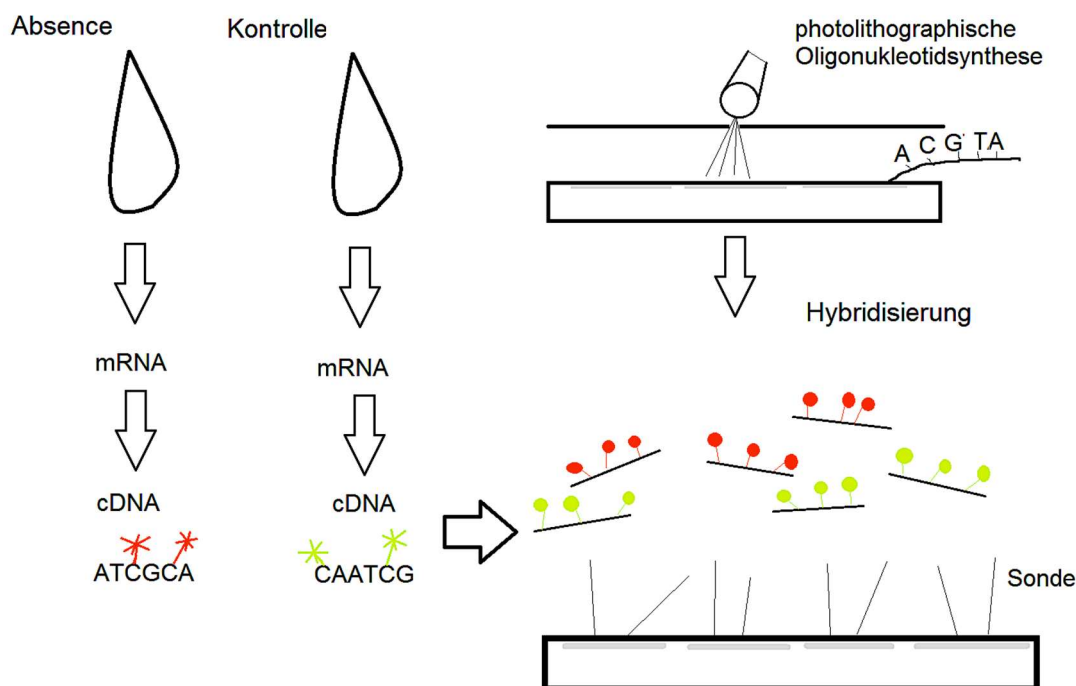
Durch Transkriptom-Microarrays kann das Genom auf funktioneller Ebene untersucht werden. Es hat sich herausgestellt, dass die meisten Gene nicht ein festgelegtes „Aktivitätslevel“ halten, sondern „reguliert“ werden. Ein Gen wird in unterschiedlichen Zell-Typen unterschiedlich häufig abgelesen; in einer Leber-Zelle sind andere Gene „aktiv“ als in einer Nervenzelle. Auch gibt es Phasen höherer und niedriger Übersetzungsfrequenz, in welchen ein Gen häufiger oder seltener abgelesen wird. Fehlerhafte Regulation von Genen kann Krankheit auslösen oder Krankheitsverläufe beeinflussen. Dies ist zum Beispiel bei diversen Krebserkrankungen bekannt (Arlt et al., 2005).

### 2.5.1 Der Microarray

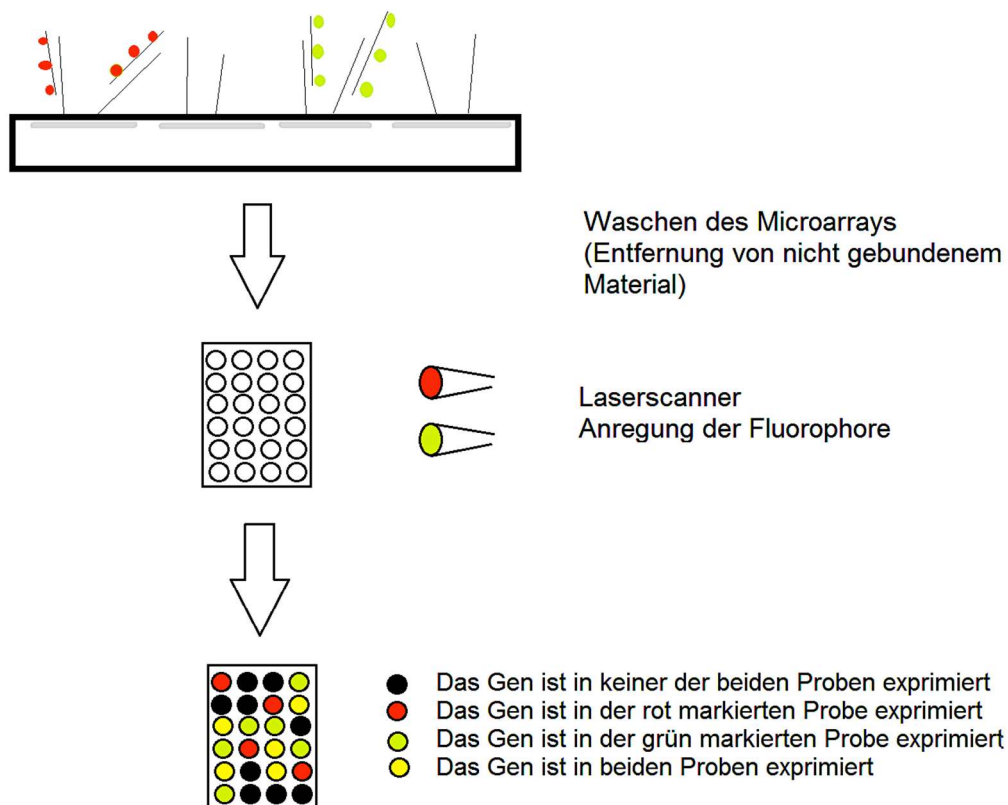
Ein Microarray ist ein gläserner Objektträger, welcher mehrere tausend DNA-Sequenzen trägt, wobei stets mehrere identische Oligomere an einer determinierten Stelle, einem sogenannten Spot, auf dem Objektträger immobilisiert sind. Dabei sind die jeweiligen Sequenzen bekannt, so dass jedem Spot ein Gen zugeordnet werden kann.

Um ein Expressionsmuster, also die Übersetzungshäufigkeit von Genen, zu untersuchen, muss aus den zu untersuchenden Zellen zunächst die mRNA gewonnen und, falls notwendig, amplifiziert werden. Im nächsten Schritt wird die gewonnene, sehr instabile mRNA in deutlich stabilere cDNA übersetzt, welche anschließend auf dem Chip hybridisiert wird.

Um die differentielle Expression von zwei Proben messbar und sichtbar machen zu können, werden bei der Übersetzung mit Fluoreszenzfarbstoff markierte Nukleotide verwendet. Hierbei handelt es sich meist um die Fluorophore Cyanine-3 (Cy-3) für eine Probe und Cyanine-5 (Cy-5) für die Gegenprobe, die nach Anregung durch einen Laser Licht in einem Wellenlängenbereich von 570nm bzw. 670nm emittieren, welches dem Betrachter grün bzw. rot erscheint. Die markierten Proben werden auf dem vorbereiteten Microarray hybridisiert. Zur Analyse der Daten wird der Array nach der Hybridisierung von zwei verschiedenen farbigen Lasern beschienen, so dass einmal Cy-3 und einmal Cy-5 angeregt wird. Das Licht, welches daraufhin von den gebundenen markierten Nukleotiden emittiert wird, lässt sich von einem Scanner erfassen und es wird ein digitales Abbild der Fluoreszenz erstellt. So entstehen zwei Bilder, eines mit roten Spots wo Gene der mit Cy-5 markierten Probe gebunden sind und eines mit grünen Spots für die Cy-3-markierte Probe. Am Rechner werden diese beiden Bilder übereinandergelegt. Spots, welche in beiden Proben exprimierte Gene darstellen, erscheinen gelb, solche, die Gene darstellen, welche in nur einer Probe exprimiert sind, rot oder grün. (Müller & Röder, 2004)



**Abbildung 8: Ablauf des Microarrayexperiments: Erstellen und Zusammenführung von markierter DNA und vorbereitetem Array (in Anlehnung an Müller & Röder, 2004).**



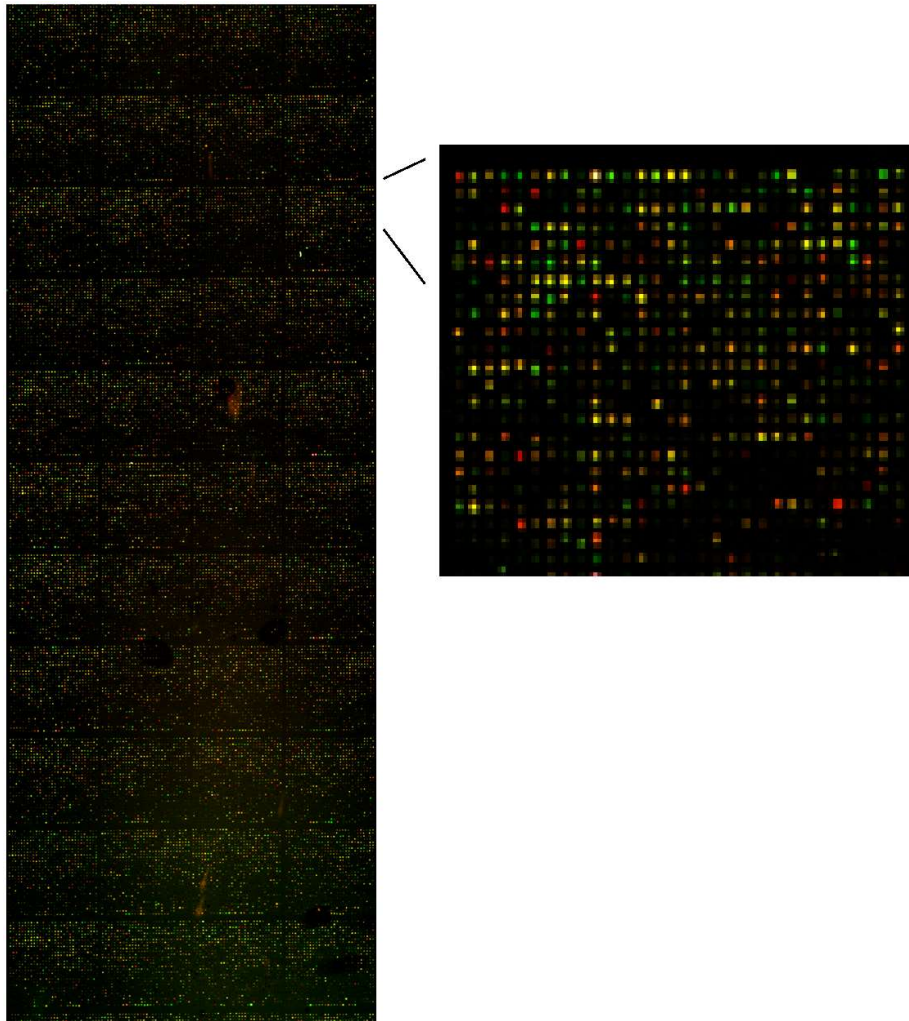
**Abbildung 9: Auswertung des Microarrayexperiments (in Anlehnung an Müller & Röder, 2004).**

Ein Ausschnitt aus einem sich aus einem Microarrayversuch ergebenden Bild ist in Abbildung 10 dargestellt.

In diesem Versuch kam der Affymetrix HG-U133 Plus 2.0 Microarray zur Anwendung. Dieser Array mit DNA-Oligomeren für das gesamte humane Genom ist geeignet um ein grobes Screening auf verdächtige Gene durchzuführen, er hat sich inzwischen als Quasi-Standardverfahren für kommerzielle Anwendungen etablieren können. Er ist standardmäßig bestückt mit Sequenzen, welche ausgewählt wurden von GenBank®, dbEST und RefSeq.

Die Sequenz-Cluster wurden von der UniGene database gebildet. Durch weiteren Abgleich mit anderen Datenbanken wurde der Datensatz von Affymetrix weiter verfeinert (Affymetrix, 2014).





**Abbildung 10: Microarray aus der gepoolten Untersuchung mit einer Ausschnittvergrößerung zur Veranschaulichung der Spots. In einem grün dargestellten Spot hat sich überwiegend Material der grün markierten Probe gebunden, in einem roten Spot überwiegend Material der rot markierten Probe. Ein gelber Punkt zeigt eine Probe, in der Material von beiden Gruppen gebunden hat, in einem schwarzen Bereich hat keine markierte DNA gebunden.**

Affymetrix stellt die Arrays mittels photolithographischer Verfahren her, wobei durch Lochmasken hindurch die Spots bestrahlt werden und die DNA-Moleküle Nukleotid für Nukleotid aufgebaut werden. Die Oligomere haben eine Gesamtlänge von 25 Basenpaaren und werden als vielfache identische Kopien auf die Spots des Arrays hybridisiert (Affymetrix, 2014).

Durch die hohe Anzahl an Oligomeren pro Spot wird die Fehlerrate durch Kreuzhybridisierung minimiert, dennoch muss dafür gesorgt sein, dass die gewählte Nukleotidsequenz repräsentativ für das zu untersuchende Gen ist und keine Homologien mit anderen Genen auf dem Chip aufweist. Diese Oligomere sind als sogenannte Sonden fest auf dem Array platziert, so dass in der späteren Auswertung jedem Spot aufgrund seiner Lage ein Gen zugeordnet werden kann (Arnold & Nielsen, 2005).

Der Microarray HG-U133 Plus 2.0 der Firma Affymetrix ermöglicht die Analyse von 47.000 Transkripten. Da die Anzahl der Gene im menschlichen Genom derzeit auf ca. 25.000 geschätzt wird (Perteu & Salzberg, 2010) sind hierunter auch viele sogenannte Expressed Sequence Tags (ESTs). Für jede Probe gibt es auf dem Chip ein Probenet mit bis zu 16 Probenzellen, wovon jede mehrere Millionen 25mere der entsprechenden Sequenz enthält. Zudem gibt es für jede Sequenz "Perfect-match Probenzellen" (PM) und "Mismatch-Probenzellen" (MM), bei welchen die mittlere Base gegen ihre komplementäre Base ausgetauscht ist. Dieses Vorgehen ermöglicht sehr einfach die Bestimmung von unspezifischen Hybridisierungen im Probenet (Affymetrix, 2014).

### 2.5.2 Zielmoleküle

Die mRNA aus dem zu untersuchenden Gewebe (periphere Lymphozyten) wurde isoliert und aufgereinigt. Hierfür wurde das RNeasy Mini Kit von Quiagen genutzt (QUIAGEN GmbH; Hilden, Germany), welches qualitativ hochwertige RNA liefert, die sehr gut zur Weiterverarbeitung auf dem Microarray geeignet ist (Hembruff et al., 2005).

Diese Methode verwendet Siliziumgel-Membranen in spezifischen Hochsalz-Puffer-Systemen, welche eine spezifische Bindung der RNA an die Membran ermöglichen. Lyse und Homogenisierung des biologischen Materials erfolgte in einem GITC (Guanidinium-Isothiocyanate) enthaltenden Puffer, welcher stark denaturierende Eigenschaften hat. So werden auch RNasen unmittelbar inaktiviert, so dass die Isolierung intakter RNA gewährleistet ist.

Unter Zugabe von Ethanol bilden sich zwischen den RNA-Molekülen und den OH-Molekülen des Siliziums Wasserstoffbrückenbindungen aus. Hier bindet spezifisch total-RNA mit einer Länge über 200 Nukleotiden, kurze RNA-Stränge, wie tRNA oder rRNA werden also nicht mit isoliert. Mögliche Kontaminationen werden in drei Waschgängen mit Pufferlösungen (RW1, RPE; Quiagen, Hilden, Germany) entfernt, anschließend kann die RNA in RNase-freiem Wasser eluiert und weiter verwendet werden.

Die RNA wurde nach Isolierung mit dem Agilent 2100 Bioanalyzer kontrolliert. In diesem System werden die Probenkomponenten elektrophoretisch getrennt. Die Komponenten werden durch eingelagerten Fluoreszenzfarbstoff detektiert und in gelartige Bilder (Banden) und Elektropherogramme (Peaks) übersetzt (Agilent Technologies, 2007). Mit der Fluoreszenzdetektion, welche diese Methode nutzt, ist eine genauere Quantifizierung der mRNA-Konzentration möglich, als dies mit der herkömmlichen Gel-Elektrophorese der Fall ist.

Hier zeigte sich bei einer Patientin eine zu geringe RNA-Konzentration. Die Probe wurde durch ein weiteres, qualitativ besseres Aliquot ersetzt. Das Blut einer Kontrolle musste aus

dem Versuch ausgenommen werden, da insgesamt zu wenig Material vorhanden war. Hier wurde eine neue Kontroll-Probandin rekrutiert. Die neue Probe war in Qualität und Konzentration gut zur weiteren Verarbeitung geeignet. Auf diese Weise wurde Konzentration und Qualität bei Patienten und Kontrollen sichergestellt.

Im nächsten Schritt wurde die instabile mRNA mittels einer RNA-abhängigen DNA-Polymerase in die komplementären DNA (cDNA) transkribiert. Hierbei wurden für die spätere Detektion notwendige fluoreszenzmarkierte Nukleotide eingebaut. Für die Patientengruppe wurde der Cyanfarbstoff Cy5 genutzt (Emission im roten Spektrum, bei 670nm), für die Vergleichsgruppe Cy3 (Emission im grünen Spektrum, bei 570nm). Anschließend wurde die markierte cDNA gereinigt, um überschüssige markierte Nukleotide zu entfernen.

### 2.5.3 Hybridisierung

Vor dem eigentlichen Prozess der Hybridisierung wurde der Träger mit einem Hybridisierungspuffer behandelt um unspezifische Bindungen zu reduzieren.

Im Anschluss wurde die markierte cDNA auf den Array aufgebracht. Hier binden die markierten cDNA-Moleküle im Sinne einer Watson-Crick-Basenpaarung spezifisch an die auf dem Microarray immobilisierten Oligonukleotide (Hybridisierung). Die temperaturabhängige Dissoziation des Hybridkomplexes (cDNA-Oligonukleotid) bestimmt die Spezifität der Hybridisierung. Es kommt also, durch die Reversibilität der Bindung, zu einem Gleichgewicht zwischen assoziierten und dissoziierten cDNA-Molekülen (Wetmur, 1991). Damit ist die Menge an gebundenen cDNA-Molekülen in jedem Spot direkt abhängig von der Menge der auf dem Array gebundenen Sonden in dem Spot sowie von der Menge an in der Probe vorhandenen, zu der jeweiligen Sonde passenden Molekülen, also der Zielgröße des Experiments, der Expression des entsprechenden Gens.

Die Hybridisierung wird beendet durch das Abwaschen der nicht gebundenen cDNA-Moleküle und das Fixieren der gebundenen cDNA.

### 2.5.4 Auswertung

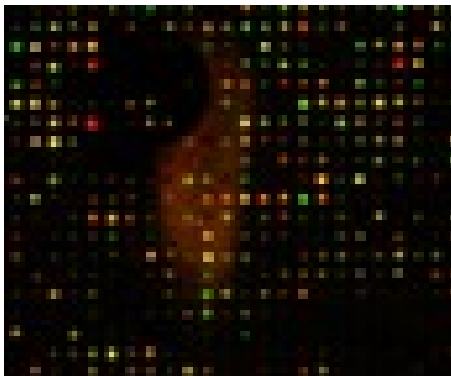
#### 2.5.4.1 Berechnung der Daten

Nach der Hybridisierung erfolgte die **Fluoreszenzanalyse** des Hybridisierungssignals mittels Laserscanner (GeneChip® Scanner 3000 7Gb; Affymetrix, USA). Dabei werden für jeden Array zwei Laserbilder erstellt, jeweils eines für jeden der beiden Fluoreszenzfarbstoffe. Jedes Bild enthält die gesamte Fläche mit allen Hybridisierungssignalen. Für jede Probenzelle werden 64 Pixel berechnet, aus deren individueller Intensität die Standardabweichung für jeden Spot berechnet wird. Diese dient der Abschätzung von Homogenität und Qualität

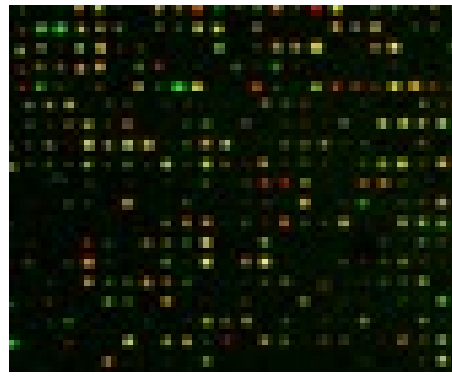
eines Spots. Die Intensität von Pixeln zwischen den Spots liefert Daten zur Berechnung des Hintergrundsignals.

#### **2.5.4.2 Optische Kontrolle**

Das gescannte Bild eines Microarrays wird zunächst umgerechnet und ausgegeben als .DAT-Datei, dieses ähnelt dem Falschfarben-Fluoreszenz-Bild, welches in der Einleitung dargestellt ist (Abbildung 10), allerdings ist es vor dem rechnerischen „Zusammenlegen“ beider Messungen einfarbig. Auf diesem Bild erfolgt eine visuelle Kontrolle auf grobe Verschmutzungen oder Kratzer auf dem Array. Auch die Hybridisierungskontrolle, eine von Affymetrix auf dem Chip angelegte interne Kontrolle, wird in diesem Schritt begutachtet. Trotz sorgfältigster Handhabung kann es durch angetrocknete Puffertropfen oder Verschmutzungen zu Artefakten auf dem Microarray kommen. In Abbildung 11 ist ein Artefakt aus einem Microarray dieser Studie dargestellt, in Abbildung 12 ein Bereich mit sauberen Spots, ohne Artefakte.



**Abbildung 11: Artefakt in einem Microarray dieser Studie**



**Abbildung 12: Bereich ohne Artefakte, saubere Spots**

Teilweise können die Artefakte durch die Hintergrundbereinigung der auswertenden Algorithmen heraus gerechnet und die Fluoreszenzwerte der Spots weiter verwendet werden.

#### **2.5.4.3 Datenanalyse / Statistische Verfahren**

Der Microarray wird durch den Laserscanner abgetastet und ein Bild wird generiert, wobei jeder Pixel die Fluoreszenz der entsprechenden Region auf dem Microarray repräsentiert. Die anschließende Spoterkennung erfolgt in einem automatischen Verfahren und bedarf selten eines Eingriffs von Nutzerseite (Walburg, 2002). Mögliche Fehlerquellen finden in diesem Verfahren Berücksichtigung.

Die Analyse der gescannten Daten erfolgte mittels der Software Microarray Suite (MAS) 5.0 von Affymetrix®. Ausgehend von der *Raw data*, den Rohintensitäten der ausgelesenen Spots, wird über diverse Algorithmen für jedes Gen ein Intensitätswert berechnet. Die

Affymetrix Microarray Suite 5.0 berechnet über das Verhältnis der Signale der Perfect-Matches zu denen der Mismatches mittels Wilcoxon-Rangsummentest einen p-Wert für jedes Probenet. Es soll berechnet werden, ob signifikant mehr Hybridisierungssignale in der Perfect-Match-Probe als in der Mismatch-Probe erkannt wurden. So werden die untersuchten Expressionswerte der Gene in drei Klassen eingeteilt: Present (p-Wert kleiner 0,01), Marginal (p-Wert 0,01 - 0,02) oder Absent (p-Wert größer 0,02). Signale, welche nicht in mindestens 80% der Proben „present“ gewertet wurden, wurden aus der weiteren Datenverarbeitung ausgenommen. Mittels Mann-Whitney-U-Test wurden differente Transkriptionslevel ermittelt, rechnerisch gefolgt von der Benjamini-Hochberg-Prozedur für multiple Testung. Eine Auswahl der Gene zur weiteren Analyse nach ihrem Detektionswert minimiert das Risiko relevante Daten zu verwerfen und verringert die Rate falsch positiver Ergebnisse (die False Discovery Rate (FDR)) (McClintick & Edenberg, 2006).

Die Analyse der als präsent detektierten Gene erfolgte mit dem Tool SAM (Significance Analysis of Microarrays). Dieses berechnet Westfall & Young-Permutationen (K = 5000 Permutationen) und liefert eine niedrige False Discovery Rate (FDR) (Lenz, 2009). Eine schlichte Wertung der Gene nach dem Fold Change der jeweiligen Expressionsdifferenz ist nicht ausreichend für eine Auswahl interessanter Gene, da durch einzelne Ausreißer bei mehrfachen Versuchsreihen leicht ein fehlerhaft überhöhter Fold Change zustande kommen könnte. Andererseits würden differentiell exprimierte Gene, welche nur einen schwachen Expressionsunterschied aufweisen, nicht ins Auge fallen. Auch der streng gefasste p-Wert für starke statistische Signifikanz von 0,01 würde bei alleiniger Anwendung auf knapp 50.000 Gene immer noch 500 falsch positiv identifizierte Gene zulassen. SAM weist jedem Gen einen Wert zu auf der Basis der Veränderung der Genexpression relativ zur Standardabweichung wiederholter Messungen. Für Gene, deren Werte oberhalb einer festlegbaren Grenze liegen, werden von SAM Permutationen der wiederholten Messungen berechnet um den Prozentsatz der Gene zu berechnen, die zufällig identifiziert wurden. Dies ist die sogenannte False Discovery Rate (FDR) (Tusher et al., 2001). So ergibt sich aus der Untersuchung eine Liste mit differentiell exprimierten Genen, deren Fold Change nicht zwingend sehr groß ist, deren Expressionsveränderung jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit statistisch signifikant ist. Dies wird ausgedrückt durch den q-Wert, das Äquivalent zum p-Wert bei Betrachtung der FDR. Der q-Wert ist ein Maß für die Stärke einer beobachteten Statistik mit Bezug auf die positive FDR (pFDR). Er gibt an, wie hoch der zu erwartende Anteil an falsch Positiven ist unter allen als positiv (signifikant) gewerteten Daten (Storey, 2002). Analog zum p-Wert ist hier also ebenfalls ein möglichst niedriger Wert erwünscht, da dies die Spezifität der als positiv gewerteten (statistisch signifikant in ihrer Expression veränderten) Gene erhöht (Lenz, 2009).

Transkripte mit einem korrigierten p-Wert kleiner 0,05 und einer FDR von unter 5% wurden als „differentiell exprimiert“ übernommen.

Dennoch ist das Risiko, signifikant differentiell exprimierte Gene nicht zu entdecken (FNR=false nondiscovery rate) bei kleinen Kollektiven deutlich höher als bei größeren Gruppen.

#### **2.5.4.4 Qualitätskontrolle des Microarrayversuches**

Im Zuge der Berechnungen durch die jeweilige Software erfolgte zunächst eine Hintergrundbereinigung, welche dazu dient, Eigenfluoreszenz von Array und verwendeten Reagenzien, Streulicht oder ähnliche Fehlerquellen rechnerisch zu eliminieren. Hierzu ist in der MAS 5 ein Algorithmus implementiert. Anhand der die Spots umgebenden Pixel kann die Hintergrundaktivität gemessen und von den gemessenen Werten abgezogen werden. Über die gemessene Aktivität in den Mismatch-Proben kann die Aktivität der Kreuzhybridisierung gemessen und ebenfalls subtrahiert werden, so dass als Ergebnis die echten Expressionsstärken der aufgetragenen Gene bleiben (Affymetrix, 2014).

Im nächsten Schritt wird die nicht-biologische Varianz minimiert, welche ihren Ursprung in technischen Details hat (Herstellung des Arrays, Durchführung des Experiments). Dieser Schritt, die **Normalisierung**, verfolgt das Ziel, die Microarrayexperimente vergleichbar zu machen (Boes, 2007).

Im Vergleich der Expressionswerte zweier Gene zueinander ist die einfachste Art, das Verhältnis darzustellen, der Quotient. Mit den gemessenen Werten für das Spotsignal „R“ für den roten Kanal und das Spotsignal „G“ für den grünen Kanal ergäbe sich für jedes Gen x der Quotient  $Q_x$ .

$$Q_x = \frac{R_x}{G_x}$$

Der Zahlenwert des Quotienten liefert jedoch kein übersichtliches Ergebnis, da hochregulierte Gene Zahlwerte größer 1 ergeben (also z.B. 2 für ein Gen, das um den Faktor 2 hochreguliert ist), herunterregulierte Gene ergeben Zahlwerte zwischen 0 und 1 (für ein um den Faktor 2 herunterreguliertes Gen ergäbe sich der Quotient 0,5). Zur Verbesserung der Darstellung bietet es sich an, die Expressionswerte über den Logarithmus zur Basis 2 darzustellen, da so die Expressionswerte symmetrisch zum Ursprung dargestellt werden. Dies bezeichnet man als **Fold Change**.

Bei gleich starker Expression von rotem und grünem Kanal ergibt sich der Quotient 1, der Fold Change beträgt 0:

$$\log_2(1) = 0$$

Bei Veränderung um den Faktor 2 bzw. 4 ergibt sich für herunterregulierte Gene

$$\log_2\left(\frac{1}{2}\right) = -1$$

$$\log_2\left(\frac{1}{4}\right) = -2$$

für hochregulierte Gene

$$\log_2(2) = 1$$

$$\log_2(4) = 2$$

So stehen sich für hoch- und herunterregulierte Gene bei gleichem Faktor gleiche Zahlwerte gegenüber.

Das **Clustering** ist ein optionaler Schritt in der weiteren Datenverarbeitung. Es werden die betreffenden Objekte über Clustering-Algorithmen in Klassen (Cluster) sortiert, so dass Gene, welche über viele Versuchsreihen hinweg ein homogenes Verhalten aufgewiesen haben, in Gruppen sortiert werden. Es erfolgt eine möglichst hohe Homogenität innerhalb der Gruppen und eine gute Separation zwischen differenten Genen.

Beim **hierarchischen Clustering** beginnt der Berechnungsalgorithmus bei den beiden Genen mit der größten Ähnlichkeit, also dem geringsten Eintrag in der Differenzmatrix. Dann wird Gen für Gen das jeweils Ähnlichste identifiziert und dazu sortiert (Qin et al., 2003). Das Ergebnis ist ein Dendogramm, wie es in Abbildung 16 und Abbildung 18 im Folgekapitel oberhalb der jeweiligen Heat Map zu sehen ist.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse der Recherche

Durch die PubMed Recherche wurden 726 Gene erfasst, von denen 369 auch im Gehirn exprimiert sind. 157 Gene aus dieser Liste sind bereits im Zusammenhang mit neurologischen Erkrankungen beschrieben worden, 55 hiervon sind nach aktuellem Kenntnisstand in Blut und Gehirn exprimiert.

Einen Überblick über die Anzahl der gefundenen Gene zeigt die nachfolgende Tabelle 5.

kodierte Protein- gruppe	gesamt	im Gehirn exprimiert	in Blut und Gehirn exprimiert	Zushg. mit neurolog. Erkrankung bekannt	in Gehirn und Blut ex- primiert + bekannter Zusammenhang mit neurolog. Erkrankung
Calcium- Kanal	48	27	17	5	1
Chlorid- Kanal	13	7	7	2	2
Kalium- Kanal	95	64	16	15	3
Natrium- Kanal	18	16	1	9	1
ATP	96	26	25	4	3
nAChR	15	11	2	5	1
GABA	24	16	6	6	1
Glycin	4	3	0	3	0
Glutamat	23	16	3	3	1
Andere Proteine	390	183	130	105	42
<b>gesamt</b>	<b>726</b>	<b>369</b>	<b>207</b>	<b>157</b>	<b>55</b>

Tabelle 5: Anzahl der in der Recherche identifizierten Gene.

Gelistet sind Angaben zu Expression in Gehirn und Blut sowie die bekannte Relevanz in Bezug auf neurologische Erkrankungen.

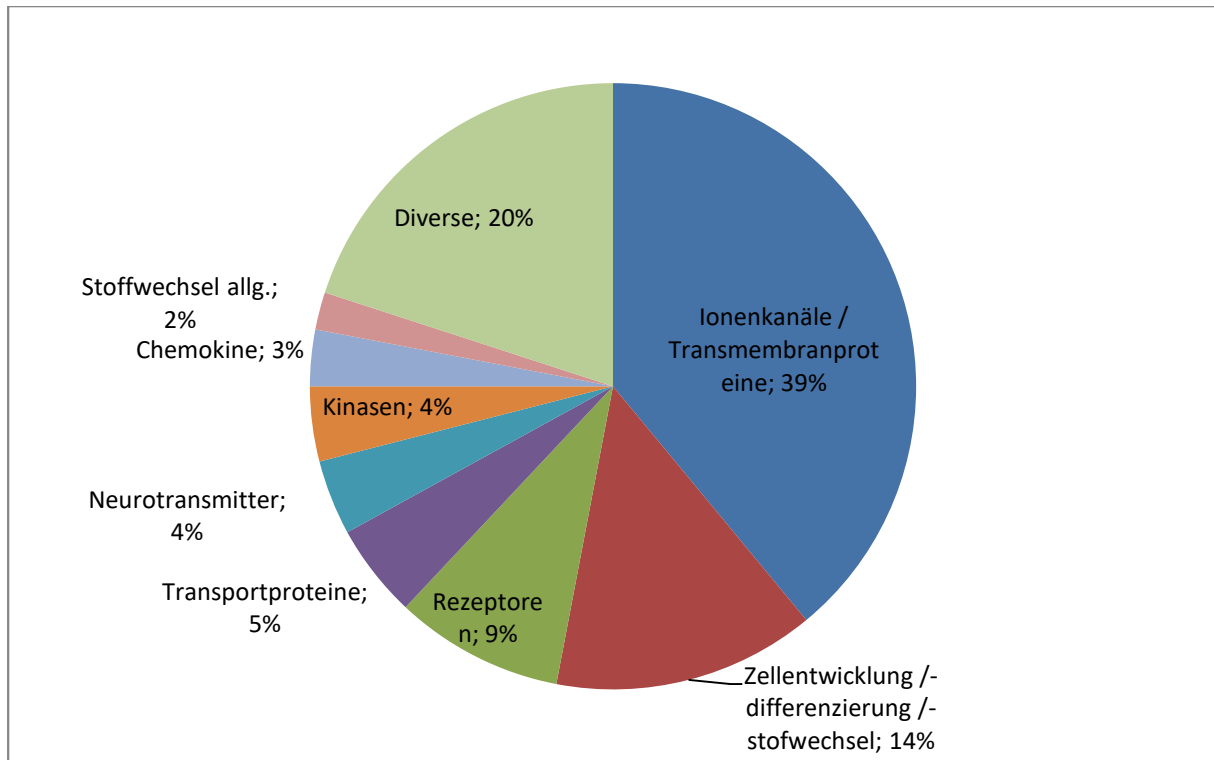
Einen kleinen Auszug aus der so entstandenen Liste mit 726 Einträgen zeigt die folgende Tabelle 6, wobei die Alias-Namen der Gene und die weiteren Details der Literaturangaben aus der Tabelle entfernt wurden, um sie hier als Seite einfügen zu können.



Eingabe bei PubMed	Gen-Name	Genlocus	Untersuchtes Individuum	Codiertes Protein	Klinische Relevanz	Gewebe	Autor, Jahr	PubMed-Nr.:
ATP ion pump epilepsy	COX		Homo sapiens	Cytochrom C oxidase	MERRF (myoclonus epilepsy with ragged red fibers)		(Antonická et al., 1999)	10477264
Calcium channel genes epilepsy	CACNA1H		Homo sapiens	voltage dependent calcium channel, t-type, alpha 1 H subunit	Childhood absence epilepsy		(Lü et al., 2005)	15833171
Channel gene epilepsy	DEPDC5		Homo sapiens	G-protein signaling pathways	Focal epilepsies		(Baulac, 2016)	27323939
Nicotinic acetylcholine receptor gene	CHRNA7	15q14	Homo sapiens	Neuronal nicotinic cholinergic receptor, alpha 7	Centrotemporal spikes and sharp waves		(Fiedler et al., 2006)	16246492
Potassium channel genes epilepsy	ME2	6p25-p24	Homo sapiens	Malic enzyme 2	Associated to JME		(Turnbull et al., 2005)	16278970
Potassium channel genes epilepsy	TALK1		Homo sapiens	2-pore potassium channel gene	IGE		(Sáez-Hernández et al., 2003)	14643000
Sodium channel genes epilepsy	SCN1B	19p13.3	Homo sapiens	sodium channel voltage gated, type 1 beta subunit	Febrile seizures		(Iwasaki et al., 2002)	12383277

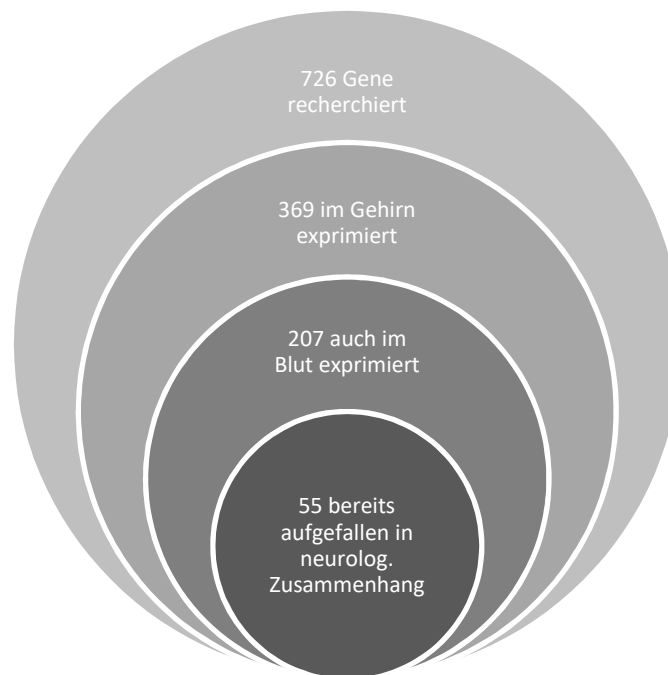
Tabelle 6: Auszug aus der Tabelle, die aus der Recherche hervorgegangen ist

Deutlich über die Hälfte der detektierten Gene kodiert für Proteine, welche für die elektrische Stabilität von Nervenzellwänden oder für die Reizleitung verantwortlich sind. Die übrigen Gene kodieren für Proteine, welche beispielsweise beteiligt sind an der Spaltung von Phospholipiden und somit an der Produktion von Neurotransmittern (Phospholipasen), an der Entwicklung des Gehirns und dem Wachstum von Nerven (Semaphorin) oder Proteinen, die der Zellerkennung dienen (Bromodomain).



**Abbildung 13: Funktionelle Aufteilung der Gene der Recherche**

Von den gefundenen 726 Genen sind 369 im Gehirn exprimiert, was die Beteiligung des Genprodukts an zerebralen Prozessen wahrscheinlich macht. Da in dieser Arbeit die Expression von Genen im Blut von Patienten untersucht werden sollte, galt es zu prüfen, welche dieser Gene auch im Blut nachweisbar sind. Dies ist beim Menschen für 207 dieser 369 im Gehirn exprimierten Gene der Fall.



**Abbildung 14: Aufteilung der in der Recherche katalogisierten Gene**

Die Recherche ergab eine Liste von 207 im Blut exprimierten Genen, welche wahrscheinlich an zerebralen Prozessen beteiligt sind, da sie auch im Gehirn exprimiert sind. 55 Gene aus dieser Liste sind bereits bekannt im Hinblick auf einen Zusammenhang mit einer neurologischen Erkrankung oder Entwicklungsstörung. Die Liste dieser 207 Gene zeigt Tabelle 10 im Anhang.

### 3.2 Ergebnisse der Microarrayversuche

Die Daten aus einem Microarrayversuch werden in eine Matrix aufgetragen. Im Falle des hier zur Anwendung gekommenen Affymetrix HG U133 Plus 2.0-Arrays mit 47.000 Transkripten liegt die Anzahl der Kovarianzen bei  $\frac{47.000 (47.000+1)}{2} = 1.1$  Mrd. Diese Menge an Daten muss zunächst auf rechnerischem Wege darstellbar und auswertbar gemacht werden.

In der hier vorliegenden Studie wurde nun zunächst eine Gruppenuntersuchung durchgeführt, bei welcher die Proben der beiden Kohorten getrennt nach Geschlechtern gepoolt und wie jeweils eine einzige Probe behandelt wurden. Im zweiten Durchgang wurde im Direktvergleich das Material jedes Patienten auf einem Zweifarben-Array mit dem alters- und geschlechts-gematchten Kontrollkind hybridisiert.

### 3.2.1 Ergebnisse des gepoolten Microarrayversuches (Gruppenversuch)

Ein Microarray aus dieser Versuchsreihe ist in Abbildung 10 zu sehen. Nach dem Erfassen der Expressionswerte mit dem Laserscanner erfolgte die Analyse der differentiellen Genexpression mit der vom Hersteller Affymetrix gegebenen Software MAS 5.0. Es ergab sich eine Liste von 19133 Genen, welche in den Proben exprimiert waren.

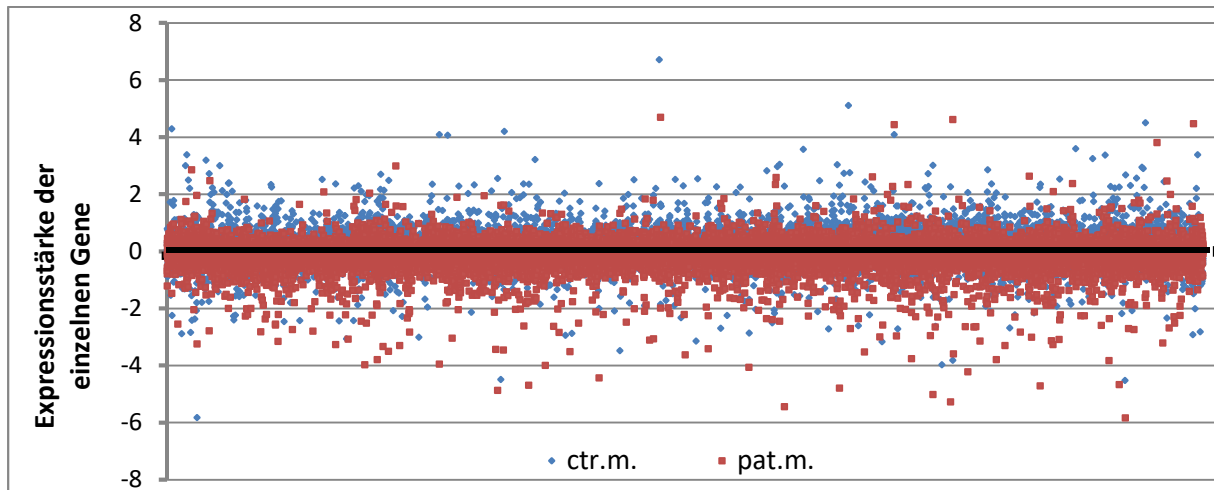


Abbildung 15: Expressionswerte aller 19133 Gene der Gruppenuntersuchung (rot die Werte der männlichen Patienten, blau die der männlichen Kontrollen)

In Abbildung 15 dargestellt sind die absoluten Expressionswerte aller 19133 Gene, welche in der Gruppenuntersuchung im Blut exprimiert waren. Es sind hier die Werte der männlichen Kontrollen und Patienten dargestellt. Diese Messungen liegen der Berechnung der Differenzen und damit den Fold changes der einzelnen Gene zugrunde.

Mithilfe der oben beschriebenen Berechnungsmethode SAM (Significance Analysis of Microarrays) wurde diese Liste statistisch gefiltert. Innerhalb der Datenverarbeitung in dieser Software wird zunächst ein zweiseitiger ungebundener t-Test durchgeführt um die Wahrscheinlichkeit zu ermitteln, dass sich die beiden Probensets unterscheiden. Die Berechnungen folgen nicht-parametrischen Statistiken, da im Vorfeld nicht bekannt ist, ob die Werte normalverteilt sind. Mit wiederholten Permutationen (100 in diesem Versuch, jeweils innerhalb der Gruppen) wird ermittelt, ob die Expressionsveränderung eines Genes statistisch signifikant ist. Diese Methode ist anderen Methoden zur Kontrolle der Alphafehler-Kumulierung überlegen (wie zum Beispiel Bonferroni), da sie nicht unabhängige Werte annimmt. Diese Auswertung muss insbesondere bei so kleinen Untersuchungskollektiven sehr konservativ sein um möglichst keine falsch-positiven Ergebnisse zu erhalten.

So verblieben aus dieser großen Anzahl an Genen, welche bei Patienten und Vergleichskindern zum Zeitpunkt der Blutentnahme exprimiert waren, 31 Gene, die signifikant differentiell exprimiert waren. Zu 21 dieser Gene ließen sich weitere Daten ermitteln. Es zeigten sich sechs Gene hochreguliert, 15 Gene waren herunterreguliert. Die sechs hochregulierten Gene waren im Einzelnen: ASB9; CLK4; CXCL1; GLCE; HEXIM1; IFRD1. Die herunterregulierten Gene waren: ALDH6A1; APRIN; CCDC77; EIF3S8; GNGT2; GPR177; HOXB9; NTRK3; PCLO; PPP2CA; PTPN21; RAB1A; RPS6KA3; SCGB2A2; TIE1. Im Anhang sind in Tabelle 11 diese Gene mit fold change und weiteren Informationen aufgeführt.

### 3.2.1.1 Analyse der identifizierten Gene

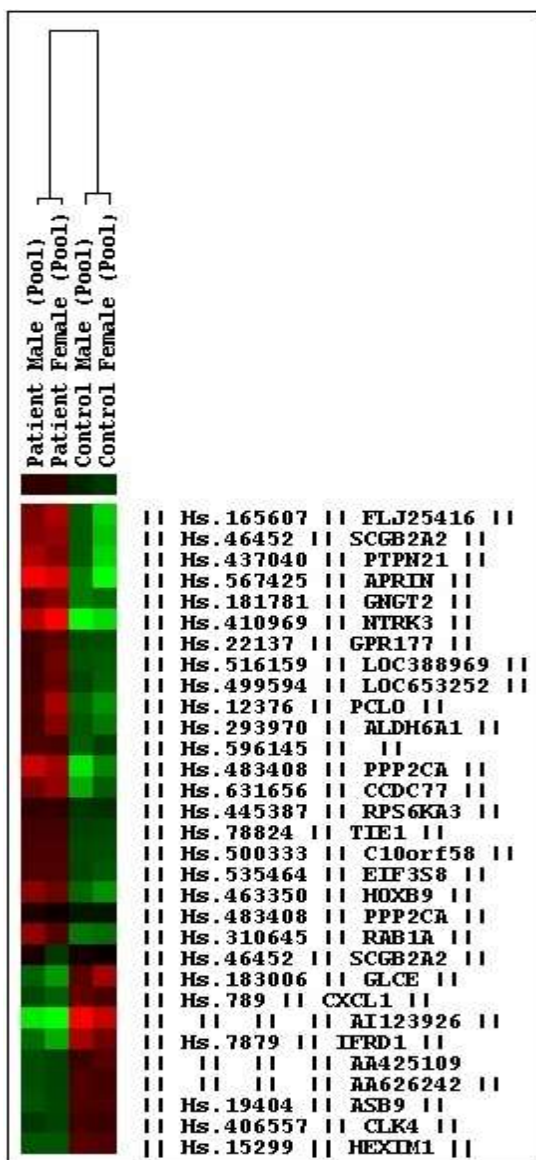


Abbildung 16: Heat Map der differentiell exprimierten Gene der Gruppenuntersuchung

Durch die Clusteranalyse werden die Gene nach Verwandtschaftsverhältnis sortiert. Je ähnlicher sich die Gene über den Versuch verhalten haben, desto näher liegen sie zusammen. Die so sortierten Gene werden übereinander gestellt, in den Vertikalreihen stehen die verschiedenen Bedingungen oder untersuchten Individuen nebeneinander (in diesem Fall die Patienten- und Kontrollpools). Das so entstandene Bild ist die Heat Map.

In der Heat Map dieses Versuches, dargestellt in Abbildung 16, sind in den beiden linken Spalten die Expressionswerte der Patienten dargestellt, ganz links die der männlichen (Patient Male), daneben die der weiblichen Patienten (Patient Female). In den beiden Spalten auf der rechten Seite stehen ihnen die visualisierten Werte der Kontrollgruppen gegenüber. Der Text rechts des Balkens benennt das jeweils in der Zeile dargestellte Gen. Es fällt die Homogenität innerhalb der jeweiligen Gruppen ins Auge, offensichtlich abhängig vom Vorliegen der Absence-Epilepsie und unabhängig vom Geschlecht der Kinder.

Auch anhand des Dendogrammes im oberen Bereich lässt sich dies ablesen. Zunehmende Länge eines Astes bedeutet abnehmende Ähnlichkeit. Es sind sich also die Expressionswerte der Patientenkinder untereinander und genauso die der Kontrollkinder untereinander sehr viel ähnlicher als die der Patienten-Mädchen zu denen der Kontroll-Mädchen, bzw. die der Jungen zueinander.

Es ergaben sich in der Microarrayuntersuchung der Gruppen 31 differentiell exprimierte Gene. Zu 21 dieser Gene ließen sich weitere Informationen finden. 8 Gene aus dieser Liste sind an Prozessen beteiligt, welche sie im Hinblick auf neurologische Erkrankungen interessant machen (z.B. Neurogenese oder das Aussetzen von Neurotransmittern). Diese Gene sind aufgeführt in Tabelle 7. Mit aufgenommen sind bekannte pathologische Relevanzen, unabhängig von einem neurologischem Zusammenhang.

Gen	biologischer Prozess	bekannte Relevanz	Quelle
<b>hochreguliert</b>			
<b>CXCL1</b>	Signaltransduktion, Entwicklung des Nervensystems	überexprimiert im Gehirn nach medikamenteninduziertem Status epilepticus bei Ratten	(Johnson et al., 2011)
<b>IFRD1</b>	Zellwachstum und -differenzierung	Cystische Fibrose (Mukoviszidose); sensorische/motorische Neuropathie mit Ataxie	(Blanchard et al., 2011)
<b>herunterreguliert</b>			
<b>GNGT2</b>	Modulation von Transmembran-Signalwegen		
<b>HOXB9</b>	Signalübertragung, Regulation von Transkription	Hepatozelluläres Karzinom	(Li et al., 2014)
<b>NTRK3</b>	Zelldifferenzierung, Entwicklung propriozeptiver Neurone	gesteigerte Expression in Hippocampusneuronen von Patienten mit TLE	(Ozbas-Gerçeker et al., 2004)
<b>PCLO</b>	Cytoskelett, Transport synaptischer Vesikel	Entwicklungsverzögerung, depressive und bipolare Störung	(Mazzaschi et al., 2013)
<b>PTPN21</b>	Zellwachstum und -differenzierung	Schizophrenie	(Chen et al., 2011)
<b>RPS6KA3</b>	Zellwachstum und -differenzierung	Coffin-Lowry-Syndrom, fokale Epilepsie	(Matsumoto et al., 2013)

**Tabelle 7: Acht differentiell exprimierte Gene aus der Gruppenuntersuchung mit möglicher neurologischer Relevanz mit Angabe von Funktion und bekannter Pathologie**

### 3.2.2 Ergebnisse der Microarrayversuche der einzelnen Individuen

In den Einzeluntersuchungen wurden die Proben jedes Patienten einzeln gegen die jeweils alters- und geschlechts-gematchte gesunde Kontrolle hybridisiert. Es ergab sich aus dieser

Untersuchung eine Liste von 3182 regulierten Genen mit einem Fold Change größer 1,38 bzw. kleiner -1,38.

Die Sichtung dieser Gene wurde zunächst auf Gene beschränkt, deren p-Wert unter 0,05 lag, was hier als minimales Signifikanzniveau festgelegt wurde. Dann wurde nach Fold Change des Expressionsunterschiedes des Medianwertes der erkrankten Kinder gegen den Medianwert der gesunden Kinder sortiert. Der hier gemessene minimale Fold Change von 1,39 bzw. -1,49 entspricht einer Regulation um Faktor 2,6 bzw. 2,7. Dies ist eine Größenordnung der Expressionsregulation, von der erwartet werden kann, sie in einem Experiment dieser Größenordnung realistisch zu messen.

601 Gene waren signifikant differentiell exprimiert. Aus dieser Gruppe wurden die stärksten regulierten Gene (gewichtet nach Fold Change und p-Wert) ausgewählt wonach sich eine Liste mit 50 Genen ergab, in der zwei Gene doppelt auftraten. Es verblieben also 48 Gene, welche in Tabelle 12 aufgeführt und in Abbildung 18 dargestellt sind. Der Fold Change der heraufregulierten Gene lag zwischen 1,39 und 2,47, die entsprechenden Gene sind also bei den Patientenkindern um den Faktor 2,6 bis 5,5 stärker exprimiert als bei den Vergleichskindern.

Bei den herunterregulierten Genen ist die Differenz noch stärker ausgeprägt: das am stärksten herunterregulierte Gen **ANKH** (*Inorganic pyrophosphate transport regulator*) hat einen Fold Change von -4,68, ist also um den Faktor 25 in seiner Expression reduziert. Das am wenigsten starke, noch signifikant herunterregulierte Gen **VDP** (*USO1 homolog, vesicle docking protein*) aus dieser Liste hat einen Fold Change von immer noch -1,49, was einer Herunterregulation um Faktor 2,5 entspricht. Der p-Wert liegt für alle hier aufgeführten Gene zwischen 0,0005 und 0,0058.

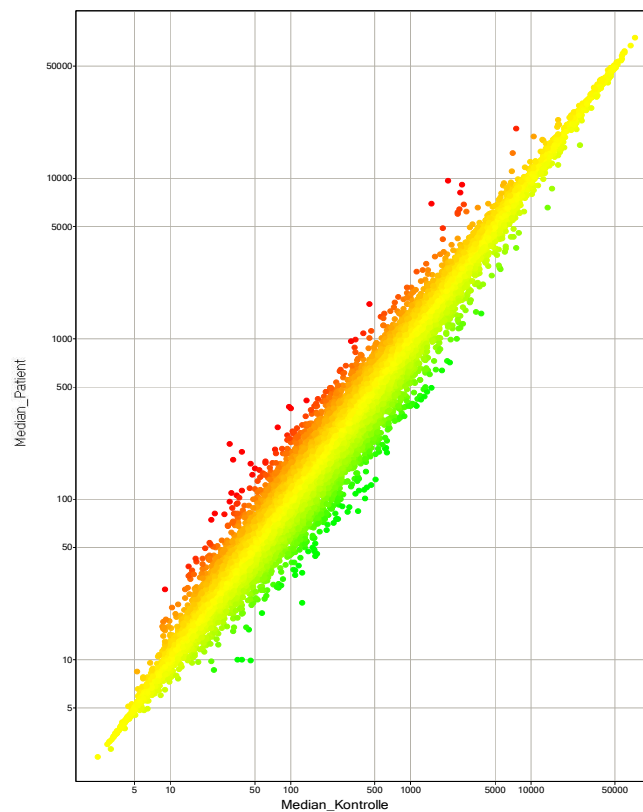
Die hochregulierten Gene waren Folgende: *WDR1; TSPAN14; TRIM8; DCLRE1B; MFSD5; SART3; COL4A3BP; NDUFS1; TMOD3; OXR1; TMCO3; KCTD6; GBP4; HSP90B1; AP3D1; RAD21; USP33; ZC3H11A; TES; KIAA0494; PRPF6; COX15; SMC5; TMEM106B; CLN8*. Die herunterregulierten Gene waren: *ANK3; NCOA1; LONPL; KIAA0999; ANKRD28; TRPM7; USP34; SCDF1; CDC73; CREBBP; ATP1B3; DOCK9; ZBTB20; SSBP2; CDC42SE2; LOC474170; PPP3CA; BBX; VDP; TNRC15; FTO; TYMS; ANKH*.

Diese Gene wurden in Tabelle 12 im Anhang aufgenommen und um die Daten zu ihrer Funktion aus den oben bereits erwähnten Datenbanken der SMD und Panther ergänzt.

### 3.2.2.1 Analyse der identifizierten Gene des Einzelversuchs

Es gibt unterschiedliche Darstellungsmöglichkeiten zur Visualisierung der erhobenen Expressionswerte aus einem Microarrayexperiment. Diese dienen der Anschaulichkeit des

Experiments, da die eigentliche Rechenarbeit von der Software übernommen wird. Im **Scatterplot** (siehe Abbildung 17) sind die Fold Change Werte der Expressionsdaten der Patienten gegen die der Kontrollkinder aufgetragen. Bei gleich starker Expression, also gleichem Zahlenwert in beiden Proben für ein Gen, wird der entsprechende Punkt auf der Winkelhalbierenden des Koordinatenkreuzes aufgetragen. Ein vergleichendes Microarrayexperiment ohne jede Expressionsveränderung zwischen den Versuchsgruppen hätte also einen Scatterplot, der im Idealfall eine Gerade mit der Steigung 1 durch den Nullpunkt des Koordinatenkreuzes bilden würde. In dem hier abgebildeten Scatterplot ist die Abweichung von der Mittellinie mit farblichen Verläufen visualisiert - bei den Patienten stärker exprimierte Werte sind mit zunehmendem Unterschied nach links oben hin über orange bis rot dargestellt, Gene welche bei den Patienten vermindert exprimiert sind, gehen in den grünen Bereich nach rechts unten hin.



**Abbildung 17: Scatterplot der exprimierten Gene der Einzeluntersuchung**

Eine weitere Darstellung der Unterschiede wird im Clustering deutlich. Das Clustering der 50 stärksten differentiell exprimierten Gene in diesem Versuch zeigt die Heat Map in Abbildung 18.

Im oberen Bereich stehen 25 Gene, welche bei den Patienten hochreguliert sind, dargestellt durch die rot gefärbten Felder auf der rechten Seite, im unteren Bereich umgekehrt, 25 bei



den Patienten herunterregulierte Gene, dargestellt durch die grün gefärbten Felder auf der rechten Seite.

8 Gene aus dieser Liste wiesen für das behandelte Themengebiet eine biologische Relevanz auf. Sie kodieren für Ionenkanäle (*TMCO3*, *KCTD6*, *TRPM7*, *ATP1B3*) oder für Proteine, welche bei der Neurogenese (*CREBBP*) oder anderen neuronalen Aktivitäten (*AP3D1*, *CLN8*, *ANK3*) eine Rolle spielen. Das Gen *CLN8* ist im Zusammenhang mit der neuronalen Zeroidlipofuszinose (neuronal ceroid lipofuscinosis) beschrieben.

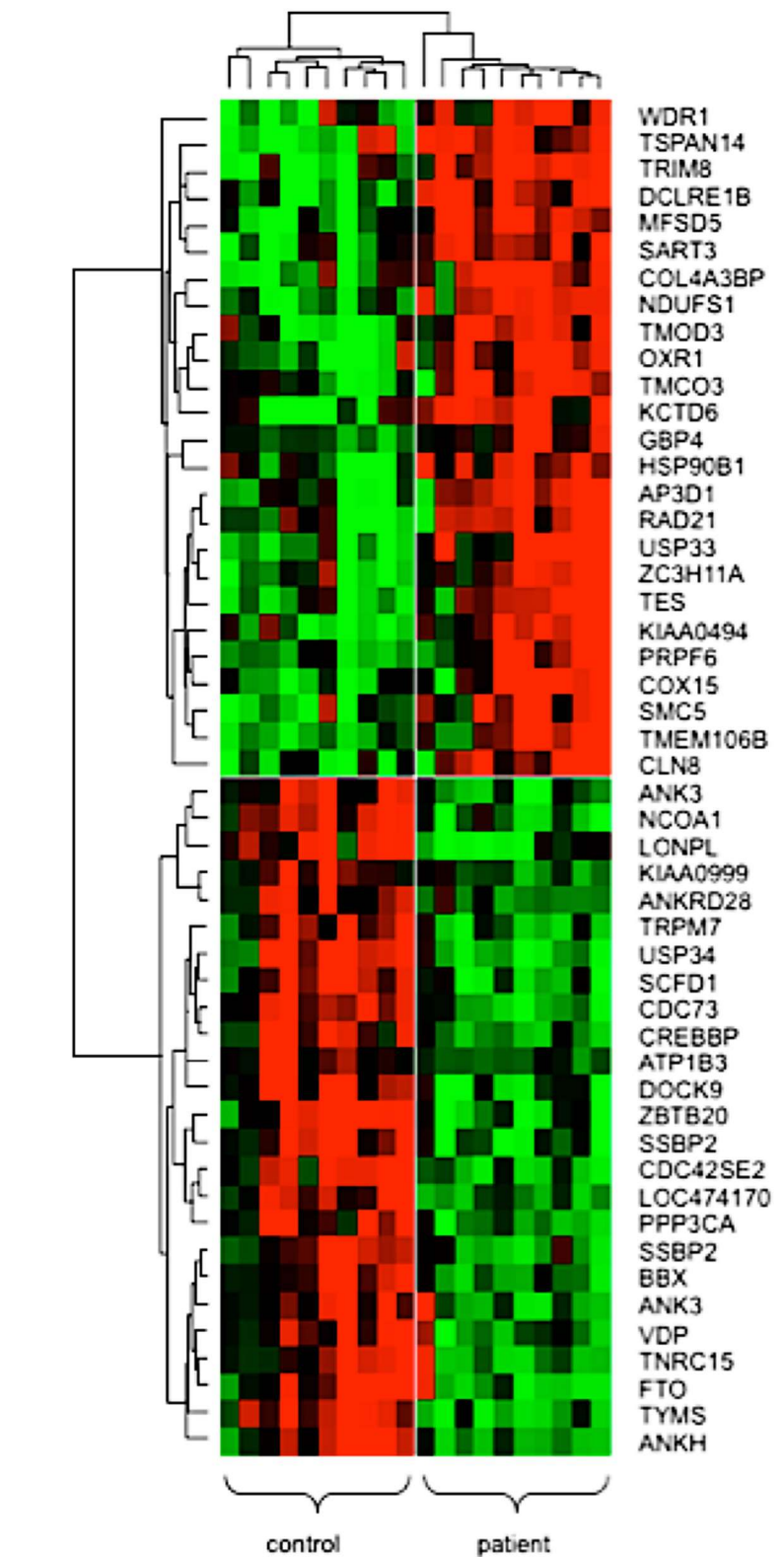


Abbildung 18: Heat Map der 50 stärksten Gene der Einzeluntersuchung

### 3.3 Überschneidungen von Recherche und Microarrayversuchen

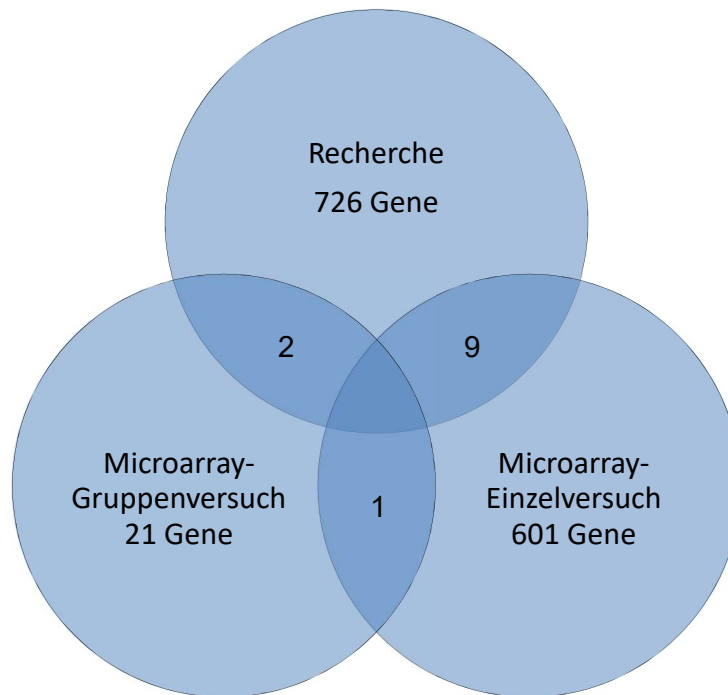


Abbildung 19: In den drei Studienteilen identifizierte Gene und Anzahl der Gene, welche in mehreren Untersuchungen wiederkehren (Überlappungsbereiche)

Aus der Recherche und den beiden Microarrayversuchsreihen haben sich unterschiedliche Listen mit Genen ergeben, welche potentiell mit der Absence-Epilepsie in Verbindung stehen könnten. Diese Listen wurden analysiert in Bezug auf Überschneidungen, also Gene, welche in mehreren der Ergebnislisten vorkommen. Es wurden aus dem Ergebnis der Einzeluntersuchungen nicht nur die 50 stärksten, sondern alle 601 Gene, welche signifikant differentiell exprimiert waren, in den Abgleich einbezogen.

Im **Vergleich der Rechercheliste mit der Liste der Gruppenuntersuchung** ergaben sich zwei Überschneidungen:

- **CXCL1** (Chemokine (C-X-C motif) ligand 1)
- **RPS6KA3** (Ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3)

Im **Vergleich der Rechercheliste mit der Liste aus den Einzeluntersuchungen** lagen 9 Überschneidungen vor:

- **ABCA5** (Ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3)
- **BRD4** (Bromodomain containing 4)

- **CSNK1G2** (member of the large casein kinase I (CKI) family)
- **CXCL5** (Chemokine (C-X-C motif) ligand 5)
- **NARG1** (NMDA receptor regulated 1)
- **PLCL1** (Phospholipase C-like)
- **SEMA4A** (Sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4A)
- **TMEM1** (homology to sodium channel proteins)
- **TRPM7** (transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7)

Im **Vergleich der Liste aus den Gruppenuntersuchungen mit der Einzeluntersuchung** ergab sich eine Übereinstimmung:

- **APRIN** (Androgen-induced proliferation inhibitor)

Diese zwölf Gene der Überlappungsbereiche sind mit den jeweiligen Informationen zu Funktion (soweit bekannt), medizinischer Relevanz und Signalweg (pathway) in Tabelle 8 aufgeführt.

Gen	Funktion	Medizinische Relevanz	Signalwege (pathways)	aufgefallen in:
<b>ABCA5</b>	Transmembrantransport		ABC transporters	R/EU
<b>BRD4</b>	beteiligt bei Mitose	Mittellinien Karzinome bei jungen Menschen		R/EU
<b>CSNK1G2</b>	Gehirnentwicklung; Neurotransmitter-freisetzung	Möglicher Zusammenhang mit Fieberkrämpfen	hedgehog signaling pathway	R/EU
<b>CXCL5</b>	Zell-Zell-Signalübertragung	Möglicher Zusammenhang mit Proliferation, Migration und Invasion von Krebszellen	chemokine signaling pathway, cytokine-cytokine receptor interaction	R/EU
<b>NARG1</b>	Funktion unbekannt			R/EU
<b>PLCL1</b>	intrazelluläre Signalübertragung	Möglicher Zusammenhang mit Lungen-CA	GABAergic synapse	R/EU
<b>SEMA4A</b>	Rezeptor bei Zell-Zell-Signalübertragung	Retinitis pigmentosa Typ 35, Zapfen-Stäbchen-Dystrophie Typ 10	axon guidance	R/EU
<b>TMEM1</b>	Natriumionentransport	Fragl. Zusammenhang mit Unverricht-Lundborg type of progressive myoclonus epilepsy		R/EU
<b>TRPM7</b>	Calciumkanal	neurodegenerative Erkrankungen	mineral absorption	R/EU
<b>CXCL1</b>	Chemokin, Chemotaxis für Neutrophile bei Entzündung	Zusammenhang mit Wachstum und Progression einzelner Tumoren	chemokine signaling pathway, NOD-like receptor signaling pathway, cytokine-cytokine receptor interaction	R/GU
<b>RPS6KA3</b>	Kontrolle von Zellwachstum und -differenzierung	Zusammenhang mit Coffin-Lowry syndrome (CLS), mental retardation x-linked type 19 (mrx19)	several signaling pathways	R/GU
<b>APRIN</b>	Zell-Teilung	mögliches Tumor-Suppressor-Gen		EU/GU

Tabelle 8: Zwölf Gene, die in jeweils zwei Ergebnislisten der Studie aufgefallen sind (R = Recherche, GU = gepoolte Gruppenuntersuchung, EU = Einzeluntersuchung)

## 4 Diskussion

Das Bestreben, die genetischen Ursachen von Epilepsien zu ergründen, insbesondere von (idiopathischen) generalisierten Epilepsien, die familiär gehäuft auftreten, liegt nahe. Die ersten Gene, welche im Zusammenhang mit unterschiedlichen Epilepsieformen identifiziert werden konnten kodierten allesamt für Ionenkanäle (Turnbull et al., 2005). Diese Gene waren somit unmittelbar daran beteiligt die elektrische Stabilität der Nervenzellmembranen zu gewährleisten oder zu kontrollieren. So wurde zunächst die These gestützt, Epilepsien als Ionenkanalerkrankungen einzuordnen (Lerche et al., 2000). Im weiteren Verlauf wurden weitere Ionenkanalgene identifiziert und andere Gene mit zunächst unbekannter Funktion, welche mit Epilepsien in Zusammenhang gebracht werden konnten, stellten sich als assoziiert mit Ionenkanälen dar.

Dies gilt beispielsweise für **LGI1** (*leucine-rich, glioma-inactivated 1*), ein Gen, welches bereits Anfang dieses Jahrhunderts als ursächlich für familiäre laterale Temporallappenepilepsie identifiziert werden konnte (Gu et al., 2002). War die Funktion dieses Gens zunächst unbekannt so konnte mittlerweile ermittelt werden, dass das entsprechende Protein spannungsgesteuerte Kaliumkanäle in ihrer Funktion reguliert (Schulte et al., 2006).

Diese Arbeit sollte zunächst einen Überblick liefern über Gene, deren Produkte die elektrische Stabilität von Nervenzellmembranen beeinflussen. Hierzu wurde eine weitreichende Literaturrecherche durchgeführt, welche 726 Gene identifizierte. Da es, wenn die Expression von Genen in Zellen des peripheren Blutes überprüft werden soll, auch relevant ist, ob die zu untersuchenden Gene dort exprimiert sind, wurden die Einträge der erstellten Liste mit der Gendatenbank der Stanford Microarray Database auf ihre Expression hin abgeglichen. Von den 726 Genen wurden die 207 Gene ausgewählt, welche in Gehirn und Blut exprimiert sind. Diese sind in Tabelle 10 im Anhang aufgeführt.

Ausgehend von der These der Epilepsie als Ionenkanalerkrankung aber in dem Bewusstsein, dass die meisten Epilepsieerkrankungen vermutlich eine polygene Genese haben, wurde im zweiten Teil der Arbeit ein ergebnisoffenes, genomweites Microarrayscreening durchgeführt, in welchem die Genexpression im peripheren Blut von Absence-Patienten mit der Expression neurologisch gesunder Kinder verglichen wurde. Diese Ergebnisse wurden abgeglichen mit der im ersten Teil erarbeiteten Liste der zum Zeitpunkt der Recherche bekannten Gene mit neurologischer Relevanz und hinsichtlich fraglicher biologischer Relevanz für die Fragestellung bei neurologischer Erkrankung. Dieser Ansatz ist neu, Vergleichsdaten aus der Literatur liegen nicht vor. Es bestand die Hoffnung, durch diese

Expressionsanalysen im peripheren Blut auf neue Gene zu stoßen, die für die Epilepsiegenetik von Relevanz sein könnten.

Im Folgenden werden die einzelnen Teile der Arbeit chronologisch besprochen.

## **4.1 Recherche**

Für eine systematische Suche wurden die Suchkriterien analog zur Epilepsie-Historie aufgebaut. Viele Gene in der Liste kodieren für Proteine, welche auf die eine oder andere Art zur Stabilität der Nervenzellmembranen beitragen. Diese sind zum Beispiel Gene für spannungsgesteuerte Ionenkanäle, für ligandengesteuerte Ionenkanäle, Gene für Rezeptoren an ebensolchen Kanälen oder andere, assoziierte Proteine.

Die Suche blieb jedoch nicht darauf beschränkt sondern es wurde durch Eingabe variabler Suchparameter ein möglichst weiter Bereich abgedeckt um im Hinblick auf den zweiten Teil dieser Studie möglichst viele Gene in die Liste zu inkludieren. Selbstverständlich kann hier kein Anspruch auf Vollständigkeit erhoben werden, nicht zuletzt, weil die Anzahl der in ihrer Funktion bekannten Gene laufend zunimmt. Im Anhang ist in Tabelle 10 der Teil der Gene aufgeführt, welche in Blut und Gehirn exprimiert sind. Gene, welche bereits mit einer neurologischen Erkrankung in Zusammenhang gebracht werden konnten, wurden markiert.

## **4.2 Experimentelle Arbeit**

### **4.2.1 Auswahl der Patienten und Kontrollpersonen**

Das Studienkollektiv für die Genexpressionsanalysen umfasste 10 Patienten mit einer neu diagnostizierten Absence-Epilepsie zu einem Zeitpunkt mit hoher Anfallsaktivität. Diese Zahl erscheint zunächst klein, und ist sicher zu klein für eine repräsentative Studie doch ist diese Gruppe in ihrer Zusammensetzung (Alter und Geschlecht) gleich aufgebaut wie die für die kindliche Absence-Epilepsie charakteristische Verteilung in der Bevölkerung (Loisaeu & Panayiotopoulos, 2000). Berücksichtigt man die Zahl der Neuerkrankungen, die in der Klinik für Neuropädiatrie am Universitätsklinikum Kiel pro Jahr diagnostiziert werden (2-3 Patienten pro Jahr), so handelt es sich um eine realistische Größenordnung für einen neuen experimentellen Ansatz. Dies kann und soll nur ein erster Ansatz sein, Kandidatengene für Absence-Epilepsie ausfindig zu machen, welche gegebenenfalls in weiteren Studien verifiziert werden könnten. Zudem mussten die nicht unerheblichen Kosten, welche ein Microarrayprojekt mit sich bringt, in Betracht gezogen werden.

Die Auswahl der gematchten Kontrollen erfolgte sehr sorgfältig, da aus Studien bekannt ist, dass Alter, Geschlecht und diverse Erkrankungen Auswirkungen auf die Genexpression haben (Conforto & Waxman, 2012), (Lorenz et al., 2015).

Unter sorgfältiger Auswahl der Patienten und Kontrollprobanden, bei hoher Homogenität innerhalb jeder einzelnen Gruppe und starker Ähnlichkeit zwischen Patienten- und Vergleichsgruppe bis auf die bei den Patienten diagnostizierte Absence-Epilepsie, kann davon ausgegangen werden, auch in einem kleinen Kollektiv eine Veränderung der Genexpression tatsächlich zu identifizieren. Es ist jedoch gut möglich, dass eine signifikante und relevante aber nicht besonders stark ausgeprägte Expressionsveränderung eines Gens in dieser Arbeit nicht nachgewiesen werden konnte, da die statistische Auswertung der Ergebnisse bei kleinen Kollektiven sehr konservativ sein muss, um möglichst wenige falsch positiven Funde zu erzeugen.

## **4.2.2 Diskussion der Ergebnisse**

### **4.2.2.1 Anmerkungen zur Statistik bei kleinem Studienkollektiv**

Es wurde zunächst ein Gruppenversuch mit gepooltem Material durchgeführt, in welchem nach Geschlechtern getrennt die Gruppe der weiblichen Patienten gegen die der weiblichen Kontrollen und die Gruppe der männlichen Patienten gegen die der männlichen Kontrollen verglichen wurde. In der gepoolten Analyse sind hohe interindividuelle Schwankungen und einzelne Ausreißer überwiegend ausgeglichen. Dennoch können bei einer kleinen Kohorte einzelne stark veränderte Werte Einfluss auf das Gesamtergebnis haben. Um dies auszugleichen sind spezielle Algorithmen in der auswertenden Software implementiert.

In der zweiten Untersuchung wurden alters- und geschlechts-gematcht Patienten und Kontrollen einzeln gegeneinander hybridisiert.

Bei den Microarrayversuchen Eins gegen Eins besteht bedingt durch das Versuchsdesign keine Möglichkeit, Ausreißer zu erkennen und es gibt keine Möglichkeit, die Varianz zu schätzen. Daher erfolgt in der Normalisierungs-Software MAS 5.0 von Affymetrix automatisch anhand bekannter Expressionsdaten eine Schätzung über die Wahrscheinlichkeit differentieller Expression. So wird auch in der Untersuchung mit der minimal kleinen Kohorte von einem Probanden je Array eine valide Datenanalyse möglich.

### **4.2.3 Die Ergebnisse des Microarrayexperiments**

In bisherigen Studien wurde auf vielfältigste Weise nach Pathomechanismen und genetischen Grundlagen der CAE gesucht. Die Untersuchung der Genaktivität auf einem Transkriptom-Microarray war ein neuer Ansatz. Aufgrund der kleinen Fallzahl der Erkrankung



musste der Versuch mit dem verhältnismäßig kleinen Kollektiv von 10 Patienten durchgeführt werden. So musste die rechnerische Auswertung des Experiments sehr konservativ bleiben um falsch positive Funde möglichst zu vermeiden.

Für den hier vorgenommenen Vergleich zwischen zwei Gruppen - Kindern mit einer neu diagnostizierten Absence-Epilepsie und Kindern ohne paroxysmale Erkrankung - bot sich der Zwei-Farben-Array von Affymetrix an. Dieser liefert die gewünschte Aussage, nämlich den Vergleich zwischen der Expression der Gene beider Gruppen, und ist dabei günstiger und weniger aufwendig als das Experiment mit einer Ein-Farben-Technik.

Auch schien es sinnvoll, den standardisierten Chip zu verwenden, welcher das gesamte Genom abbildet. Ausgehend von der Annahme, dass viele Epilepsieerkrankungen und so vermutlich auch die CAE einer polygenen Genese folgen, bedarf es zunächst einem Überblick über differentiell exprimierte Gene, welche in weiteren, detaillierteren Untersuchungen gezielt überprüft werden können.

In der **Gruppenuntersuchung** ergaben sich 31 Gene, welche differentiell exprimiert waren. Diese Gene wurden auf Plausibilität im Zusammenhang mit Epilepsien geprüft. Zu 21 dieser Gene ließen sich weitere Informationen in den Datenbanken der Stanford Microarray Database bzw. dem Klassifizierungssystem Panther ermitteln. Von diesen waren 6 Gene in der Patientengruppe stärker exprimiert als in der Vergleichsgruppe, 15 Gene waren in ihrer Expression herunterreguliert. Von 18 dieser 21 Gene ist bekannt, dass sie auch im Gehirn exprimiert sind, 8 davon kodieren für Proteine, welche eine wichtige Rolle spielen bei der Entstehung des Nervensystems oder seiner Funktion. Ein vergleichbares Experiment lässt sich in der Literatur nicht finden. Die Gene, die durch dieses Experiment detektiert wurden, werden im Folgenden diskutiert.

7 dieser 8 Gene sind in anderen Studien bereits im Hinblick auf neurologische oder andere Erkrankungen aufgefallen.

Das Gen **CXCL1** (*chemokine (C-X-C-motif) ligand 1*) ist im Tierversuch an Ratten im Zusammenhang mit medikamenteninduziertem Status epilepticus beschrieben worden (Johnson et al., 2011). Bei unseren Absence-Patienten zeigte sich das Gen im Verhältnis zu den Kontrollen hochreguliert. In der Literatur finden sich bisher keine Hinweise auf einen Zusammenhang zu menschlichen Epilepsieerkrankungen.

**NTRK3** (*neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3*) ist ein Gen, welches im Patientenkollektiv im Verhältnis zu den Kontrollen herunterreguliert ist. Dieses Gen ist im Zusammenhang mit Temporallappenepilepsien beschrieben (Ozbas-Gerçeker et al., 2004). Bei Patienten mit dieser fokalen Epilepsie zeigt das Gen eine gesteigerte Expression in Hippocampusneuronen. In den Monozyten des peripheren Blutes unserer Patienten zeigte sich eine Herunterregulierung. Über den membranständigen Rezeptor, für den dieses Gen kodiert, wird

Zelldifferenzierung reguliert bzw. initiiert. Auch wird angenommen, dass dieser Rezeptor bei der Entwicklung propriozeptiver Neuronen eine Rolle spielt.

In dem Microarrayexpressionsversuch zeigten sich weitere herunterregulierte Gene, welche im Zusammenhang mit anderen neurologischen Erkrankungen in der Literatur beschrieben wurden.

Das Gen **PCLO** (*piccolo presynaptic cytomatrix protein*) wurde im Zusammenhang mit Entwicklungsverzögerungen und depressiven bzw. bipolaren Störungen beschrieben (Mazzaschi et al., 2013). Dieses Gen kodiert für ein Cytoskelett-Protein und ist an der Reizübertragung im synaptischen Spalt beteiligt (Stanford Microarray Database, 2000).

Das Gen **PTPN21** (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 21*) wurde im Zusammenhang mit Schizophrenie genannt (Chen et al., 2011), und **RPS6KA3** (*ribosomal protein S6 kinase, 90 kDa, polypeptide 3*) im Zusammenhang mit fokaler Epilepsie (Matsumoto et al., 2013).

Die Bedeutung dieser Gene für primär generalisierte genetische Epilepsien ist unklar, da entsprechende Nachweise und Literaturhinweise bislang fehlen. Untersuchungen in einer unabhängigen 2. Kohorte von Absencepatienten erscheinen sinnvoll, um diese Hinweise aus den Expressionsdaten zu überprüfen. Bezüglich des Pathomechanismus sind fünf Gene (*IFRD1* (*interferon-related developmental regulator 1*), *HOXB9* (*homeobox B9*), *NTRK3* (*neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3*), *PTPN21* (*protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 21*) und *RPS6KA3* (*ribosomal protein S6 kinase, 90 kDa, polypeptide 3*)) an der Kontrolle von Zelldifferenzierung bzw. -wachstum beteiligt; *GNGT2* (*guanine nucleotide binding protein, gamma transducing activity polypeptide 2*) ist sowohl in Blut und Gehirn exprimiert, jedoch überwiegend in den Zapfen der Netzhaut und dient hier der Signalübertragung. Ein Zusammenhang zu neurologischen Erkrankungen ist bisher nicht beschrieben.

In der **Einzeluntersuchung** fanden sich 601 signifikant differentiell exprimierte Gene mit einem p-Wert kleiner 0,05. Diese Gene wiesen einen Fold Change auf von kleiner -1,38 bzw. größer 1,38, dies bedeutet, dass diese Gene mindestens um den Faktor 2,6 herunter- bzw. hochreguliert waren.

Um diese recht große Anzahl an Genen auf Kandidatengene für Epilepsien zu untersuchen, wurde eine Liste aller im Zusammenhang mit Anfallsleiden bekannten Gene erstellt. Da sie nicht der Einschränkung unterliegt, dass die Gene in Blut und Gehirn exprimiert sein sollen kann sie deutlich umfassender sein als die Liste neurologisch relevanter Gene aus der primären Recherche. Diese Liste wurde vor der Finalisierung dieser Studie überarbeitet, um bei Abgabe auf dem aktuellen Stand zu sein. Sie beinhaltet nunmehr 192 Gene und ist im Anhang (Tabelle 9) zu finden.

Da auch Tierversuch-Studien gute Modelle sein können für menschliche Erkrankungen (Brill et al., 2004), wurden auch Gene, welche bislang nur im Tierversuch in Erscheinung getreten sind in diese Tabelle aufgenommen, um eine umfangreiche Datensammlung zu generieren. Sie sind in der Tabelle mit „TV“ (Tierversuch) kenntlich gemacht.

Im Abgleich dieser Liste mit den Genen, welche in der Einzeluntersuchung signifikant differentiell exprimiert waren, ergab sich eine Überschneidung bei drei Genen, welche im Folgenden einzeln benannt und beschrieben werden.

**CLN8** (*ceroid lipofuscinosis, neuronal 8*) ist ein Gen, welches für ein Transmembranprotein kodiert. Die genaue Funktion ist noch nicht geklärt, es wird vermutet, dass dieses Gen eine Rolle spielt in der Zellproliferation, während der neuronalen Zelldifferenzierung und bei dem Schutz vor dem Zelltod. Bei Fehlfunktion dieses Gens kommt es zu neuronaler Ceroidlipofuszinose Typ 8, einer progressiven neurodegenerativen Erkrankung, welche einhergeht mit epileptischen Anfällen und zunehmender Verzögerung der geistigen Entwicklung (Passantino et al., 2013). In der Microarrayuntersuchung zeigte sich dieses Gen bei den Patienten um den Faktor 2,8 hochreguliert. Bei der Absence-Epilepsie handelt es sich um eine in der Regel prognostisch günstige Epilepsie, ein progredienter Verlauf fehlt. Welche Rolle **CLN8** im Zusammenhang mit Absence-Epilepsien spielen könnte muss offen bleiben. Derzeit geht man bei der CAE von einer polygenetischen Krankheitsentstehung aus, so dass es denkbar wäre, dass dieses Gen durch Expressionsveränderung eine Rolle spielen könnte.

Eine genomweite Linkage-Analyse und genetische Feinkartierung bei Patienten mit Rolando-Epilepsie wies auf **ELP4** (*elongator acetyltransferase complex subunit 4*) als potentiell Kandidatengen hin (Pal & Greenberg, 2012). Die Rolando-Epilepsie ist eine gutartige, fokale Epilepsie, welche meist im Kindesalter beginnt und in der Pubertät sistiert. Das von **ELP4** kodierte Protein fungiert als Untereinheit einer RNA-Polymerase. **ELP4** war bei den Patienten in der Microarrayuntersuchung um den Faktor 2,8 herunterreguliert. Ein Zusammenhang zu Absence-Epilepsien ist bisher nicht bekannt, es handelt sich somit um ein weiteres mögliches Gen, welches durch Expressionsveränderung einen Beitrag zu der Entstehung einer Epilepsie leisten könnte. Interessant ist in diesem Zusammenhang, dass es sich sowohl bei der Rolando-Epilepsie als auch der Absence-Epilepsie des Kindesalters um altersabhängige Epilepsien handelt; sowohl der plötzliche Beginn als auch das Sistieren sind bis heute ungeklärt, dies lässt bei beiden Epilepsien an altersabhängige Genexpressionsveränderungen denken.

**TBC1D24** (*TBC1 domain family, member 24*) ist überwiegend im Gehirn exprimiert und kodiert für ein Protein, welches den Transmembranverkehr reguliert. Mutationen dieses Gens wurden in Verbindung gebracht mit **MMPSI**, einer schwerwiegenden epileptischen

Enzephalopathie. Beginnend in den ersten sechs Lebensmonaten kommt es bei dieser Epilepsie zu fokalen Anfällen in vielen Variationen während die psychomotorische Entwicklung sistiert (Milh et al., 2013). Dieses Gen war bei den Patienten dieser Untersuchung um den Faktor 2,6 hochreguliert.

Keines der detektierten Gene ist bislang im Zusammenhang mit kindlicher Absence-Epilepsie aufgefallen. Dennoch ist es denkbar, dass diese Gene, von denen viele für ein wichtiges Protein im Hinblick auf Entwicklung und Funktion des zentralen Nervensystems kodieren, in der Pathogenese der Absence-Epilepsie eine Rolle spielen. Der Ansatz, die Gene auf eventuelle Veränderung ihrer Transkriptionsraten hin zu überprüfen, ist ein bislang unbeschrittener Weg, so dass mit diesem Ergebnis nun weitere Untersuchungen erfolgen können, um die Absence-Epilepsie in ihrem Pathomechanismus besser zu verstehen.

Interessant war sicherlich, dass in der Liste der signifikant differentiell exprimierten Gene der Einzeluntersuchung keines enthalten war, welches bislang mit Pyknolepsie in Verbindung gebracht wurde (siehe Tabelle 1) und lediglich zwei Ionenkanalgene auffielen (*TRPM7 - Transient receptor potential cation channel; KCTD6 - potassium channel tetramerisation domain containing 6*). Sicherlich ist zu bedenken, dass bedingt durch das sehr kleine Kollektiv geringfügige Veränderungen in der Genexpression einzelner Gene unter Umständen nicht als statistisch signifikant ins Auge fallen, da sie durch das statistische Berechnungsmuster durchfallen (müssen), andererseits muss sich auch nicht jede genetische Veränderung in einer Veränderung des Expressionsmusters niederschlagen.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass im Rahmen dieser Studie diverse Gene identifiziert wurden, welche als Kandidatengene in Frage kommen, an der Genese einer Pyknolepsie ursächlich beteiligt zu sein. Es sind nun zielgerichtete Untersuchungen notwendig, um diese Ergebnisse weiter zu verfolgen. Wünschenswert wäre einerseits die Untermauerung der Funde in einem größeren Kollektiv, andererseits ist geplant, weitere Experimente anzuschließen, wie z.B. eine qPCR-Untersuchung (quantitative Polymerase-Kettenreaktion) an einem erweiterten Kollektiv von Probanden. So ist zu hoffen, dass vielleicht einzelne Gene zu identifizieren sind, welche zu der Entstehung einer kindlichen Absence-Epilepsie beitragen, so dass gegebenenfalls der Pathomechanismus dieser Erkrankung besser zu verstehen sein wird. Letztendlich besteht die Hoffnung, durch Verstehen des Pathomechanismus neue Behandlungswege zu ermöglichen.

Durch diese Studie (Literaturrecherche und Experiment) wird die These unterstützt, dass hinter der Epileptogenese der kindlichen Absence-Epilepsie mehr stehen muss als nur eine Ionenkanalerkrankung. Viele pathophysiologische Mechanismen sind denkbar, welche sich durch veränderte Expression von Genen ausdrücken können. Das Zusammenspiel dieser

Gene, die unterschiedliche Expression in verschiedenen Entwicklungsphasen gilt es weiter zu untersuchen.

## 5 Zusammenfassung

Die kindliche Absence-Epilepsie (Childhood Absence Epilepsy - CAE), eine der häufigsten Epilepsieerkrankungen im Kindesalter, ist gekennzeichnet durch eine hohe Anfallsfrequenz von 100 oder mehr Anfällen pro Tag. Die Absencen sind gekennzeichnet durch kurze, in der Regel drei bis 20 Sekunden andauernde Bewusstseinslücken. Im EEG ist während des Anfalls über allen Bereichen ein 3/s-spike-wave-Muster abzuleiten. Eine genetische Ätiologie für diese Erkrankung ist anzunehmen. Dennoch konnte der genetische Hintergrund der CAE bislang nicht vollständig geklärt werden. Ausgehend von der Annahme, dass möglicherweise nicht die strukturelle Veränderung eines einzelnen Gens ursächlich ist für die Erkrankung sondern die pathologisch veränderte Interaktion möglicherweise vieler Gene miteinander, sollten hier in einer Microarray-Analyse die aktiven Transkriptmuster von an CAE erkrankten Kindern mit denen gesunder Kinder verglichen werden.

Es wurde mithilfe von Datenbanken wie pubmed eine Liste von 726 Genen erstellt mit möglicher Relevanz bei der Epileptogenese. Diese Gene wurden mithilfe der Daten der Stanford Microarray Database auf ihre Expression im peripheren Blut hin untersucht.

In dem ersten Microarrayversuch wurden die Patientenkinder gepoolt gegen die gesunden Kinder (Gruppenvergleich) untersucht. Hier ergaben sich 21 Gene als signifikant differentiell exprimiert. 8 Gene von diesen 21 stehen im Zusammenhang mit Funktionen oder Entwicklung des Nervensystems (*CXCL1*, *IFRD*, *GNGT2*, *HOXB9*, *NTRK3*, *PCLO*, *PTPN21*, *RPS6KA3*).

Im zweiten Versuch wurden die Patientenkinder gegen ihr jeweiliges alters- und geschlechtsgematchtes gesundes Pendant untersucht. Aus den differentiell exprimierten 601 Genen wurden die 50 stärksten Gene ausgewählt. In dieser Liste fanden sich 8 Gene mit biologischer Relevanz das Nervensystem betreffend (*TMCO3*, *KCTD6*, *TRPM7*, *ATP1B3*, *CREBBP*, *AP3D1*, *CLN8*, *ANK3*).

Im Vergleich der gesamten so entstandenen drei Listen ergaben sich zwölf Überschneidungen. Die Gene *ABCA5*, *APRIN*, *BRD4*, *CSNK1G2*, *CXCL1*, *CXCL5*, *NARG1*, *PLCL1*, *RPS6KA3*, *SEMA4A*, *TMEM1* und *TRPM7* waren in mehreren Untersuchungen aufgefallen.

Zur weiteren Abklärung der Bedeutung dieser Gene sind weiterführende Untersuchungen notwendig und geplant.

## 6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Altersabhängige Inzidenz von Epilepsien (Baumgartner & Pirker, 2012).....	9
Abbildung 2: Klassifikation der Epilepsien nach Berg et al., 2010.....	10
Abbildung 3: 3/s spike-wave Paroxysmus von 9 Sekunden Dauer.....	12
Abbildung 4: Aufbau dieser Studie.....	16
Abbildung 5: Geschlechterverteilung der Gruppen .....	20
Abbildung 6: Altersverteilung der Gruppen .....	20
Abbildung 7: Darstellung der Leukozytenzahl der beiden Gruppen im Durchschnitt .....	22
Abbildung 8: Ablauf des Microarrayexperiments:.....	23
Abbildung 9: Auswertung des Microarrayexperiments (in Anlehnung an Müller & Röder, 2004).....	24
Abbildung 10: Microarray aus der gepoolten Untersuchung .....	25
Abbildung 11: Artefakt in einem Microarray dieser Studie.....	28
Abbildung 12: Bereich ohne Artefakte, saubere Spots.....	28
Abbildung 13: Funktionelle Aufteilung der Gene der Recherche.....	34
Abbildung 14: Aufteilung der in der Recherche katalogisierten Gene .....	35
Abbildung 15: Expressionswerte aller 19133 Gene der Gruppenuntersuchung .....	36
Abbildung 16: Heat Map der differentiell exprimierten Gene der Gruppen-.....	37
Abbildung 17: Scatterplott der exprimierten Gene der Einzeluntersuchung .....	40
Abbildung 18: Heat Map der 50 stärksten Gene der Einzeluntersuchung .....	42
Abbildung 19: In den drei Studienteilen identifizierte Gene und Anzahl der Gene, welche in mehreren Untersuchungen wiederkehren (Überlappungsbereiche).....	43
Abbildung 20: Standardisierter Fragebogen für die Kontrollgruppe.....	78

## 7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Im Zusammenhang mit CAE bekannte Gene .....	14
Tabelle 2: Geschlecht, Diagnose und Alter der eingeschlossenen Patienten.....	18
Tabelle 3: Kinder der Vergleichsgruppe.....	19
Tabelle 4: Vergleich der Altersverteilung von Patienten und Vergleichskindern.....	20
Tabelle 5: Anzahl der in der Recherche identifizierten Gene. ....	32
Tabelle 6: Auszug aus der Tabelle, die aus der Recherche hervorgegangen ist.....	33
Tabelle 7: Acht differentiell exprimierte Gene aus der Gruppenuntersuchung .....	38
Tabelle 8: Zwölf Gene, die in jeweils zwei Ergebnislisten der Studie aufgefallen sind .....	45
Tabelle 9: Gene im Zusammenhang mit verschiedenen Epilepsie-Erkrankungen.....	79
Tabelle 10: Gene aus der Recherche-Liste, deren Expression in Blut und Gehirn bislang nachgewiesen wurde.....	90
Tabelle 11: Differentiell exprimierte Gene der Gruppenuntersuchung.....	100
Tabelle 12: Liste der 48 stärksten regulierten Gene der Einzeluntersuchung. ....	102



## 8 Literaturverzeichnis

- Affymetrix. (2014). *www.affymetrix.com*. (Affymetrix, U.S.A.) Abgerufen am 04. April 2014 von <http://www.affymetrix.com/>
- Agilent Technologies. (01. Februar 2007). *www.agilent.com*. Abgerufen am 04. April 2014
- Allen, A. S., Berkovic, S. F., Cossette, P., Delanty, N., Dlugos, D., . . . Winawer, M. R. (Sep 2013). De novo mutations in epileptic encephalopathies. *Nature*, *501*(7466), 217-221.
- Antonická, H., Floryk, D., Klement, P., Stratilová, L., Hermanská, J., . . . Houstek, J. (Sep 1999). Defective kinetics of cytochrome c oxidase and alteration of mitochondrial membrane potential in fibroblasts and cytoplasmic hybrid cells with the mutation for myoclonus epilepsy with ragged-red fibres ('MERRF') at position 8344 nt. *Biochem J*, *342*(3), 537 - 44.
- Arlt, D., Huber, W., Liebel, U., Schmidt, C., Majety, M., . . . Wiemann, S. (Sep 2005). Functional profiling: from microarrays via well-based assays to novel tumor relevant modulators of the cell cycle. *Cancer Res*, *65*(17), 7733-42.
- Arnold, O. & Nielsen, J. H. (2005). Oligodesignprobleme. *Seminar Fortgeschrittene Algorithmische Bioinformatik*. Berlin.
- Bahi-Buisson, N. (2013). Genetically determined encephalopathy: Rett syndrome. *Handb Clin Neurol*, *111*, 281-286.
- Baker, K., Scerif, G., Astle, D. E., Fletcher, P. C. & Raymond, F. L. (Feb 2015). Psychopathology and cognitive performance in individuals with membrane-associated guanylate kinase mutations: a functional network phenotyping study. *J Neurodev Disord*, *7*(1), 8.
- Balan, S., Barathan, S. P., Vellichiramal, N. N., Sathyan, S., Joseph, V., . . . Banerjee, M. (Feb 2014). Genetic association analysis of ATP binding cassette protein family reveals a novel association of ABCB1 genetic variants with epilepsy risk, but not with drug-resistance. *PLoS One*, e89253. doi: 10.1371/journal.pone.0089253.
- Bandtlow, C. E., Dlaska, M., Pirker, S., Czech, T., Baumgartner, C. & Sperk, G. (Jul 2004). Increased expression of Nogo-A in hippocampal neurons of patients with temporal lobe epilepsy. *Eur J Neurosci*, *20*(1), 195-206.
- Banerjee, P. N., Filippi, D. & Allen Hauser, W. (Jul 2009). The descriptive epidemiology of epilepsy - a review. *Epilepsy Res*, *85*(1), 31-45.

- Basel-Vangaite, L., Hershkovitz, T., Heyman, E., Raspall-Chaure, M., Kakar., N., . . . Borck, G. (Sep 2013). Biallelic SZT2 mutations cause infantile encephalopathy with epilepsy and dysmorphic corpus callosum. *Am J Hum Genet*, 93(3), 524-9.
- Baulac, S. (Apr 2016). mTOR signaling pathway genes in focal epilepsies. *Prog Brain Res*, 226, S. 61-79.
- Baum, L., Haerian, B. S., Ng, H. K., Wong, V. C., Ng, P. W., . . . Kwan, P. (May 2014). Case-control association study of polymorphisms in the voltage-gated sodium channel genes SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN1B, and SCN2B and epilepsy. *Hum Genet*, 133(5), 651-659.
- Baumgartner, C. & Pirker, S. (2012). Aktuelles zur Diagnostik und Therapie der Epilepsie. *J Neurol Neurochir Psychiatr*, 2, 65.
- Berg, A. T., Berkovic, S. F., Brodie, M. J., Buchhalter, J., Cross, J. H., . . . Scheffer, I. E. (Apr 2010). Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. *Epilepsia*, 51(4), 676-685.
- Bergamini, L., Bram, S., Broglio, S. & Riccio, A. (1965). L'insorgenza tardiva di crisi Grande Male nel Piccolo Male puro. Studio catamnastico di 78 casi. *Arch Suisses Neurol Neurochir Psychiatr*, 96, 306-17.
- Bergmann, C., Zerres, K., Senderek, J., Rudnik-Schoneborn, S., Eggermann, T., . . . Ramaekers, V. T. (Jul. 2003). Oligonephrin 1 (OPHN1) gene mutation causes syndromic X-linked mental retardation with epilepsy, rostral ventricular enlargement and cerebellar hypoplasia. *Brain*, 126(7), 1537-44.
- Bianchi, M. G., Bardelli, D., Chiu, M. & Bussolati, O. (Jun 2014). Changes in the expression of the glutamate transporter EAAT3/EAAC1 in health and disease. *Cell Mol Life Sci*, 71(11), 2001-15.
- Blanchard, E., Marie, S., Riffault, L., Bonora, M., Tabary, O., . . . Jacquot, J. (Aug 2011). Reduced expression of Tis7 / IFRD1 protein in murine and human cystic fibrosis airway epithelial cell models homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 3, 471-476.
- Boccuto, L., Aoki, K., Flanagan-Steet, H., Chen, C. F., Fan, X., . . . Schwartz, C. E. (Jan 2014). A mutation in a ganglioside biosynthetic enzyme, ST3GAL5, results in salt & pepper syndrome, a neurocutaneous disorder with altered glycolipid and glycoprotein glycosylation. *Hum Mol Genet.*, 23(2), 418-33.

- Boes, T. (2007). *Auswirkungen der Low-Level-Analyse auf die Ergebnisse*. Dissertation, Universität Duisburg-Essen.
- Bregola, G., Frigati, L., Zucchini, S. & Simonato, M. (2000). Different patterns of induction of fibroblast growth factor-2 and brain-derived neurotrophic factor messenger RNAs during kindling epileptogenesis, and development of a herpes simplex vector for fibroblast growth factor-2 gene transfer in vivo. *Epilepsia*, 41(6), 122-126.
- Brill, J., Klocke, R., Paul, D., Boison, D., Gouder, N., . . . Becker, K. (Feb 2004). Entla, a novel epileptic and ataxic CACNA2D2 mutant of the mouse. *J Biol Chem*, 279(8), 7322-7330.
- Carvill, G. L., Heavin, S. B., Yendle, S. C., McMahon, J. M., O'Roak, B. J., . . . Mefford, H. C. (Jul 2013). Targeted resequencing in epileptic encephalopathies identifies de novo mutations in CHD2 and SYNGAP1. *Nat Genet*, 45(7), 825-30.
- Carvill, G. L., McMahon, J. M., Schneider, A., Zemel, M., Myers, C. T., . . . Mefford, H. C. (May 2015). Mutations in the GABA transporter SLC6A1 cause epilepsy with myoclonic-atonic seizures. *Am J Hum Genet*, 96(5), 808-15.
- Carvill, G. L., Weckhuysen, S., McMahon, J. M., Hartmann, C., Moller, R. S., . . . Mefford, H. C. (Apr 2014). GABRA1 and STXBP1: Novel genetic causes of Dravet syndrome. *Neurology*, 82(14), 1245 - 53.
- Cason, A. L., Ikeguchi, Y., Skinner, C., Wood, T. C., Holden, K. R., . . . Schwartz, C. E. (Dec 2003). X-linked spermine synthase gene (SMS) defect: the first polyamine deficiency syndrome. *Eur J Hum Genet*, 11(12), 937-44.
- Chang, B., Wang, J. F., Hill, B. C. & Young, L. T. (Jun 1999). Lithium and valproate differentially regulate brain regional expression of phosphorylated CREB and c-Fos. *Molecular Brain Reserach*, 70(1), 45-53.
- Chen, J., Lee, G., Fanous, A. H., Zhao, Z., Jia, P., . . . Sklar, P. (Sep 2011). Two non-synonymous markers in PTPN21, identified by genome-wide association study data-mining and replication, are associated with schizophrenia. *Schizophr Res*, 131(1-3), 43-51.
- Chen, T. T., Klassen, T. L., Goldman, A. M., Marini, C., Guerrini, R. & Noebels, J. L. (Mar 2013). Novel brain expression of CIC-1 chloride channels and enrichment of CLCN1 variants in epilepsy. *Neurology*, 80(12), 1078-1085.
- Chen, Y., Mizuguchi, H., Yao, D., Ide, M., Kuroda, Y., . . . Kido, H. (Apr 2005). Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated epilepsy. *FEBS Lett*, 579(10), 2040-4.

- Chen, Y., Wu, L., Fang, Y., He, Z., Peng, B., . . . Xu, Q. (Feb 2009). A novel mutation of the nicotinic acetylcholine receptor gene CHRNA4 in sporadic nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 83(2-3), 152-156.
- Choi, J., Min, H. J. & Shin, J. S. (Oct 2011). Increased levels of HMGB1 and pro-inflammatory cytokines in children with febrile seizures. *J Neuroinflammation*, 8, 135.
- Combi, R. a. (Apr 2009). Clinical and genetic familial study of a large cohort of Italian children with idiopathic epilepsy. *Brain Res Bull.*, 79(2), 89-96.
- Conforto, T. L. & Waxman, D. J. (Apr 2012). Sex-specific mouse liver gene expression: genome-wide analysis of developmental changes from pre-pubertal period to young adulthood. *Biol Sex Differ*, 3, 9.
- Crèvecoeur, J., Kaminski, R. M., Rogister, B., Foerch, P., Vandenplas, C., . . . Deprez, M. (Feb 2014). Expression pattern of synaptic vesicle protein 2 (SV2) isoforms in patients with temporal lobe epilepsy and hippocampal sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 40(2), 191-204.
- Crino, P. B. & Henske, E. P. (Oct 1999). New developments in the neurobiology of the tuberous sclerosis complex. *Neurology*, 53(7), 1384-90.
- Cuadrado, E., Michailidou, I., van Bodegraven, E. J., Jansen, M. H., Sluijs, J. A., . . . Hol, E. M. (Apr. 2015). Phenotypic variation in Aicardi-Goutières syndrome explained by cell-specific IFN-stimulated gene response and cytokine release. *J Immunol*, 194(8), 8623-33.
- Currier, R. D., Kooi, K. A. & Saidman, L. J. (Nov 1963). Prognosis of pure petit mal; a follow up study. *Neurology*, 13, 959-67.
- D'Aco, K. E., Bearden, D., Watkins, D., Hyland, K., Rosenblatt, D. S. & Ficicioglu, C. (Aug. 2014). Severe 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency and two MTHFR variants in an adolescent with progressive myoclonic epilepsy. *Pediatr Neurol*, 51(2), 266-70.
- Dai, A. I., Akcali, A., Koska, S., Oztuzcu, S., Cengiz, B. & Demiryürek, A. T. (Mar 2015). Contribution of KCNJ10 gene polymorphisms in childhood epilepsy. *J Child Neurol*, 30(3), 296-300.
- D'Alessio, L., Konopka, H., Lopez, E. M., Seoane, E., Consalvo, D., . . . Lopez-Costa, J. J. (Nov 2010). Doublecortin (DCX) immunoreactivity in hippocampus of chronic refractory temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. *Seizure*, 19(9), 567-572.

- Damai, L., Lupien-Meilleur, A., Lortie, A., Riou, É., Ospina, L. H., . . . Rossignol, E. (Oct 2015). CACNA1A haploinsufficiency causes cognitive impairment, autism and epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms. *Eur J Hum Genet*, 23(11), 1505-12.
- Dazzo, E., Santulli, L., Posar, A., Fattouch, J., Conti, S., . . . Nobile, C. (Feb 2015). Autosomal dominant lateral temporal epilepsy (ADLTE): novel structural and single-nucleotide LGI1 mutations in families with predominant visual auras. *Epilepsy Res*, 110, 132-8.
- de Leeuw, N., Bulk, S., Green, A., Jaekle-Santos, L., Baker, L. A., . . . de Brouwer, A. P. (Dec 2010). UBE2A deficiency syndrome: Mild to severe intellectual disability accompanied by seizures, absent speech, urogenital and skin anomalies in male patients. *Am J Med Genet A*, 152A(12), 3084-90.
- de Vries, B., Callenbach, P. M., Kamphorst, J. T., Weller, C. M., Koelewijn, S. C., . . . van den Maagdenberg, A. M. (Nov 2012). PRRT2 mutation causes benign familial infantile convulsions. *Neurology*, 79(21), 2154-2155.
- Deetjen, P. a. (1999). *Physiologie* (3. Ausg.). Urban & Fischer.
- Delgado-Escueta, A. V., Greenberg, D., Weissbecker, K., Liu, A., Treiman, L., . . . Terasaki, P. I. (1990). Gene mapping in the idiopathic generalized epilepsies: juvenile myoclonic epilepsy, childhood absence epilepsy, epilepsy with grand mal seizures, and early childhood myoclonic epilepsy. *Epilepsia*, 31 Suppl. 3, 19 - 29.
- Delgado-Escueta, A. V., Koeleman, B. P., Bailey, J. N., Medina, M. T. & Duron, R. M. (Jul 2013). The quest for juvenile myoclonic epilepsy genes. *Epilepsy Behav*, 28 Suppl 1, 52-57.
- Dhar, S. U., Scaglia, F., Li, F. Y., Smith, L., Barshop, B. A., . . . Wong, L. J. (Jan 2009). Expanded clinical and molecular spectrum of guanidinoacetate methyltransferase (GAMT) deficiency. *Mol Genet Metab*, 96(1), 38-43.
- Díaz-Otero, F., Quesada, M., Morales-Corraliza, J., Martínez-Parra, C., Gómez-Garre, P. & Serratosa, J. M. (Mar 2008). Autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy with a mutation in the CHRN2 gene. *Epilepsia*, 49(3), 516-20.
- Du, W., Bautista, J. F., Yang, H., Diez-Sampedro, A., You, S. A., . . . Wang, Q. K. (Jul 2005). Calcium-sensitive potassium channelopathy in human epilepsy and paroxysmal movement disorder. *Nat Genet*, 37(7), 733-8.

- Dutuit, M., Touret, M., Szymocha, R., Nehlig, A., Belin, M. F. & Didier-Bazès, M. (Mar 2002). Decreased expression of glutamate transporters in genetic absence epilepsy rats before seizure occurrence. *J Neurochem*, 80(6), 1029-38.
- Edvardson, S., Ashikov, A., Jalas, C., Sturiale, L., Shaag, A., . . . Elpeleg, O. (Nov 2013). Mutations in SLC35A3 cause autism spectrum disorder, epilepsy and arthrogryposis. *J Med Genet.*, 50(11), 733-9.
- Edvardson, S., Baumann, A. M., Mühlenhoff, M., Stephan, O., Kuss, A. W., . . . Elpeleg, O. (Feb 2013). West syndrome caused by ST3Gal-III deficiency. *Epilepsia*, 54(2), e24-7. doi: 10.1111/epi.12050.
- EPICUR Consortium; EMINet Consortium. (Dec 2012). Genome-wide association analysis of genetic generalized epilepsies implicate susceptibility loci at 1q43, 2p16.1, 2q22.3 and 17q21.32. *Hum Mol Genet*, 21(24), 5359-72.
- Escayg, A., De Waard, M., Lee, D. D., Bichet, D., Wolf, P., . . . Meisler, M. H. (May 2000). Coding and noncoding variation of the human calcium-channelbeta4-subunit gene CACNB4 in patients with idiopathic generalized epilepsy and episodic ataxia. *Am J Hum Genet*, 66(5), 1531-9.
- Eunson, L. H., Rea, R., Zuberi, S. M., Youroukos, S., Panayiotopoulos, C. P., . . . Spauschus, A. (Oct 2000). Clinical, genetic and expression studies of mutations in the potassium channel gene KCNA1 reveal new phenotypic variability. *Ann Neurol*, 48(4), 647-56.
- EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium. (Oct 2014). De novo mutations in synaptic transmission genes including DNM1 cause epileptic encephalopathies. *Am J Hum Genet*, 95(4), 360-70.
- Everett, K. V., Chioza, B., Aicardi, J., Aschauer, H., Brouwer, O., . . . Gardiner, M. (Apr 2007). Linkage and association analysis of CACNG3 in childhood absence epilepsy. *Eur J Hum Genet*, 15(4), 463-472.
- Faheem, M., Naseer, M. I., Chaudhary, A. G., Kumosani, T. A., Rasool, M., . . . Al-Qahtani, M. H. (2015). Array-comparative genomic hybridization analysis of a cohort of Saudi patients with epilepsy. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 14(4), 468-75.
- Ferdinandusse, S., Denis, D., Clayton, P. T., Graham, A., Rees, J. E., . . . Wanders, R. J. (Feb 2000). Mutations in the gene encoding peroxysomal alpha-methylacyl-CoA racemase cause adult-onset sensory motor neuropathy. *Nat Genet*, 24(2), 188-91.
- Fichera, M., Romano, C., Castiglia, L., Failla, P., Ruberto, C., . . . Ragusa, A. (1998). New mutations in XNP/ATR-X gene: a further contribution to genotype/phenotype

- relationship in ATR/X syndrome. Mutations in brief no. 176. Online. *Hum Mutat*, 12(3), 214.
- Fiedler, B. J., Debus, O. M., Neubauer, B. A., Kienle, M. & Kurlemann, G. (Jan 2006). P50 sensory gating deficit in children with centrotemporal spikes and sharp waves in the EEG. *Neurosci Lett*, 393(2-3), 206-10.
- Flanagan, J. M., Rhodes, M., Wilson, M. & Beutler, E. (Jul 2006). The identification of a recurrent phosphoglycerate kinase mutation associated with chronic haemolytic anaemia and neurological dysfunction in a family from USA. *Br J Haematol*, 134(2), 233-7.
- Flood, W. a. (Oct 2004). Nxf and Fbxo33: novel seizure-responsive genes in mice. *Eur J Neurosci*, 20(7), 1819-26.
- Gan, N., Yang, L., Omran, A., Peng, J., Wu, L., . . . Yin, F. (Feb 2014). Myeloid-related protein 8, an endogenous ligand of Toll-like receptor 4, is involved in epileptogenesis of mesial temporal lobe epilepsy via activation of the nuclear factor-kB pathway in astrocytes. *Mol Neurobiol*, 49(1), 337-51.
- Garcia, C. C., Blair, H. J., Seager, M., Coulthard, A., Tennant, S., . . . Goodship, J. A. (Mar 2004). Identification of a mutation in synapsin I, a synaptic protein, in a family with epilepsy. *J Med Genet*, 41(3), 183-6.
- Giannandrea, M., Bianchi, V., Mignogna, M. L., Sirri, A., Carrabino, S., . . . D'Adamo, P. (Feb. 2010). Mutations in the small GTPase gene RAB39B are responsible for X-linked mental retardation associated with autism, epilepsy and macrocephaly. *Am J Hum Genet*, 86(2), 185-95.
- Gilfillan, G. D., Selmer, K. K., Roxrud, I., Smith, R., Kyllerman, M., . . . Stromme, P. (Apr. 2008). SLC9A6 mutations cause X-linked mental retardation, microcephaly, epilepsy and ataxia, a phenotype mimicking Angelman syndrome. *Am J Hum Genet*, 82(4), 1003-10.
- Golder, W. (2007). *Hippokrates und das Corpus Hippocraticum: eine Einführung für Philologen und Mediziner* (1. Ausg.). Königshausen & Neumann.
- Gu, W., Sander, T., Becker, T. & Steinlein, O. K. (2004). Genotypic association of exonic LGI4 polymorphisms and childhood absence epilepsy. *Neurogenetics*, 5(1), 41-4.
- Gu, W., Wevers, A., Schröder, H., Grzeschik, K. H., Derst, C., . . . Steinlein, O. K. (May 2002). The LGI1 gene involved in lateral temporal lobe epilepsy belongs to a new subfamily of leucine-rich repeat proteins. *FEBS Lett*, 519(1-3), 71-6.

- Hahn, K. A., Salomons, G. S., Tackels-Horne, D., Wood, T. C., Taylor, H. A., . . . Schwartz, C. E. (May 2002). X-linked mental retardation with seizures and carrier manifestations is caused by a mutation in the creatine-transporter gene (SLC6A8) located in Xq28. *Am J Hum Genet*, 70(5), 1349-56.
- Harvey, K., Duguid, I. C., Alldred, M. J., Beatty, S. E., Ward, H., . . . Harvey, R. J. (Jun 2004). The GDP-GTP exchange factor collybistin: an essential determinant of neuronal gephyrin clustering. *J Neurosci*, 24(25), 5816-26.
- Heilstedt, H. A., Burgess, D. L., Anderson, A. E., Chedrawi, A., Tharp, B., . . . Shapira, S. K. (Sep 2001). Loss of the potassium channel beta-subunit gene, KCNAB2, is associated with epilepsy in patients with 1p36 deletion syndrome. *Epilepsia*, 42(9), 1103-1111.
- Helbig, I., Matigian, N. A., Vadlamudi, L., Lawrence, K. M., Bayly, M. A., . . . Hayward, N. K. (Sep 2008). Gene expression analysis in absence epilepsy using a monozygotic twin design. *Epilepsia*, 49(9), 1546-1554.
- Hembruff, S. L., Villeneuve, D. J. & Parissenti, A. M. (Oct 2005). The optimization of quantitative reverse transcription PCR for verification of cDNA microarray data. *Anal Biochem*, 345(2), 237-249.
- Heron, S. E., Smith, K. R., Bahlo, M., Nobili, L., Kahana, E., . . . Dibbens, L. M. (Nov 2012). Missense mutation in the sodium-gated potassium channel gene KCNT1 cause severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet*, 44(11), 1188-90.
- Hirsch, E. & Panayiotopoulos, C. P. (2012). Childhood absence epilepsy and related syndromes. In M. Bureau, P. Genton & C. Dravet (Hrsg.), *Epileptic Syndromes in Infancy, Childhood and Adolescence* (5 Ausg.). John Libbey Eurotext.
- Houge, G., Rasmussen, I. H. & Hovland, R. (Jan 2012). Loss-of-Function CNKSR2 Mutation is a likely cause of Non-Syndromic X-linked intellectual disability. *Mol Syndromol*, 2(2), 60-63.
- Huang, Y., Doherty, J. J. & Dingledine, R. (Oct 2002). Altered histone acetylation at glutamate receptor 2 and brain-derived neurotrophic factor genes is an early event triggered by status epilepticus. *J Neurosci*, 22(19), 8422-8.
- ILAE. (Aug 1989). Proposal for revised classification of epilepsies and epileptic syndromes. *Epilepsia*, 30(4), 389-399.



- Imitola, J., Walleigh, D., Anderson, C. E., Jethva, R., Carvalho, K. S., . . . Khurana, D. S. (Jun 2014). Fraternal twins with autism, severe cognitive deficit and epilepsy: diagnostic role of chromosomal microarray analysis. *Semin Pediatr Neurol*, 21(2), 167-71.
- Iori, V., Maroso, M., Rizzi, M., Iyer, A. M., Vertemara, R., . . . Vezzani, A. (Oct 2013). Receptor for Advanced Glycation Endproducts is upregulated in temporal lobe epilepsy and contributes to experimental seizures. *Neurobiol Dis*, 58, 102-114.
- Ishida, S., Picard, F., Rudolf, G., Noé, E., Achaz, G., . . . Baulac, S. (May 2013). Mutations of DEPDC5 cause autosomal dominant focal epilepsies. *Nat Genet*, 45(5), 552-5.
- Ishii, A., Kanaumi, T., Sohda, M., Misumi, Y., Zhang, B., . . . Hirose, S. (Mar 2014). Association of nonsense mutation in GABRG2 with abnormal trafficking of GABAA receptors in severe epilepsy. *Epilepsy Res*, 108(3), 420-432.
- Item, C. B., Stöckler-Ipsiroglu, S., Stromberger, C., Mühl, A., Alessandri, M. G., . . . Cioni, G. (Nov 2001). Arginine: glycine amidinotransferase deficiency: the third inborn error of creatinemetabolism in humans. *Am J Hum Genet*, 69(5), 1127-33.
- Iwasaki, N., Nakayama, J., Hamano, K., Matsui, A. & Arinami, T. (Nov 2002). Molecular genetics of febrile seizures. *Epilepsia*, 43 Suppl 9, 32 - 5.
- Jen, J. C., Wan, J., Palos, T. P., Howard, B. D. & Baloh, R. W. (Aug 2005). Mutation in the glutamate transporter EAAT1 causes episodic ataxia, hemiplegia and seizures. *Neurology*, 65(4), 529-34.
- Jensen, L. R., Amende, M., Gurok, U., Moser, B., Gimmel, V., . . . Lenzner, S. (Feb 2005). Mutations in the JARID1C gene, which is involved in transcriptional regulation and chromatin remodeling, cause X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet*, 76(2), 227-36.
- Johnson, E. A., Dao, T. L., Guignet, M. A., Geddes, C. E., Koemeter-Cox, A. I. & Kan, R. K. (May 2011). Increased expression of the chemokines CXCL1 and MIP-1a by resident brain cells precedes neutrophil infiltration in the brain following prolonged soman-induced status epilepticus in rats. *J Neuroinflammation*, 8(41), 41.
- Kang, J. Q., Shen, W. & Macdonald, R. L. (Mar 2009). Two molecular pathways (NMD and ERAD) contribute to a genetic epilepsy associated with the GABA(A) receptor GABRA1 PTC mutation, 975delC, S326fs328X. *J Neurosci*, 29(9), 2833-44.
- Kapoor, A., Satishchandra, P., Ratnapriya, R., Reddy, R., Kadandale, J., . . . Anand, A. (Aug 2008). An idiopathic epilepsy syndrome linked to 3q13.3-q21 and missense mutations in the extracellular calcium sensing receptor gene. *Ann Neurol*, 64(2), 158-67.

- Kato, M., Saitsu, H., Murakami, Y., Kikuchi, K., Watanabe, S., . . . Matsumoto, N. (May 2014). PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology*, *82*(18), 1587-96.
- Kato, T., Tamiya, G., Koyama, S., Nakamura, T., Makino, S., . . . Tooyama, I. (Sep 2012). UBR5 gene mutation is associated with familial adult myoclonic epilepsy in a Japanese family. *ISRN Neurol*, 508308; doi: 10.5402/2012/508308.
- Kodera, H., Nakamura, K., Osaka, H., Maegaki, Y., Haginoya, K., . . . Saitsu, H. (Dec 2013). De novo mutations in SLC35A2 encoding a UDP-galactose transporter cause early-onset epileptic encephalopathy. *Hum Mutat*, *34*(12), 1708-14.
- Kousi, M., Anttila, V., Schulz, A., Calafato, S., Jakkula, E., . . . Lehesjoki, A. E. (Jun 2012). Novel mutations consolidate KCTD7 as a progressive myoclonus epilepsy gene. *J Med Genet*, *49*(6), 391-9.
- Kure, S., Kato, K., Dinopoulos, A., Gail, C., DeGrauw, T. J., . . . Matsubara, Y. (Apr 2006). Comprehensive mutation analysis of GLDC, AMT and GCSH in nonketotic hyperglycinemia. *Hum Mutat*, *27*(4), 343-52.
- Kurlemann, G., Debus, O. & Fiedler, B. (2003). Antiepileptika bei Kindern - ein Update. *pädiatrie*(6), S. 264-271.
- Kuroda, Y., Ohashi, I., Saito, T., Nagai, J., Ida, K., . . . Kurosawa, K. (Nov 2014). Deletion of UBE3A in brothers with Angelman syndrome at the breakpoint with an inversion at 15q11.2. *Am J Med Genet A*, *164A*(11), 2873-8.
- Kwong, A. K., Ho, A. C., Fung, C. W. & Wong, V. C. (May 2015). Analysis of mutations in 7 genes associated with neuronal excitability and synaptic transmission in a cohort of children with non-syndromic infantile epileptic encephalopathy. *PLoS One*, *10*(5), doi: 10.1371/journal.pone.0126446 e0126446.
- Labate, A., Manna, I., Gambardella, A., Le Piane, E., La Russa, A., . . . Quattrone, A. (Jun 2007). Association between the M129V variant allele of PRNP gene and mild temporal lobe epilepsy in women. *Neurosci Lett*, *421*(1), 1-4.
- Lal, D., Reinthaler, E. M., Altmüller, J., Toliat, M. R., Thiele, H., . . . Neubauer, B. A. (Sep. 2013). RBFOX1 and RBFOX3 mutations in rolandic epilepsy. *PLoS One*, *8*(9), doi: 10.1371/journal.pone.0073323. e73323.
- Lalani, S. R., Zhang, J., Schaaf, C. P., Brown, C. W., Magoulas, P., . . . Xia, F. (Nov. 2014). Mutations in PURA cause profound neonatal hypotonia, seizures and encephalopathy in 5q31.3 microdeletion. *Am J Hum Genet*, *95*(5), 579-83.

- Lehmann-Horn, F., Lerche, H., Mitrovic, N. & Jurkat-Rott, K. (2000). Ionenkanalerkrankungen, Krankheitsbilder. *Deutsches Ärzteblatt*, 97(27), A 1902-7.
- Lemke, J. R., Riesch, E., Scheurenbrand, T., Schubach, M., Wilhelm, C., . . . Biskup, S. (Aug 2012). Targeted next generation sequencing as a diagnostic tool in epileptic disorders. *Epilepsia*, 53(8), 1387-1398.
- Lenz, M. (2009). *Statistische Planung von Microarray-Experimenten zur Analyse der Kationen-Homoöstase in Saccharomyces cerevisia*. Diplomarbeit, Fachbereich Mathematik und Technik der Fachhochschule Koblenz, RheinAhrCampus Remagen.
- Lerche, H., Mitrovic, N., Jurkat-Rott, K. & Lehmann-Horn, F. (2000). Ionenkanalerkrankungen - allgemeine Charakteristika und Pathomechanismen. *Deutsches Ärzteblatt*, 97, A 1826-31.
- Li, F., Dong, L., Xing, R., Wang, L., Luan, F., . . . Bai, L. (Feb 2014). Homeobox B9 is overexpressed in hepatocellular carcinomas and promotes tumor cell proliferation both in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*, 444(2), 241-247.
- Li, M., Jazayeri, D., Corry, B., McSweeney, K. M., Heinzen, E. L., . . . Petrou, S. (May 2015). A functional correlate of severity in alternating hemiplegia of childhood. *Neurobiol Dis*, 77, 88-93.
- Liu, J. Y., Kasperaviciute, D., Martinian, L., Thom, M. & Sisodiya, S. M. (Apr 2012). Neuropathology of 16p13.11 Deletion in Epilepsy. *PLoS One*, 7(4), e34813.doi: 10.1371/journal.pone.0034813.
- Loisaeu, P. & Panayiotopoulos, C. P. (20. october 2000). *www.ilae.org*. Abgerufen am 30. April 2015 von [http://www.ilae.org/\\_archive\\_folder/ctf/childhood\\_absence.html](http://www.ilae.org/_archive_folder/ctf/childhood_absence.html)
- Lorenz, M., Koschate, J., Kaufmann, K., Kreye, C., Mertens, M., . . . Stangl, V. (May 2015). Does cellular sex matter? Dimorphic transcriptional difference between female and male endothelial cells. *Atherosclerosis*, 240(1), 61-72.
- Lower, K. M., Turner, G., Kerr, B. A., Mathews, K. D., Shaw, M. A., . . . Gécz, J. (Dec. 2002). Mutations in PHF6 are associated with Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome. *Nat Genet*, 32(4), 661-5.
- Lü, J. J., Zhang, Y. H., Chen, Y. C., Pan, H., Wang, J. L., . . . Wu, X. R. (2005). T-type calcium channel gene-CACNA1H is a susceptibility gene to childhood absence epilepsy. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 43(2), 133-6.
- Lu, T., Pan, Y., Kao, S. Y., Li, C., Kohane, I., . . . Yankner, B. A. (2004). Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature*, 429(6994), 883-891.

- Macdonald, R. L., Gallagher, M. J., Feng, H. J. & Kang, J. (2004). GABA(A) receptor epilepsy mutations. *Biochem Pharmacol*, 68(8), 1497-506.
- Malas, S., Postlethwaite, M., Ekonomou, A., Whalley, B., Nishguchi, S., . . . Episkipou, V. (2003). Sox1-deficient mice suffer from epilepsy associated with abnormal ventral forebrain development and olfactory cortex hyperexcitability. *Neuroscience*, 119(2), 421-32.
- Marie, S., Cuppens, H., Heuterspreute, M., Jaspers, M., Tola, E. Z., . . . Van den Berghe, G. (1999). Mutation analysis in adenylosuccinate lyase deficiency: eight novel mutations in the re-evaluated full ADSL coding sequence. *Hum Mutat*, 13(3), 197-202.
- Marteau, J.-B., Mohr, S., Pfister, M. & Visvikis-Siest, S. (Jul 2005). Collection and Storage of Human Blood Cells for mRNA Expression Profiling: A 15-Month Stability Study. *Clinical Chemistry*, 51(7), 1250-1252. Von <http://www.clinchem.org/content/51/7/1250.short> abgerufen
- Martin, H. C., Kim, G. E., Pagnamenta, A. T., Murakami, Y., Carvill, G. L., . . . Taylor, J. C. (Feb 2014). Clinical whole-genome sequencing in severe early-onset epilepsy reveals new genes and improves molecular diagnosis. *Hum Mol Genet*, 23(12), 3200-11.
- Mastrangelo, M. & Leuzzi, V. (Jan 2012). Genes of early-onset epileptic encephalopathy: from genotype to phenotype. *Pediatr Neurol*, 46(1), 24-31.
- Matsumoto, A., Kuwajima, M., Miyake, K., Kojima, K., Nakashima, N., . . . Yamagata, T. (Nov 2013). A Xp22.12 microduplication including RPS6KA3 identified in a family with variably affected intellectual and behavioral disabilities. *J Hum Genet*, 58(11), 755-757.
- Mazzaschi, R. L., Ashton, F., Aftimos, S., George, A. M. & Love, D. R. (May 2013). Implications of a Chr7q21.11 Microdeletion and the Role of the PCLO Gene in Developmental Delay. *Sultan Quaboos Univ Med J*, 13(2), 306-10.
- McClintick, J. N. & Edenberg, H. J. (Jan 2006). Effects of filtering by Present call on analysis of microarray experiments. *BMC Bioinformatics*, 7, 49.
- Meynard, D., Sun, C. C., Wu, Q., Chen, W., Chen, S., . . . Lin, H. Y. (Dec 2013). Inflammation Regulates TMPRSS6 Expression via STAT5. *PLoS ONE*, 8(12), e82127. doi: 10.1371/journal.pone.0082127.
- Miceli, F., Soldovieri, M. V., Ambrosino, P., De Maria, M., Migliore, M., . . . Tagliatela, M. (Mar 2015). Early-onset epileptic encephalopathy caused by gain-of-function mutations in the voltage sensor of Kv7.2 and Kv7.3 potassium channel subunits. *J Neurosci*, 35(9), 3782-93.

- Milh, M., Falace, A., Villeneuve, N., Vanni, N., Cacciagli, P., . . . Fassio, A. (Jun 2013). Novel compound heterozygous mutations in TBC1D24 cause familial malignant migrating partial seizures of infancy. *Hum Mutat*, 34(6), 869-872.
- Mills, P. B., Camuzeaux, S. S., Footitt, E. J., Mills, K. A., Gissen, P., . . . Clayton, P. T. (Mar 2014). Epilepsy due to PNPO mutations: genotype, environment and treatment affect presentation and outcome. *Brain*, 137(Pt 5), 1350-60.
- Mills, P. B., Struys, E., Jakobs, C., Plecko, B., Baxter, P., . . . Clayton, P. T. (Mar 2006). Mutations in antiquitin in individuals with pyridoxine-dependent seizures. *Nat Med*, 12(3), 307-9.
- Mochida, G. H. (Apr 2005). Cortical malformation and pediatric epilepsy: a molecular genetic approach. *J Child Neurol*, 20(4), 300-303.
- Mohammadi Amirabad, L., Ahangari, G. & Derakhshan Deilami, G. (Feb 2014). Significant changes of 5-Hydroxytryptamine 3A receptor gene expression in peripheral blood mononuclear cells of allergic asthmatic patients. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 13(1), 33-9.
- Muhle, H., Steinich, I., von Spiczak, S., Franke, A., Weber, Y., . . . Tönnies, H. (Dec 2010). A duplication in 1q21.3 in a family with early onset and childhood absence epilepsy. *Epilepsia*, 51(12), 2453-6.
- Müller, H.-J. & Röder, T. (2004). *Der Experimentator - Microarrays* (1. Auflage Ausg.). Elsevier.
- Mutez, E., Larvor, L., Leprêtre, F., Mouroux, V., Hamalek, D., . . . Chartier-Harlin, M. C. (Oct 2011). Transcriptional profile of Parkinson blood mononuclear cells with LRRK2 mutation. *Neurobiol Aging*, 10, 1839-48.
- Najm, J., Horn, D., Wimplinger, I., Golden, J. A., Chizhikov, V. V., . . . Kutsche, K. (Sep 2008). Mutations of CASK cause an X-linked brain malformation phenotype with microcephaly and hypoplasia of the brainstem and cerebellum. *Nat Genet*, 40(9), 1065-7.
- Nakajima, K., Yin, X., Takei, Y., Seog, D. H., Homma, N. & Hirokawa, N. (Dec 2012). Molecular motor KIF5A is essential for GABA(A) receptor transport, and KIF5A deletion causes epilepsy. *Neuron*, 76(5), 945-961.
- Nakashima, M., Saitsu, H., Takei, N., Tohyama, J., Kato, M., . . . Matsumoto, N. (May 2015). Somatic mutations in the MTOR gene cause focal cortical dysplasia type IIb. *Ann Neurol*, 78(3), doi: 10.1002/ana.24444.

- Nava, C., Dalle, C., Rastetter, A., Striano, P., de Kovel, C. G., . . . Depienne, C. (Jun 2014). De novo mutations in HCN1 cause early infantile epileptic encephalopathy. *Nat Genet*, 46(6), 640-5.
- Novara, F., Beri, S., Giorda, R., Ortibus, E., Nageshappa, S., . . . Van Esch, H. (Nov 2010). Refining the phenotype associated with MEF2C haploinsufficiency. *Clin Genet*, 78(5), 471-7.
- Ohba, C., Shiina, M., Tohyama, J., Haginoya, K., Lerman-Sagie, T., . . . Matsumoto, N. (Jun 2015). GRIN1 mutations cause encephalopathy with infantile-onset epilepsy and hyperkinetic and stereotyped movement disorders. *Epilepsia*, 56(6), 841-8.
- Okamura, H. (Oct 2004). Clock genes in cell clocks: roles, actions, and mysteries. *Journal of Biological Rhythms*, 19(5), 388-399.
- Oliver, K. L., Lukic, V., Thorne, N. P., Berkovic, S. F., Scheffer, I. E. & Bahlo, M. (Jul 2014). Harnessing gene expression networks to prioritize candidate epileptic encephalopathy genes. *PLoS One*, doi: 10.1371/journal.pone.0102079. eCollection 2014.
- Olson, H. E., Tambunan, D., LaCoursiere, C., Goldenberg, M., Pinsky, R., . . . Poduri, A. (Sep 2015). Mutations in epilepsy and intellectual disability genes in patients with features of Rett syndrome. *Am J Med Genet A*, 167A(9), 2017-25.
- Oster, H., Damerow, S., Hut, R. A. & Eichele, G. (Oct 2006). Transcriptional profiling in the adrenal gland reveals circadian regulation of hormone biosynthesis genes and nucleosome assembly genes. *Journal of Biological Rhythms*, 21(5), 350-361.
- Ozbas-Gerçeker, F., Gorter, J. A., Redeker, S., Ramkema, M., van der Valk, P., . . . Aronica, E. (Dec 2004). Neutrophin receptor immunoreactivity in the hippocampus of patients with mesial temporal lobe epilepsy. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 30(6), 651-64.
- Pal, D. K. & Greenberg, D. A. (2012). Major Susceptibility Genes for Common Idiopathic Epilepsies: ELP4 in Rolandic Epilepsy and BRD2 in Juvenile Myoclonic Epilepsy. In J. L. Noebels, M. Avoli, M. A. Rogawski, R. W. Olsen & A. V. Delgado-Escueta, *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* (4 Ausg.).
- Passantino, R., Cascio, C., Deidda, I., Galizzi, G., Russo, D., . . . Guarneri, P. (Mar 2013). Identifying protein partners of CLN8, an ER-resident protein involved in neuronal ceroid lipofuscinosis. *Biochim Biophys Acta*, 1833(3), 529-540.
- Penagarikano, O., Abrahams, B. S., Herman, E. I., Winden, K. D., Gdalyahu, A., . . . Geschwind, D. H. (Sep 2011). Absence of CNTNAP2 leads to epilepsy, neuronal migration abnormalities, and core autism-related deficits. *Cell*, 147(1), 235-46.

- Pérez-Duenas, B., Toma, C., Ormazábal, A., Muchart, J., Sanmartí, F., . . . Artuch, R. (Dec 2010). Prograssive ataxia and myoclonic epilepsy in a patient with a homozygous mutation in the FOLR1 gene. *J Inherit Metab Dis*, 33(6), 795-802.
- Pertea, M. & Salzberg, S. L. (May 2010). Between a chicken and a grape: estimating the number of human genes. *Genome Biol*, 11(5), 206.
- Pippucci, T., Parmeggiani, A., Palombo, F., Maresca, A., Angius, A., . . . Carelli, V. (Dec 2013). A novel null homozygous mutation confirms CACNA2D2 as a gene mutated in epileptic encephalopathy. *PLoS One*, 8(12), e82154. doi: 10.1371/journal.pone.0082154.
- Poduri, A., Chopra, S. S., Neilan, E. G., Elhosary, P. C., Kurian, M. A., . . . Kothare, S. V. (Aug 2012). Homozygous PLCB1 deletion associated with malignant migrating partial seizures in infancy. *Epilepsia*, 53(8), e146--150.
- Poduri, A., Heinzen, E. L., Chitsazzadeh, V., Lasorsa, F. M., Elhosary, P. C., . . . Walsh, C. A. (Dec 2013). SLC25A22 is a novel gene for migrating partial seizures in infancy. *Ann Neurol*, 74(6), 873-882.
- Puffenberger, E. G., Jinks, R. N., Sougnez, C., Cibulskis, K., Willert, R. A., . . . Strauss, K. A. (Jan 2012). Genetic mapping and exome sequencing identify variants associated with five novel diseases. *PLoS One*, 7(1), e28936. doi: 10.1371/journal.pone.0028936.
- Puskarjov, M., Seja, P., Heron, S. E., Williams, T. C., Ahmad, F., . . . Kaila, K. (Jun. 2014). A variant of KCC2 from patients with febrile seizures impairs neuronal Cl<sup>-</sup>-extrusion and dendritic spine formation. *EMBO Rep*, 15(6), 723-9.
- Qin, J., Lewis, D. P. & Noble, W. S. (Nov 2003). Kernel hierarchical gene clustering from microarray expression data. *Bioinformatics*, 19(16), 2097-104.
- Ramser, J., Abidi, F. E., Burckle, C. A., Lenski, C., Toriello, H., . . . Nguyen, G. (Apr 2005). A unique exonic splice enhancer mutation in a family with x-linked mental retardation and epilepsy points to a novel role of the renin receptor. *Hum Mol Genet*, 14(8), 1019-27.
- Ratzer, R., Sondergaard, H. B., Christensen, J. R., Biørnsen, L., Borup, R., . . . Sellebjerg, F. (Dec 2013). Gene expression analysis of relapsing-remitting, primary progressive and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*, 19(14), 1841-8.
- Reiss, J. & Johnson, J. L. (Jun 2003). Mutations in the molybdenum cofactor biosynthetic genes MOCS1, MOCS2 and GEPH. *Hum Mutat*, 21(6), 569-76.
- Reynolds, J. J., Walker, A. K., Gilmore, E. C., Walsh, C. A. & Caldecott, K. W. (Aug 2012). Impact of PNKP mutations associated with microcephaly, seizures and

- developmental delay on enzyme activity and DNA strand break repair. *Nucleic Acids Res*, 40(14), 6608-6619.
- Risheg, H., Graham, J. M., Clark, R. D., Rogers, R. C., Opitz, J. M., . . . Friez, M. J. (Apr 2007). A recurrent mutation in MED12 leading to R961W causes Opitz-Kaveggia syndrome. *Nat Genet*, 39(4), 451-3.
- Roger, J., Bureau, M., Dravet, C., Genton, P., Tassinari, C. A. & Wolf, P. (2002). *Epileptic Syndromes in Infancy, Childhood and Adolescence*. UK: John Libbey.
- Rohena, L., Neidich, J., Truitt Cho, M., Gonzales, K. D., Tang, S., . . . Chung, W. K. (Sep 2013). Mutation in SNAP25 as a novel genetic cause of epilepsy and intellectual disability. *Rare Dis*, 1, e26314.
- Roll, P. & Szeptowski, P. (2002). Epilepsy and ionic channels. *Epileptic disorders*, 4(3), 165-172.
- Rosenfeld, J. A., Leppig, K., Ballif, B. C., Thiese, H., Erdie-Lalena, C., . . . Shaffer, L. G. (Nov 2009). Genotype-phenotype analysis of TCF4 mutations causing Pitt-Hopkins syndrome shows increased seizure activity with missense mutations. *Genet Med*, 11(11), 797-805.
- Rozycka, A., Dorszewska, J., Steinborn, B., Lianeri, M., Winczewska-Wiktor, A., . . . Jagodzinski, P. P. (Nov 2013). Association study of the 2-bp deletion polymorphism in exon 6 of the CHRFAM7A gene with idiopathic generalized epilepsy. *DNA Cell Biol.*, 32(11), 640-647.
- Sáez-Hernández, L., Peral, B., Sanz, R., Gómez-Garre, P., Ramos, C., . . . Serratosa, J. M. (Oct 2003). Characterization of a 6p21 translocation breakpoint in a family with idiopathic generalized epilepsy. *Epilepsy Res*, 56(2-3), 155 - 63.
- Saitsu, H., Nishimura, T., Muramatsu, K., Kodera, H., Kumada, S., . . . Matsumoto, N. (Apr 2013). De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. *Nat Genet*, 45(4), 445-9.
- Salzmann, A., Guipponi, M., Lyons, P. J., Fricker, L. D., Sapio, M., . . . Malafosse, A. (Jan 2012). Carboxypeptidase A6 gene (CPA6) mutations in a recessive familial form of febrile seizures and temporal lobe epilepsy and in sporadic temporal lobe epilepsy. *Hum Mutat*, 33(1), 124-35.
- Sander, T. a.-M. (Jul 1997). Allelic association of juvenile absence epilepsy with a GluR5 kainate receptor gene (GRIK1) polymorphism. *Am J Med Genet*, 74(4), 416-21.



- Scheffer, I. E., Harkin, L. A., Grinton, B. E., Dibbens, L. M., Turner, S. J., . . . Berkovic, S. F. (Jan 2007). Temporal lobe epilepsy and GEFS+ phenotypes associated with SCN1B mutations. *Brain*, 130(Pt 1), 100-109.
- Schmitz, B. & Steinhoff, B. J. (2004). Definition / Historisches. In *Epilepsien*. Berlin: Thieme.
- Schossig, A., Wolf, N. I., Kapferer, I., Kohlschütter, A. & Zschocke, J. (May 2012). Epileptic encephalopathy and amelogenesis imperfecta: Kohlschütter-Tönz syndrome. *Eur J Med Genet*, 55(5), 319-22.
- Schott, H. (2004). Medizingeschichten(n): Epilepsie - Heilige Krankheit. *Dtsch Arztebl*, 101(1-2), A-43/B-38/C-38.
- Schubert, J., Siekierska, A., Langlois, M., May, P., Huneau, C., . . . Lerche, H. (Dec 2014). Mutations in STX1B, encoding a presynaptic protein, cause fever-associated epilepsy-syndromes. *Nat Genet*, 46(12), 1327-32.
- Schulte, U., Thumfart, J. O., Klöcker, N., Sailer, C. A., Bildl, W., . . . Fakler, B. (Mar 2006). The epilepsy-linked Lgi1 protein assembles into presynaptic Kv1 channels and inhibits inactivation by Kvbeta1. *Neuron*, 49(5), 697-706.
- Seaver, L. H., He, X. Y., Abe, K., Cowan, T., Enns, G. M., . . . Yang, S. Y. (Nov 2011). A novel mutation in the HSD17B10 gene of a 10-year-old boy with refractory epilepsy, choreoathetosis and learning disability. *PLoS ONE*, 6(11), e27348. doi: 10.1371/journal.pone.0027348.
- Singh, B., Monteil, A., Bidaud, I., Sugimoto, Y., Suzuki, T., . . . Yamakawa, K. (May 2007). Mutational analysis of CACNA1G in idiopathic generalized epilepsy. Mutation brief #962. Online. *Hum Mutat*, 28(5), 524-5.
- Singh, N. A., Pappas, C., Dahle, E. J., Claes, L. R., Pruess, T. H., . . . Leppert, M. F. (Sep 2009). A role of SCN9A in human epilepsies, as a cause of febrile seizures and as a potential modifier of Dravet syndrome. *PLoS Genet*, 5(9), e1000649. doi: 10.1371/journal.pgen.1000649.
- Snead, O. C. (Jan 1996). Antiabsence seizure activity of specific GABAB and gamma-Hydroxybutyric acid receptor antagonists. *Pharmacol Biochem Behav*, 53(1), 73-79.
- Sofou, K., Moslemi, A. R., Kollberg, G., Bjarnadóttir, I., Oldfors, A., . . . Darin, N. (Jul. 2012). Phenotypic and genotypic variability in Alpers syndrome. *Eur J Paediatr Neurol*, 16(4), 379-89.
- Sommer, A., Christensen, E., Schwenger, S., Seul, R., Haas, D., . . . Sass, J. O. (Jun 2011). The molecular basis of aminoacylase 1 deficiency. *Biochim Biophys Acta*, 1812(6), 685 - 90.

- Srivastava, S., Cohen, J., Pevsner, J., Aradhya, S., McKnight, D., . . . Fatemi, A. (Nov 2014). A novel variant in GABRB2 associated with intellectual disability and epilepsy. *Am J Med Genet*, 164A(11), 2914-21.
- Stanford Microarray Database. (2000). <http://smd.princeton.edu/cgi-bin>. Abgerufen am 06. April 2014 von <http://smd.princeton.edu/cgi-bin/source/sourceResult>: <http://smd.princeton.edu/cgi-bin/source/sourceResult>
- Steinlein, O. (Oct 2004). Genetik der idiopathischen Epilepsien. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 152, 1211-1216.
- Steinlein, O. K., Mulley, J. C., Propping, P., Wallace, R. H., Phillips, H. A., . . . Berkovic, S. F. (Oct 1995). A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha 4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. *Nat Genet*, 11(2), S. 201-3.
- Stephen, L. J. & Brodie, M. J. (Apr 2000). Epilepsy in elderly people. *Lancet*, 355(9213), 1441-1446.
- Stogmann, E., Reinthaler, E., Eltawil, S., El Etribi, M. A., Hemeda, M., . . . Zimprich, A. (Apr 2013). Autosomal recessive cortical myoclonis tremor and epilepsy: association with a mutation in the potassium channel associated gene CNTN2. *Brain*, 136 (Pt 4), 1155-60.
- Storey, J. (Jun 2002). A direct approach to false discovery rates. *J R Statist Soc B*, 64, 479-498.
- Sugimoto, Y., Morita, R., Amano, K., Fong, C. Y., Shah, P. U., . . . Yamakawa, K. (Sep 2000). Childhood absence epilepsy in 8q24: refinement of candidate region and construction of physical map. *Genomics*, 68(3), 264-72.
- Suls, A., Mullen, S. A., Weber, Y. G., Verhaert, K., Ceulemans, B., . . . Scheffer, I. E. (Sep 2009). Early-onset absence epilepsy caused by mutations in the glucose transporter GLUT1. *Ann Neurol*, 66(3), 415-9.
- Swoboda, K. J., Kanavakis, E., Xaidara, A., Johnson, J. E., Leppert, M. F., . . . Youroukos, S. (Jun 2004). Alternating hemiplegia of childhood or familial hemiplegic migraine? A novel ATP1A2 mutation. *Ann Neurol*, 55(6), 884-7.
- Syrbe, S., Hedrich, U. B., Riesch, E., Djémié, T., Müller, S., . . . Lemke, J. R. (Apr 2015). De novo loss- or gain-of-function mutations in KCNA2 cause epileptic encephalopathy. *Nat Genet*, 47(4), 393-9.
- Tenney, J. R. & Glauser, T. A. (May 2013). The Current State of Absenc Epilepsy: Can We Have Your Attention? *Epilepsy Curr*, 13(3), 135-140.

- Teocchi, M. A., Ferreira, A. É., da Luz de Oliveira, E. P., Tedeschi, H. & D'Souza-Li, L. (May 2013). Hippocampal gene expression dysregulation of Klotho, nuclear factor kappa B and tumor necrosis factor in temporal lobe epilepsy patients. *J Neuroinflammation*, 10, 53. doi: 10.1186/1742-2094-10-53.
- Thierry, G., Bénéteau, C., Pichon, O., Flori, E., Isidor, B., . . . Le Caignec, C. (Jul 2012). Molecular characterization of 1q44 microdeletion in 11 patients reveals three candidate genes for intellectual disability and seizures. *Am J Med Genet A*, 158A(7), 1633-40.
- Tohyama, J., Nakashima, M., Nabatame, S., Gaik-Siew, C., Miyata, R., . . . Saito, H. (Apr 2015). SPTAN1 encephalopathy: distinct phenotypes and genotypes. *J Hum Genet*, 60(4), 167-73.
- Toone, J. R., Applegarth, D. A., Coulter-Mackie, M. B. & James, E. R. (Jun 2000). Biochemical and molecular investigations of patients with nonketotic hyperglycinemia. *Mol Genet Metab*, 70(2), 116-21.
- Torkamani, A., Bersell, K., Jorge, B. S., Bjork, R. L., Friedmann, J. R., . . . Kearney, J. A. (Oct 2014). De novo KCNB1 mutations in epileptic encephalopathy. *Ann Neurol*, 76(4), 529-40.
- Trojborg, W. (Apr 1992). EEG abnormalities in 5,893 jet pilot applicants registered in a 20-year period. *Clin Electroencephalogr*, 23(2), 72-8.
- Turnbull, J., Lohi, H., Kearney, J. A., Rouleau, G. A., Delgado-Escueta, A. V., . . . Minassian, B. A. (Oct 2005). Sacred disease secrets revealed: the genetics of human epilepsy. *Hum Mol Genet*, 14, 2491 - 500.
- Turner, G., Partington, M., Kerr, B., Mangelsdorf, M. & Gecz, J. (Nov 2002). Variable expression of mental retardation, autism, seizures and dystonic hand movements in two families with an identical ARX gene mutation. *Am J Med Genet*, 112(4), 405-11.
- Tusher, V. G., Tibshirani, R. & Chu, G. (Apr 2001). Significance analysis of microarrays applied to the ionizing radiation response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98(9), 5116-5121.
- Vantaggiato, C., Redaelli, F., Falcone, S., Perrotta, C., Tonelli, A., . . . Bassi, M. T. (Jul 2009). A novel CLN8 mutation in late-infantile-onset neuronal ceroid lipofuscinosis (LINCL) reveals aspects of CLN8 neurobiological function. *Hum Mutat*, 30(7), 1104-16.
- Veeramah, K. R., Johnstone, L., Karafet, T. M., Wolf, D., Sprissler, R., . . . Hammer, M. F. (Jul 2013). Exome sequencing reveals new causal mutations in children with epileptic encephalopathy. *Epilepsia*, 54(7), 1270-81.

- Veeramah, K. R., O'Brien, J. E., Meisler, M. H., Cheng, X., Dib-Hajj, S. D., . . . Hammer, M. F. (Mar 2012). De novo pathogenic SCN8A mutation identified by whole-genome sequencing of a family quartet affected by infantile epileptic encephalopathy and SUDEP. *Am J Hum Genet*, 90(3), 502-10.
- Vitko, I., Bidaud, I., Arias, J. M., Mezghrani, A., Lory, P. & Perez-Reyes, E. (Jan 2007). The I-II loop controls plasma membrane expression and gating of Ca(v)3.2 T-type Ca<sup>2+</sup> channels: a paradigm for childhood absence epilepsy mutations. *J Neurosci*, 27(2), 322-330.
- Wagenstaller, J., Spranger, S., Lorenz-Depiereux, B., Kazmierczak, B., Nathrath, M., . . . Strom, T. M. (Oct 2007). Copy-number variations measured by single-nucleotide polymorphism oligonucleotide arrays in patients with mental retardation. *Am J Hum Genet*, 81(4), 768-79.
- Walburg, J. (2002). *Visualisierung in der Bioinformatik am Beispiel von Microarrays*. Diplomarbeit, Fachbereich Informatik der Fachhochschule Heidelberg.
- Weaving, L. S., Cristodoulou, J., Williamson, S. L., Friend, K. L., McKenzie, O. L., . . . Gécz, J. (Dec 2004). Mutations of CDKL5 cause a severe neurodevelopmental disorder with infantile spasms and mental retardation. *Am J Hum Genet*, 75(6), 1079-93.
- Wetmur, J. G. (1991). DNA probes: applications of the principles of nucleic acid hybridization. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 26(3-4), 227-259.
- Williams, S. R., Aldred, M. A., Der Kaloustian, V. M., Halal, F., Gowans, G., . . . Elsea, S. H. (Aug 2010). Haploinsufficiency of HDAC4 causes brachydactyly mental retardation syndrome, with brachydactyly type E, developmental delays, and behavioral problems. *Am J Hum Genet*, 87(2), 219-28.
- Wolff, D., Endele, S., Azzarello-Burri, S., Hoyer, J., Zweier, M., . . . Zweier, C. (Apr 2012). In-frame deletion and missense mutations of the c-terminal helicase domain of SMARCA2 in three patients with Nicolaides-Baraitser syndrome. *Mol Syndromol*, 2(6), 237-244.
- Wu, Y., Arai, A. C., Rumbaugh, G., Srivastava, A. K., Turner, G., . . . Wang, T. (Nov 2007). Mutations in ionotropic AMPA receptor 3 alter channel properties and are associated with moderate cognitive impairment in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(46), 18163 - 8.
- Xi, B., Chen, J., Yang, L., Wang, W., Fu, M. & Wang, C. (Sep 2011). GABBR1 gene polymorphism (G1465A) is associated with temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Res*, 96(1-2), 58-63.

- Xie, H., Zhang, Y., Zhang, P., Wang, J., Wu, Y., . . . Jiang, Y. (Oct 2014). Functional study of NIPA2 mutations identified from the patients with childhood absence epilepsy. *PLoS One*, 9(10), e109749. doi: 10.1371/journal.pone.0109749.
- Yagi, H., Takamura, Y., Yoneda, T., Konno, D., Akagi, Y., . . . Sato, M. (Jan 2005). VLGR1 knockout mice show audiogenic seizure susceptibility. *J Neurochem*, 92(1), 191-202.
- Yu, J., Baybis, M., Lee, A., McKhann, G. 2., Chugani, D., . . . Crino, P. B. (Jul 2005). Targeted gene expression analysis in hemimegacephaly: activation of beta-catenin signaling. *Brain Pathol*, 15(3), 179-86.
- Yuan, H., Hansen, K. B., Zhang, J., Pierson, T. M., Markello, T. C., . . . Traynelis, S. F. (2014). Functional analysis of a de novo GRIN2A missense mutation associated with early-onset epileptic encephalopathy. *Nat Commun*, 5, 3251. doi: 10.1038/ncomms4251.
- Zeng, W. Q., Al-Yamani, E., Acierno, J. S., Slauchaupt, S., Gillis, T., . . . Gusella, J. F. (Jul 2005). Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SLC19A3. *Am J Hum Genet*, 77(1), 16-26.
- Zhang, L., Bartley, C. M., Gong, X., Hsieh, L. S., Lin, T. V., . . . Bordey, A. (Oct 2014). MEK-ERK1/2-dependent FLNA overexpression promotes abnormal dendritic patterning in tuberous sclerosis independent of mTOR. *Neuron*, 84(1), 78-91.
- Zou, Y., Liu, Q., Chen, B., Zhang, X., Guo, C., . . . Gong, Y. (Mar 2007). Mutation in CUL4B, which encodes a member of cullin-RING ubiquitin ligase complex, causes X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet*, 80(3), 561-6.

## 9 Anhang

Abbildung 20: Standardisierter Fragebogen für die Kontrollgruppe zum Ausschluss paroxysmaler Erkrankungen

**UNTERSUCHUNG AUF VERÄNDERUNGEN DER ERBSUBSTANZ (MUTATIONEN UND ANDEREN VERÄNDERUNGEN  
VON GENEN) BEI PATIENTEN MIT EPILEPSIE UND EPILEPSIETYPISCHEN VERÄNDERUNGEN DES  
ELEKTROENZEPHALOGRAMMS IM VERGLEICH MIT KONTROLLPERSONEN  
BEFRAGUNG KONTROLLPERSONEN**

Liebe Patienten, liebe Eltern,

2007

Sie haben der Teilnahme bei Unserer Studie zur Erforschung der Genetik von paroxysmalen Erkrankungen zugestimmt. Dafür möchten wir Ihnen jetzt schon danken. Um optimale Ergebnisse zu gewährleisten müssen wir bestmöglich aufschließen, daß bei Ihnen / Ihrem Kind eine Veranlagung für eine paroxysmale Erkrankung vorliegt. Dazu müssten sie den folgenden Fragebogen bitte sorgfältig ausfüllen.

**1. Ist bei Ihnen / Ihrem Kind eine Erkrankung des Nervensystems festgestellt worden?**

- Ja  Nein

Wenn ja, welche?

- Migräne  
 Krampfleiden (Epilepsie)  
 Schüttellähmung (M. Parkinson)  
 Zittern (essentieller Tremor)  
 Schlaganfall  
 Sonstige: \_\_\_\_\_

**2. Gab oder gibt es schwere Erkrankungen in Ihrer Familie?**

- Ja  Nein

Wenn ja, um welche Erkrankung handelt es sich und wer ist erkrankt? (Wichtig ist das Verwandtschaftsverhältnis zum Kind)

Angehöriger	Erkrankung

**Tabelle 9: Gene im Zusammenhang mit verschiedenen Epilepsie-Erkrankungen.  
Bei Zusammenhang mit Absence-Epilepsie sind die Felder grau hinterlegt.**

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>ABCB1</i>	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP) member 1	mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis	(Balan et al., 2014)
<i>ACY1</i>	aminoacylase 1	aminoacylase-1-deficiency	(Sommer et al., 2011)
<i>ADAR</i>	adenosine deaminase, RNA-specific	EOAE, CAE	(Muhle et al., 2010)
<i>ADSL</i>	adenylosuccinate lyase	adenylosuccinate lyase deficiency	(Marie et al., 1999)
<i>ALDH7A1</i>	aldehyde dehydrogenase 7 family, member A1	pyridoxine-dependent seizures	(Mills et al., 2006)
<i>ALG13</i>	ALG13, UDP-N-acetylglucosaminyltransferase subunit	epileptic encephalopathy	(Allen et al., 2013)
<i>AMACR</i>	alpha-methylacyl-CoA racemase	alpha-methylacyl-coa racemase deficiency	(Ferdinandusse et al., 2000)
<i>AMT</i>	aminomethyltransferase	non-ketotic hyperglycemia	(Toone et al., 2000)
<i>ARHGEF9</i>	Cdc42 guanine nucleotide exchange factor (GEF) 9	epileptic encephalopathy, early infantile, 8	(Harvey et al., 2004)
<i>ARX</i>	aristaless related homeobox	epileptic encephalopathy, early infantile, 1	(Turner et al., 2002)
<i>ASPM</i>	asp (abnormal spindle) homolog, microcephaly associated (drosophila)	primary autosomal recessive microcephaly	(Mochida, 2005)
<i>ATP1A2</i>	ATPase, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> transporting, alpha 2 polypeptide	alternating hemiplegia of childhood 1	(Swoboda et al., 2004)
<i>ATP1A3</i>	ATPase, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> transporting, alpha 3 polypeptide	dystonia 12, alternating hemiplegia of childhood 2	(Li et al., 2015)
<i>ATP6AP2</i>	ATPase, H <sup>+</sup> transporting, lysosomal accessory protein 2	x-linked mental retardation with epilepsy	(Ramser et al., 2005)
<i>ATRX</i>	alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked	alpha-thalassemia mental retardation syndrome, x-linked	(Fichera et al., 1998)
<i>BDNF</i>	brain-derived neurotrophic factor opposite strand	epilepsy	(Bregola et al., 2000)
<i>BRAT1</i>	BRCA1-associated ATM activator 1	rigidity and multifocal seizure syndrome, lethal neonatal	(Puffenberger et al., 2012)
<i>BRD2</i>	Bromodomain containing 2	juvenile myoclonic epilepsy	(Delgado-Escueta et al., 2013)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>CACNA1A</i>	calcium channel, voltage-dependent, P/Q type, alpha 1A subunit	epileptic encephalopathy with mild cerebellar symptoms	(Damai et al., 2015)
<i>CACNA1G</i>	Voltage-sensitive calcium channel	IGE	(Singh et al., 2007)
<i>CACNA1H</i>	calcium channel, voltage-dependent, T type, alpha 1H subunit	CAE	(Lü et al., 2005)
<i>CACNA2D2</i>	voltage-dependent calcium channel, alpha 2/delta subunit 2	epileptic encephalopathy	(Pippucci et al., 2013)
<i>CACNB4</i>	calcium channel, voltage-dependent, beta 4 subunit	epilepsy, idiopathic generalized 9; juvenile myoclonic epilepsy 6	(Escayg et al., 2000)
<i>CACNG3</i>	voltage-dependant calcium channel, gamma 3 subunit	CAE	(Everett et al., 2007)
<i>CASK</i>	calcium/calmodulin-dependent serine protein kinase (MAGUK family)	mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia	(Najm et al., 2008)
<i>CASR</i>	calcium-sensing receptor	epilepsy, idiopathic generalized 8	(Kapoor et al., 2008)
<i>CCND1</i>	cyclin D1	hemimegacephaly	(Yu et al., 2005)
<i>CDKL5</i>	cyclin-dependent kinase-like 5	epileptic encephalopathy, early infantile, 2	(Weaving et al., 2004)
<i>CHD2</i>	chromodomain helicase DNA binding protein 2	epileptic encephalopathy, childhood-onset	(Carvill et al., 2013)
<i>CHRM3</i>	muscarinic cholinergic receptor	generalized inherited epilepsy	(EPICURE Consortium; EMINet Consortium, 2012)
<i>CHRNA2</i>	neuronal nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) alpha4-subunit	ADNFLE	(Chen et al., 2009)
<i>CHRNA4</i>	neuronal nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) alpha4-subunit	ADNFLE, sporadic NFLE	(Faheem et al., 2015)
<i>CHRNA7</i>	neuronal nicotinic acetylcholine receptor	centrotemporal spikes and sharp waves, benign rolandic epilepsy	(Rozycka et al., 2013)
<i>CHRN2</i>	neuronal nACh-R subunit beta 2	ADNFLE	(Díaz-Otero et al., 2008)
<i>CLCN1</i>	chloride channel 1	sporadic epilepsy	(Chen et al., 2013)
<i>CLCN2</i>	chloride channel 2	CAE, sporadic epilepsy	(Combi, 2009)
<i>CLN8</i>	Ceroid Lipofuscinosis, neuronal 8	progressive epilepsy and mental retardation (EPMR), neuronal ceroid lipofuscinosis	(Vantaggiato et al., 2009)



<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>CNKSR2</i>	connector enhancer of kinase suppressor of Ras 2	non-syndromic X-linked intellectual disability	(Houge et al., 2012)
<i>CNTN2</i>	contactin 2 (axonal)	autosomal recessive cortical myoclonic tremor and epilepsy	(Stogmann et al., 2013)
<i>CNTNAP2</i>	contactin associated protein-like 2	epilepsy	(Penagarikano et al., 2011)
<i>COX20</i>	COX20 cytochrome c oxidase assembly factor	intellectual disability, seizures	(Thierry et al., 2012)
<i>CPA6</i>	carboxypeptidase A6	epilepsy, familial temporal lobe, 5; febrile seizures, familial, 11	(Salzmann et al., 2012)
<i>CPT2</i>	carnitine palmitoyltransferase 2	influenza-associated epilepsy	(Chen et al., 2005)
<i>CREB</i>	cAMP responsive element binding protein 1	hemimegacephaly	(Yu et al., 2005)
<i>CUL4B</i>	cullin 4B	mental retardation, x-linked, syndromic, 15	(Zou et al., 2007)
<i>DCX</i>	doublecortin	TLE in patients with hippocampal sclerosis	(D'Alessio et al., 2010)
<i>DEPDC5</i>	DEP domain containing 5	epilepsy, familial focal, with variable foci	(Ishida et al., 2013)
<i>DNM1</i>	dynamamin 1	epileptic encephalopathies	(EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium, 2014)
<i>ECA1</i>	epilepsy, childhood absence 1	CAE with tonic-clonic seizures	(Sugimoto et al., 2000)
<i>EEF1A2</i>	eukaryotic translation elongation factor 1 alpha 2	epilepsy	(Faheem et al., 2015)
<i>EFHC1</i>	EF-hand domain (C-terminal) containing 1	JME	(Delgado-Escueta et al., 2013)
<i>EGR1</i>	early growth response 1 (immediate early gene)	idiopathic absence epilepsy	(Helbig et al., 2008)
<i>ELP4</i>	subunit of the rna polymerase II elongator complex	rolandic epilepsy	(Pal & Greenberg, 2012)
<i>FASN</i>	fatty acid synthase	epileptic encephalopathies	(EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium, 2014)
<i>FBXO33</i>	F-box protein 33	seizure responsive genes in mice (TV)	(Flood, 2004)
<i>FGF2</i>	fibroblast growth factor 2 (basic)	epileptogenesis	(Bregola et al., 2000)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>FLNA</i>	filamin A, alpha (actin binding protein 280)	tuberous sclerosis	(Zhang et al., 2014)
<i>FOLR1</i>	folate receptor 1 (adult)	progressive ataxia, myoclonic epilepsy	(Pérez-Duenas et al., 2010)
<i>FOXP1</i>	forkhead box G1	congenital Rett syndrome	(Bahi-Buisson, 2013)
<i>GABBR1</i>	gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor, 1	TLE	(Xi et al., 2011)
<i>GABBR2</i>	gamma-aminobutyric acid (GABA) B receptor, 2	epileptic encephalopathies	(EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium, 2014)
<i>GABRA1</i>	GABA(A) receptor alpha 1 subunit	CAE, JME, Dravet syndrome	(Delgado-Escueta et al., 2013)
<i>GABRA5</i>	gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, alpha 5	neurological disorder	(Srivastava et al., 2014)
<i>GABRB3</i>	GABA(A) receptor beta 3 subunit	epileptic encephalopathy	(Allen et al., 2013)
<i>GABRD</i>	GABA (A) receptor, delta	JME	(Delgado-Escueta et al., 2013)
<i>GABRG2</i>	GABA(A) receptor gamma2 subunit gene	GEFS+, Dravet syndrome	(Ishii et al., 2014)
<i>GABRG3</i>	gamma-aminobutyric acid (GABA) A receptor, gamma 3	epilepsy	(Faheem et al., 2015)
<i>GAMT</i>	guanidinoacetate N-methyltransferase	cerebral creatine deficiency syndrome 2	(Dhar et al., 2009)
<i>GATM</i>	glycine amidinotransferase (L-arginine:glycine amidinotransferase)	cerebral creatine deficiency syndrome 3	(Item et al., 2001)
<i>GCSH</i>	glycine cleavage system protein H (aminomethyl carrier)	non-ketotic hyperglycinemia	(Kure et al., 2006)
<i>GLDC</i>	glycine dehydrogenase (decarboxylating)	non-ketotic hyperglycinemia	(Kure et al., 2006)
<i>GLT1</i>	glial glutamate transporters	lowered in rats with absence epilepsy (TV)	(Dutuit et al., 2002)
<i>GNAO1</i>	guanine nucleotide binding protein (G protein), alpha activating activity polypeptide O	epileptic encephalopathies	(Oliver et al., 2014)
<i>GPHN</i>	gephyrin	molybdenum cofactor deficiency, complementation group c	(Reiss & Johnson, 2003)
<i>GPR56</i>	G protein-coupled receptor	bilateral frontoparietal polymicrogyria	(Mochida, 2005)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>GRIA2</i>	glutamate receptor	downregulated after seizure	(Huang et al., 2002)
<i>GRIA3</i>	glutamate receptor, ionotropic, AMPA 3	mental retardation, x-linked 94	(Wu et al., 2007)
<i>GRIK1</i>	glutamate receptor, ionotropic, kainate 1	JAE	(Sander, 1997)
<i>GRIN1</i>	glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 1	infantile-onset epilepsy	(Ohba et al., 2015)
<i>GRIN2A</i>	glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2A	early-onset epileptic encephalopathy	(Yuan et al., 2014)
<i>GRIN2B</i>	glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate 2B	epileptic encephalopathy	(Oliver et al., 2014)
<i>HCN1</i>	hyperpolarization activated cyclic nucleotide-gated potassium channel 1	epileptic encephalopathy, early infantile, 24	(Nava et al., 2014)
<i>HDAC4</i>	histone deacetylase 4	brachydactyly-mental retardation syndrome	(Williams et al., 2010)
<i>HMGB1</i>	dna binding protein	febrile seizures	(Choi et al., 2011)
<i>HNRNPU</i>	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U (scaffold attachment factor A)	intellectual disability, seizures	(Thierry et al., 2012)
<i>HSD17B10</i>	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10	2-methyl-3-hydroxybutyryl-coa dehydrogenase deficiency	(Seaver et al., 2011)
<i>IFIH1</i>	interferon induced with helicase C domain 1	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>IQSEC2</i>	IQ motif and Sec7 domain 2	neurodevelopmental disorder	(Olson et al., 2015)
<i>KCNA1</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 1	myokymia with periodic ataxia	(Eunson et al., 2000)
<i>KCNA2</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 2	epileptic encephalopathy	(Syrbe et al., 2015)
<i>KCNAB2</i>	potassium voltage-gated channel	epilepsy in patients with 1p36 deletion syndrome	(Heilstedt et al., 2001)
<i>KCNB1</i>	potassium voltage-gated channel, Shab-related subfamily, member 1	early onset epileptic encephalopathy	(Torkamani et al., 2014)
<i>KCNH5</i>	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 5	epileptic encephalopathy	(Veeramah et al., 2013)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>KCNJ10</i>	potassium channel, inwardly rectifying subfamily J, member 10	idiopathic generalized epilepsy and generalized tonic-clonic seizures in childhood	(Dai et al., 2015)
<i>KCNMA1</i>	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, alpha member 1	generalized epilepsy and paroxysmal dyskinesia	(Du et al., 2005)
<i>KCNQ2</i>	potassium channel, voltage gated KQT-like subfamily Q, member 2	early-onset epileptic encephalopathy	(Miceli et al., 2015)
<i>KCNQ3</i>	potassium channel, voltage gated KQT-like subfamily Q, member 3	early-onset epileptic encephalopathy	(Miceli et al., 2015)
<i>KCNT1</i>	potassium channel, sodium activated subfamily T, member 1	severe autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy	(Heron et al., 2012)
<i>KCTD7</i>	potassium channel tetramerization domain containing 7	progressive myoclonus epilepsy	(Kousi et al., 2012)
<i>KDM5C</i>	lysine (K)-specific demethylase 5C	mental retardation, x-linked, syndromic, claes-jensen type	(Jensen et al., 2005)
<i>KIF5A</i>	lysine (K)-specific demethylase 5C	epilepsy in mice (TV)	(Nakajima et al., 2012)
<i>KL</i>	klotho	temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis	(Teocchi et al., 2013)
<i>LGI1</i>	leucine-rich, glioma inactivated 1 (Epitempin)	ADLTE (autosomal dominant lateral temporal lobe epilepsy)	(Dazzo et al., 2015)
<i>LGI4</i>	leucine-rich repeat LGI family, member 4	CAE, BNFC	(Gu et al., 2004)
<i>MAGI2</i>	membrane associated guanylate kinase, WW and PDZ domain containing 2	early-onset epileptic encephalopathy	(Mastrangelo & Leuzzi, 2012)
<i>MBD5</i>	methyl-CpG binding domain protein 5	mental retardation, autosomal dominant 1	(Wagenstaller et al., 2007)
<i>ME2</i>	malic enzyme 2, NAD(+)-dependent, mitochondrial	JME	(Delgado-Escueta et al., 2013)
<i>MECP2</i>	methyl-CpG-binding protein 2	Rett syndrome	(Bahi-Buisson, 2013)
<i>MED12</i>	mediator complex subunit 12	Opitz-Kaveggia syndrome	(Risheg et al., 2007)
<i>MEF2C</i>	myocyte enhancer factor 2C	severe mental retardation, epilepsy	(Novara et al., 2010)
<i>MOCS1</i>	molybdenum cofactor synthesis 1	molybdenum cofactor deficiency, complementation	(Reiss & Johnson, 2003)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>MOCS2</i>	molybdenum cofactor synthesis 2	molybdenum cofactor deficiency, complementation group b	(Reiss & Johnson, 2003)
<i>MRP8</i>	ATP-binding cassette transporter MRP8	mesial temporal lobe epilepsy	(Gan et al., 2014)
<i>MTHFR</i>	methylenetetrahydrofolate reductase (NAD(P)H)	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency	(D'Aco et al., 2014)
<i>MTOR</i>	mechanistic target of rapamycin (serine/threonine kinase)	intractable epilepsy in FCD	(Nakashima et al., 2015)
<i>NFKB1</i>	pleiotropic transcription factor	temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis	(Teocchi et al., 2013)
<i>NIPA2</i>	non imprinted in Prader-Willi/Angelman syndrome 2	CAE	(Xie et al., 2014)
<i>NPAS4</i>	transcriptional regulator	seizure responsive gene in mice	(Flood, 2004)
<i>NRXN1</i>	neurexin 1	autism, intellectual disability, epilepsy	(Imitola et al., 2014)
<i>OPHN1</i>	oligophrenin 1	mental retardation, x-linked, syndromic with epilepsy	(Bergmann et al., 2003)
<i>PAK3</i>	p21 protein (Cdc42/Rac)-activated kinase 3	intellectual disability	(Baker et al., 2015)
<i>PCDH19</i>	protocadherin 19	non-syndromic infantile epileptic encephalopathy	(Kwong et al., 2015)
<i>PGK1</i>	phosphoglycerate kinase 1	chronic haemolytic anaemia and neurological dysfunction	(Flanagan et al., 2006)
<i>PHF6</i>	PHD finger protein 6	boerjeson-forssman-lehmann syndrome	(Lower et al., 2002)
<i>PIGA</i>	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class A	early-onset epileptic encephalopathy	(Kato et al., 2014)
<i>PIGQ</i>	glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchor biosynthesis	Ohtahara Syndrom	(Martin et al., 2014)
<i>PLCB1</i>	intracellular transduction of many extracellular signals	MMPSI (malignant migrating partial seizures in infancy)	(Poduri et al., 2012)
<i>PNKP</i>	polynukleotid-Kinase-3'-phosphatase	microcephaly with early-onset, intractable seizures and developmental delay (MCSZ)	(Reynolds et al., 2012)
<i>PNPO</i>	pyridox(am)ine-5-phosphat-oxidase	pyridoxine-responsive infantile epilepsy	(Mills et al., 2014)
<i>POLG1</i>	polymerase (DNA directed), gamma	mitochondrial epilepsy	(Sofou et al., 2012)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>PPDPF</i>	pancreatic progenitor cell differentiation and proliferation factor	epilepsy	(Faheem et al., 2015)
<i>PRNP</i>	prion protein	mild TLE in women	(Labate et al., 2007)
<i>PRRT2</i>	transmembrane protein	benign familial infantile convulsions	(de Vries et al., 2012)
<i>PURA</i>	purine-rich element binding protein A	severe phenotype of 5q31.3 microdeletion syndrome	(Lalani et al., 2014)
<i>RAB39B</i>	RAB39B, member RAS oncogene family	mental retardation, associated with autism, epilepsy and macrocephaly	(Giannandrea et al., 2010)
<i>RAGE</i>	receptor for advanced glycosylation end products	TLE	(Iori et al., 2013)
<i>RBFOX1</i>	RNA binding protein, fox-1 homolog ( <i>C. elegans</i> ) 1	rolandic epilepsy, IGE	(Lal et al., 2013)
<i>RBFOX3</i>	RNA binding protein, fox-1 homolog ( <i>C. elegans</i> ) 3	rolandic epilepsy, IGE	(Lal et al., 2013)
<i>RCN2</i>	calcium-binding protein	absence epilepsy	(Helbig et al., 2008)
<i>RNASEH2A</i>	ribonuclease H2, subunit A	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>RNASEH2B</i>	ribonuclease H2, subunit B	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>RNASEH2C</i>	ribonuclease H2, subunit C	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>ROGDI</i>	rogdi homolog ( <i>Drosophila</i> )	Kohlschuetter-Toenz syndrome	(Schossig et al., 2012)
<i>RTN4</i>	reticulon 4	mesial TLE	(Bandtlow et al., 2004)
<i>RYR3</i>	ryanodine receptor 3	epileptic encephalopathies	(EuroEPINOMICS-RES Consortium; Epilepsy Phenome/Genome Project; Epi4K Consortium, 2014)
<i>SAMHD1</i>	SAM domain and HD domain 1	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>SCN1A</i>	voltage-gated sodium-channel	GEFS+, Dravet syndrome, myoclonus-epilepsy	(Lemke et al., 2012)
<i>SCN1B</i>	voltage-gated sodium-channel	GEFS+, TLE	(Scheffer et al., 2007)
<i>SCN2A</i>	voltage-gated sodium-channel	epilepsy	(Lemke et al., 2012)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
SCN2B	voltage-gated sodium-channel	epilepsy	(Baum et al., 2014)
SCN8A	sodium channel, voltage gated, type VIII, alpha subunit	epileptic encephalopathy, early infantile, 13	(Veeramah et al., 2012)
SCN9A	sodium channel, voltage-gated, type IX, alpha subunit	febrile seizures, IGE	(Singh et al., 2009)
SLC12A5	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporter), member	febrile seizures	(Puskarjov et al., 2014)
SLC19A3	solute carrier family 19 (thiamine transporter), member 3	thiamine metabolism dysfunction syndrome 2, biotin- or thiamine-responsive type	(Zeng et al., 2005)
SLC1A1	solute carrier family 1, member 1	epilepsy	(Bianchi et al., 2014)
SLC1A3	solute carrier family 1, member 3	seizures	(Jen et al., 2005)
SLC25A22	solute carrier family 25, member 22	migrating partial seizures in infancy	(Poduri et al., 2013)
SLC2A1	solute carrier family 2, member 1	early-onset absence epilepsy	(Suls et al., 2009)
SLC35A2	solute carrier family 35 (UDP-galactose transporter), member A2	early-onset epileptic encephalopathy	(Kodera et al., 2013)
SLC35A3	solute carrier family 35 (UDP-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) transporter), member A3	arthrogryposis, mental retardation, and seizures	(Edvardson et al., 2013)
SLC6A1	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 1	epilepsy with myoclonic-atonic seizures	(Carvill et al., 2015)
SLC6A8	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter), member 8	cerebral creatine deficiency syndrome 1	(Hahn et al., 2002)
SLC9A6	solute carrier family 9, subfamily A (NHE6, cation proton antiporter 6), member 6	mental retardation, x-linked, syndromic, christianson type	(Gilfillan et al., 2008)
SMARCA2	SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily a, member 2	Nicolaidis-Baraitser syndrome	(Wolff et al., 2012)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>SMS</i>	spermine synthase	x-linked syndromic mental retardation Snyder-Robinson type	(Cason et al., 2003)
<i>SNAP25</i>	synaptosomal-associated protein, 25kDa	epilepsy, intellectual disability	(Rohena et al., 2013)
<i>SOX1</i>	SRY (sex determining region Y)-box 1	epilepsy (TV)	(Malas et al., 2003)
<i>SPTAN1</i>	spectrin, alpha, non-erythrocytic 1	epileptic encephalopathy	(Tohyama et al., 2015)
<i>ST3GAL3</i>	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 3	West syndrome	(Edvardson et al., 2013)
<i>ST3GAL5</i>	ST3 beta-galactoside alpha-2,3-sialyltransferase 5	salt & pepper syndrome	(Boccutto et al., 2014)
<i>STX1B</i>	syntaxin 1B	fever-associated epilepsy syndromes	(Schubert et al., 2014)
<i>STXBP1</i>	syntaxin-binding protein 1	Dravet-syndrome, Ohtahara-syndrome	(Carvill et al., 2014)
<i>SV2A</i>	synaptic vesicle glycoprotein 2A	mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis	(Crèvecoeur et al., 2014)
<i>SV2B</i>	synaptic vesicle glycoprotein 2B	mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis	(Crèvecoeur et al., 2014)
<i>SV2C</i>	synaptic vesicle glycoprotein 2C	mesial temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis	(Crèvecoeur et al., 2014)
<i>SYN1</i>	synapsin I	epilepsy, learning difficulties	(Garcia et al., 2004)
<i>SYNGAP1</i>	synaptic Ras GTPase activating protein 1	mental retardation, autosomal dominant 5	(Carvill et al., 2013)
<i>SZT2</i>	seizure threshold 2 homolog (mouse)	epileptic encephalopathy, early infantile, 18	(Basel-Vangaite et al., 2013)
<i>TBC1D24</i>	TBC1 domain family, member 24	early-onset epileptic encephalopathy, MMPSI	(Milh et al., 2013)
<i>TCF4</i>	transcription factor 4	Pitt-Hopkins syndrome	(Rosenfeld et al., 2009)
<i>TLR4</i>	toll-like receptor 4	mesial temporal lobe epilepsy	(Gan et al., 2014)
<i>TNF</i>	tumor necrosis factor	temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis	(Teocchi et al., 2013)
<i>TREX1</i>	three prime repair exonuclease 1	Aicardi-Goutières syndrome	(Cuadrado et al., 2015)
<i>TSC1</i>	tuberous sclerosis 1	tuberous sclerosis 1	(Crino & Henske, 1999)
<i>TSC2</i>	tuberous sclerosis 2	tuberous sclerosis 2	(Crino & Henske, 1999)



<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>medizinische Relevanz</b>	<b>Quelle</b>
<i>UBE2A</i>	ubiquitin-conjugating enzyme E2A	UBE2A deficiency syndrome	(de Leeuw et al., 2010)
<i>UBE3A</i>	ubiquitin protein ligase E3A	Angelman syndrome	(Kuroda et al., 2014)
<i>UBR5</i>	ubiquitin protein ligase E3 component n-recognin 5	familial adult myoclonic epilepsy	(Kato et al., 2012)
<i>VLGR1</i>	G-protein coupled receptor	audiogenic seizure susceptibility (TV)	(Yagi et al., 2005)
<i>VRK2</i>	vaccinia related kinase 2	genetic generalized epilepsy	(EPICURE Consortium; EMINet Consortium, 2012)
<i>WDR45</i>	WD repeat domain 45	static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA)	(Saito et al., 2013)
<i>ZEB2</i>	zinc finger/homeodomain protein	genetic generalized epilepsy	(EPICURE Consortium; EMINet Consortium, 2012)

**Tabelle 10: Gene aus der Recherche-Liste, deren Expression in Blut und Gehirn bislang nachgewiesen wurde.  
Bei bekanntem Zusammenhang mit einer neurologischen Erkrankung ist das Feld grau hinterlegt.**

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
ABCA10	ATP-binding cassette, sub-family A, member 10	
ABCA13	ATP-binding cassette, sub-family A, member 13	high density lipoprotein deficiency type 1 + 2
ABCA2	ATP-binding cassette, sub-family A, member 2	
ABCA3	ATP-binding cassette, sub-family A, member 3	respiratory distress syndrome
ABCA7	ATP-binding cassette, sub-family A, member 7	Sjögren syndrome
ABCB1	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1 (P-Glykoprotein)	drug-resistant epilepsy
ABCB10	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 10	
ABCB11	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 11	progressive familial intrahepatic cholestasis type II
ABCB2	transporter 1, ATP binding cassette, sub-family B	mesial temporal lobe epilepsy (pharmacoresistance)
ABCB3	transporter 2, ATP binding cassette, sub-family B	mesial temporal lobe epilepsy (pharmacoresistance)
ABCB4	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 4	mesial temporal lobe epilepsy (pharmacoresistance)
ABCB5	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 5	
ABCB6	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 6	
ABCB7	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 7	sideroblastic anemia with ataxia
ABCB8	ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 8	
ABCC1	ATP-binding cassette subfamily C member 1	
ABCC11	ATP-binding cassette subfamily C member 11	
ABCC13	ATP-binding cassette subfamily C member 13	
ABCC3	ATP-binding cassette subfamily C member 3	
ABCC9	ATP-binding cassette subfamily C member 9 (sulfonyleurea-receptor 2)	dilatative cardiomyopathie 10

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>ABCD1</i>	ATP-binding cassette subfamily D member 1	adrenoleukodystrophy, neonatal hypotonia
<i>ABCD3</i>	ATP-binding cassette subfamily D member 3	zellweger syndrome 2
<i>ABCD4</i>	ATP-binding cassette subfamily D member 4	
<i>ABCE1</i>	ATP-binding cassette subfamily E member 1 (Ribonuclease 4 Inhibitor)	
<i>ABCF1</i>	ATP-binding cassette, subfamily F, member 1	
<i>ABCF2</i>	ATP-binding cassette, subfamily F, member 2	
<i>ABCF3</i>	ATP-binding cassette, subfamily F, member 3	
<i>ABCG1</i>	ATP-binding cassette, subfamily G, member 1	tangier disease, atherosclerotic plaques
<i>ADCYAP1</i>	adenylat cyclase activating polypeptide 1 (pituitary)	
<i>ARFGEF1</i>	ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 1	
<i>ARFGEF2</i>	ADP-ribosylation factor guanine nucleotide-exchange factor 2 (vesical transport-regulating protein)	West syndrome
<i>ASPM</i>	regulation of proliferation of neuronal progenitor cells	developmental delay, cerebral palsy, epilepsy
<i>ATP2B1</i>	ATPase, Ca <sup>++</sup> -transporting, plasma membrane 1	
<i>ATP2B4</i>	ATPase, Ca <sup>++</sup> -transporting, plasma membrane 4	
<i>BRD2</i>	bromodomain containing 2	JME
<i>BRD4</i>	bromodomain containing 4	
<i>BRD7</i>	bromodomain containing 7	
<i>BRD8</i>	bromodomain containing 8	
<i>BRD9</i>	bromodomain containing 9	
<i>BRDG1</i>	signal transducing adaptor family member 1	
<i>CACNA1A</i>	voltage-dependent calcium channel P/Q-type alpha 1A subunit (putative tumor suppressor gene)	ataxia, seizures/ hemiplegic migraine (epileptic encephalopathies)
<i>CACNA1B</i>	voltage-dependent calcium channel, L-type, alpha 1B subunit	
<i>CACNA1C</i>	voltage-dependent calcium channel, L-type, alpha 1C subunit	Timothy syndrome, Brugada syndrome

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>CACNA1D</i>	voltage-dependent calcium channel, L-type, alpha 1D subunit	generalized seizures, cerebral palsy, spasticity, intellectual disability, and developmental delay
<i>CACNA1S</i>	voltage-dependant calcium channel, L-type, alpha 1S subunit	hypokalemic periodic paralysis, malignant hyperthermia susceptibility 5
<i>CACNA2D3</i>	voltage-dependant calcium channel, alpha 2/delta subunit 3	
<i>CACNA2D4</i>	voltage-dependant calcium channel, alpha 2/delta subunit 4	
<i>CACNB1</i>	voltage-dependant calcium channel, beta 1 subunit	epilepsy
<i>CACNB3</i>	voltage-dependant calcium channel, beta 3 subunit	
<i>CAMK2D</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) II delta	
<i>CAMK2G</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) II gamma	
<i>CAMK4</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV	
<i>CAMKK2</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase 2, beta	
<i>CAMSAP1</i>	calmodulin regulated spectrin-associated protein 1	
<i>CAMTA1</i>	calmodulin binding transcription activator 1	cerebellar ataxia with mental retardation
<i>CAMTA2</i>	calmodulin binding transcription activator 2	
<i>KRIT1</i>	KRIT1, ankyrin repeat containing	cerebral cavernous malformations
<i>CCM2</i>	cerebral cavernous malformation 2	cerebral cavernous malformations
<i>CCND1</i>	cyclin D1	hemimegalencephaly
<i>CCND2</i>	regulator of CDK4/6	megalencephaly-polymicrogyria-polydactyly-hydrocephalus syndrome 3
<i>CCND3</i>	regulator of CDK4/6	
<i>CDK1</i>	cell division cycle 2, G1 to S and G2 to M	
<i>CDK2</i>	cyclin-dependant kinase (G(1)-S-Checkpoint)	
<i>CDK4</i>	cyclin-dependent kinase 4	tumorigenesis
<i>CDK6</i>	cyclin-dependent kinase 6	
<i>CDK7</i>	cyclin-dependent kinase 7	

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>CHRNA3</i>	alpha3-subunit des nACh-R	on chromosomal region for ADNFLE
<i>CHRNA7</i>	neuronal nicotinic acetylcholine receptor	contemporal spikes and sharp waves
<i>CHRNA1</i>	muscle nACh-R subunit beta 1	slow-channel congenital myasthenic syndrome
<i>CHRNE</i>	muscle nAChR-epsilon-subunit	congenital myasthenic syndromes
<i>CLCN2</i>	chloride channel 2	epilepsy
<i>CLCN3</i>	chloride channel 3	
<i>CLCN4</i>	chloride channel 4	sporadic epilepsy in children
<i>CLCN5</i>	chloride channel 5 (nephrolithiasis 2, X-linked, Dent disease)	dent disease and renal tubular disorders complicated by nephrolithiasis
<i>CLCN6</i>	chloride channel 6	
<i>CLCN7</i>	chloride channel 7	osteopetrosis (OPTA2)
<i>CLNS1A</i>	chloride channel, nucleotide-sensitive, 1A	
<i>CSNK1G2</i>	casein kinase I, gamma 2	febrile seizures
<i>DAB1</i>	Dab, reelin signal transducer, homolog 1 (Drosophila)	expression increased in epileptic rats (TV)
<i>DAB2</i>	Dab, mitogen-responsive, phosphoprotein, homolog 2 (Drosophila)	located on the short arm of chromosome 5, associated with generalized epilepsy
<i>EGR1</i>	early growth response 1 (immediate early gene)	focal epilepsy
<i>EGR2</i>	early growth response 2 (Krox-20 homolog, Drosophila)	congenital hypomyelination neuropathy, charcot-marie-tooth disease type , dejerine-sottas syndrome
<i>EGR3</i>	early growth response 3	
<i>FGF5</i>	fibroblast growth factor 5	
<i>FGF9</i>	fibroblast growth factor 9 (glia-activating factor)	
<i>FGFR1</i>	fibroblast growth factor receptor 1	Pfeiffer syndrome, Jackson-Weiss syndrome, Antley-Bixler syndrome, osteoglophonic dysplasia, and autosomal dominant Kallmann syndrome 2
<i>FGFR4</i>	fibroblast growth factor receptor 4	breast and ovarian tumorigenesis
<i>FLNA</i>	filamin A, alpha (actin binding protein 280)	periventricular nodular heterotopia (seizures)
<i>FLNB</i>	filamin B, beta (actin binding protein 278)	periventricular nodular heterotopia (seizures)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>GABARAP</i>	GABA(A) receptor associated protein	
<i>GABARAPL1</i>	GABA(A) receptor associated protein-like protein 1	
<i>GABARAPL2</i>	GABA(A) receptor associated protein-like protein 2	
<i>GABBR1</i>	GABA(B) receptor 1	temporal lobe epilepsy
<i>GABRB2</i>	GABA(A) receptor beta 2 subunit	epilepsy
<i>GABRB3</i>	GABA(A) receptor beta 3 subunit	myoclonic absence seizures
<i>GCH1</i>	GTP cyclohydrolase 1	malignant hyperphenylalaninemia; dopa-responsive dystonia
<i>GCHFR</i>	GTP cyclohydrolase I feedback regulator	
<i>GPR56</i>	G protein-coupled receptor 56	developmental delay, cerebral palsy, epilepsy
<i>GPR98</i>	G protein-coupled receptor 98	familial febrile seizures
<i>GRIA2</i>	glutamate receptor, ionotropic, AMPA2	downregulated after seizure
<i>GRIA3</i>	glutamate receptor, ionotropic, AMPA3	mental retardation, x-linked 94
<i>GRID2</i>	glutamate receptor, ionotropic, delta2	
<i>GRIK2</i>	glutamate receptor, ionotropic, kainate 2	mental retardation
<i>GRIK3</i>	glutamate receptor, ionotropic, kainate 3	schizophrenia
<i>GRINA</i>	glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate-associated protein 1 (glutamate binding)	
<i>GRINL1A</i>	glutamate receptor, ionotropic, N-methyl D-aspartate-like 1A	
<i>SLC12A6</i>	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 6	agenesis of corpus callosum with peripheral neuropathy, mental retardation
<i>KCNA3</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 3	
<i>KCNAB1</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1	
<i>KCNAB2</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 2	intractable seizures (1p36 deletion syndrome)
<i>KCNAB3</i>	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 3	

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>KCNC4</i>	potassium voltage-gated channel, Shaw-related subfamily, member 4	
<i>KCND2</i>	potassium voltage-gated channel, Shal-related subfamily, member 2	
<i>KCNE1</i>	potassium voltage-gated channel, Isk-related family, member 1	long QT-Syndrome / aut rez Jervell and Lange-Nielsen syndrome
<i>KCNE3</i>	minimal potassium ion channel-related peptide 2	
<i>KCNE1L</i>	KCNE1-like	
<i>KCNH2</i>	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2	long QT-Syndrome type 2, short QT-Syndrome type 1
<i>KCNH3</i>	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 3	
<i>KCNH4</i>	potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 4	
<i>KCNJ15</i>	inward rectifying potassium channel	
<i>KCNK1</i>	weakly inward-rectifying potassium channel	
<i>KCNK6</i>	weakly inward-rectifying potassium channel	
<i>KCNK7</i>	weakly inward-rectifying potassium channel	
<i>KCNMA1</i>	potassium large conductance calcium-activated channel, subfamily M, alpha member 1	generalized epilepsy, paroxysmal dyskinesia
<i>KCNMB1</i>	potassium large conductance calcium-activated channel	
<i>KCNMB4</i>	large conductance calcium-activated potassium channel	
<i>KCNN3</i>	potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 3	
<i>KCNN4</i>	potassium intermediate/small conductance calcium-activated channel, subfamily N, member 4	
<i>KCNQ1</i>	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1	hereditary long QT syndrome, Romano-Ward syndrome, Jervell and Lange-Nielsen syndrome
<i>KCNQ1OT1</i>	voltage gated potassium channel	
<i>KCNQ3</i>	voltage gated potassium channel	BFNC
<i>KCNQ5</i>	potassium channel ("M-channel")	retinal degeneration (possibly)

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>LGI2</i>	leucine-rich repeat LGI family, member 2	
<i>LGI4</i>	leucine-rich repeat LGI family, member 4	BFIC
<i>PAFAH1B1</i>	platelet-activating factor acetylhydrolase, isoform Ib, alpha subunit 45kDa	lissencephaly
<i>MASS1</i>	monogenic, audiogenic seizure susceptibility 1 homolog (mouse)	febrile / afebrile seizures
<i>NAA15</i>	NMDA receptor regulated 1	
<i>NAA16</i>	NMDA receptor regulated 1-like	
<i>ICE2</i>	interactor of little elongation complex ELL subunit 2	
<i>NCBP1</i>	nuclear cap binding protein subunit 1	
<i>NCBP2</i>	nuclear cap binding protein subunit 2, 20kDa	
<i>NF1</i>	Neurofibromin 1	neurofibromatosis, von Recklinghausen disease, Watson disease
<i>NF2</i>	Neurofibromin 2 (bilateral acoustic neuroma)	neurofibromatosis 2, schwannomatosis
<i>NEFH</i>	Neurofilament, heavy polypeptide 200kDa	ALS
<i>NFKB1</i>	nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1	temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis
<i>NFYC</i>	nuclear transcription factor Y, gamma	
<i>PAK2</i>	P21 (CDKN1A)-activated kinase 2	
<i>PAK6</i>	P21(CDKN1A)-activated kinase 6	
<i>PAK7</i>	P21(CDKN1A)-activated kinase 7	
<i>PAX5</i>	paired box gene 5 (B-cell lineage specific activator)	
<i>PAX8</i>	paired box gene 8	thyroid dysgenesis, congenital hypothyroidism
<i>PIK3R1</i>	phosphoinositide-3-kinase, regulatory subunit 1 (alpha)	cortical dysplasia
<i>PLCB1</i>	phospholipase C, beta 1 (phosphoinositide-specific)	TLE (temporal lobe epilepsy), rodent epilepsy models
<i>PLCB2</i>	phospholipase C, beta 2	
<i>PLCD1</i>	phospholipase C, delta 1	
<i>PLCD3</i>	phospholipase C, delta 3	
<i>PLCE1</i>	phospholipase C, epsilon 1	
<i>PLCG1</i>	phospholipase C, gamma 1	



<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>PLCG2</i>	phospholipase C, gamma 2 (phosphatidylinositol-specific)	
<i>PLCL2</i>	phospholipase C-like 2	
<i>PSEN2</i>	presenilin 2	Alzheimers disease
<i>PTGS2</i>	prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (prostaglandin G/H synthase and cyclooxygenase)	epilepsy
<i>RPS6KA1</i>	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 1	
<i>RPS6KA2</i>	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 2	
<i>RPS6KA3</i>	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3	coffin-lowry syndrome, epilepsy
<i>RPS6KA4</i>	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 4	
<i>RPS6KA5</i>	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 5	
<i>RTN4R</i>	reticulon 4 receptor	tuberous sclerosis
<i>SCN5A</i>	voltage gated sodium channel type V alpha subunit (cardiac)	long QT-syndrome; epilepsy in patients with Brugada syndrome
<i>SCNM1</i>	sodium channel modifier	
<i>SCNN1D</i>	nonvoltage gated sodium channel 1 delta	
<i>SEMA3B</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3B	non-small cell lung cancer
<i>SEMA3C</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), short basic domain, secreted, (semaphorin) 3C	reading disability in patients with rolandic epilepsy
<i>SEMA4A</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4A	
<i>SEMA4B</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4B	
<i>SEMA4C</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4C	
<i>SEMA4D</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4D	

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
<i>SEMA4F</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 4F	
<i>SEMA5A</i>	sema domain, seven thrombospondin repeats (type 1 and type 1-like), transmembrane domain (TM) and short cytoplasmic domain, (semaphorin) 5A	
<i>SEMA6B</i>	sema domain, transmembrane domain (TM), and cytoplasmic domain, (semaphorin) 6B	
<i>SEMA7A</i>	sema domain, immunoglobulin domain (Ig), and GPI membrane anchor, (semaphorin) 7A	
<i>SLC12A4</i>	solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 4	
<i>SLC1A1</i>	glutamate transporter, high affinity	epilepsy, schizophrenia
<i>SLC1A2</i>	glutamate transporter, high affinity	ALS
<i>SLC1A3</i>	glutamate transporter, high affinity	seizures
<i>SLC1A4</i>	glutamate transporter, high affinity	
<i>SLC1A5</i>	neutral amino acid transporter, member 5	
<i>SLC1A7</i>	glutamate transporter, high affinity	
<i>SLC6A12</i>	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, betaine/GABA), member 12	
<i>SLC6A15</i>	solute carrier family 6 (neutral amino acid transporter), member 15	
<i>SLC6A6</i>	solute carrier family 6 (neurotransmitter transporter, taurine), member 6	
<i>SOD1</i>	superoxide dismutase 1, soluble	familial amyotrophic lateral sclerosis
<i>SOD2</i>	superoxide dismutase 2, mitochondrial	idiopathic cardiomyopathy (IDC), premature aging, sporadic motor neuron disease, and cancer
<i>SOX13</i>	SRY (sex determining region Y)-box 13	
<i>SOX4</i>	SRY (sex determining region Y)-box 4	
<i>SOX5</i>	SRY (sex determining region Y)-box 5	
<i>SOX6</i>	SRY (sex determining region Y)-box 6	movement disorder, developmental delay, dystonia syndromes

<b>Gen-Name</b>	<b>vollständiger Name</b>	<b>Medizinische Relevanz</b>
SOX9	SRY (sex determining region Y)-box 9 (campomelic dysplasia, autosomal sex-reversal)	campomelic dysplasia
TGFB1	transforming growth factor, beta 1 (Camurati-Engelmann disease)	cortical dysplasia (camurati-engelmann disease)
TSPAN7	tetraspanin 7	X-linked mental retardation; Huntington's chorea, fragile X syndrome and myotonic dystrophy
TMEM1	homology to sodium channel proteins und andere	EPM1 (progressive myoclonus epilepsy type Unverricht-Lundborg), autoimmune polyglandular disease type I (APECED)
TRPM2	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 2 (calcium channel receptor)	bipolar disorder
TRPM3	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 3	
TRPM4	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 4	
TRPM7	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	
TSC1	tuberous sclerosis 1 (tumor suppressor)	tuberous sclerosis, focal cortical dysplasia of taylor balloon cell type
TSC2	tuberous sclerosis 2 (tumor suppressor)	tuberous sclerosis

**Tabelle 11: Differentiell exprimierte Gene der Gruppenuntersuchung.**  
**Dargestellt sind Funktion, Expression im Gehirn und Regulierung (Fold Change). Ein positiver Wert bedeutet Hochregulierung in Patienten gegenüber Kontrollen, negatives Vorzeichen Herunterregulierung des Genes gegenüber den gepoolten Kontrollen. Grau hinterlegt sind Gene, welche an der Entstehung oder Ausdifferenzierung von Nervenzellen beteiligt sind oder bei der Signalübertragung eine Rolle spielen.**

Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung	Expr. in ZNS	Fold Change
<b>hochreguliert</b>					
<b>ASB9</b>		ankyrin repeat and SOCS box-containing 9	protein binding, intracellular signal transduction	ja	1,12
<b>CLK4</b>		CDC-like kinase 4	formation of spliceosomes	ja	0,92
<b>CXCL1</b>	SCYB1	chemokine (C-X-C motif) ligand 1 (melanoma growth stimulating activity, alpha)	effects on cells of the central nervous system	ja	1,27
<b>GLCE</b>		glucuronic acid epimerase	binds growth factors and cytokines, developmental process	ja	2,08
<b>HEXIM1</b>	CLP1; HIS1; MAQ1	hexamethylene bis-acetamide inducible 1	transcriptional regulator rna polymerase, transcription inhibitor	ja	1,24
<b>IFRD1</b>	PC4; TIS7	interferon-related developmental regulator 1	neurogenesis; could play a role in regulating gene activity	ja	2,09
<b>Herunterreguliert</b>					
Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung	Expr. in ZNS	Fold Change
<b>ALDH6A1</b>		aldehyde dehydrogenase 6 family, member A1	amino acid metabolism	ja	-1,68
<b>APRIN</b>	PDS5B	PDS5, regulator of cohesion maintenance, homolog B	chromatin-binding proteine; meiosis, mitosis, cell proliferation and differentiation		-3,57
<b>CCDC77</b>		coiled-coil domain containing 77	cellular component	ja	-1,88
<b>EIF3S8</b>		eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 8	translation inhibition factor; protein biosynthesis, translational regulation, nuclear transport		-1,20

Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung	Expr. in ZNS	Fold Change
<b>herunterreguliert</b>					
<b>GNGT2</b>		guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma transducing activity polypeptide 2	transmembrane signaling systems; GTPase activity	ja	-1,74
<b>GPR177</b>	FLJ23091	G protein-coupled receptor 177	molecular and biological function unclassified	ja	-1,20
<b>HOXB9</b>	HOX2E	homeobox B9	mRNA transcription regulation - neurogenesis	ja	-1,88
<b>NTRK3</b>	TRKC	neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3	protein phosphorylation receptor protein tyrosine kinase signaling pathway, neurogenesis	ja	-3,77
<b>PCLO</b>		piccolo (presynaptic cytomatrix protein)	neurotransmitter release, cell structure	ja	-2,04
<b>PPP2CA</b>		protein phosphatase 2 (formerly 2A), catalytic subunit, alpha isoform	negative control of cell growth and division	ja	-2,51
<b>PTPN21</b>		protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 21	protein modification ectoderm development cell motility, dopamin receptor mediated signaling	ja	-2,35
<b>RAB1A</b>		member RAS oncogene family	controls vesicle traffic from the endoplasmic reticulum to the Golgi apparatus	ja	-1,74
<b>RPS6KA3</b>	MAP-KAPK1B; MRX19; RSK2	ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 3	protein phosphorylation; MAPKKK cascade, neurogenesis, skeleton development, cell cycle control; PDF-signaling pathway; interleukin signaling pathway	ja	-0,76
<b>SCGB2A2</b>	MGB	secretoglobin, family 2A, member 2	secretoglobin family		-2,24
<b>TIE1</b>		tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains 1	protein phosphorylation, receptor protein tyrosine kinase signaling pathway, developmental processes, cell motility	ja	-1,01

Tabelle 12: Liste der 48 stärksten regulierten Gene der Einzeluntersuchung.

Gene, welche potentiell an neurologischen Prozessen beteiligt sein könnten, sind grau hinterlegt.

Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung / Funktion	Expr. in ZNS	Fold Change	p-Wert
<b>HOCHREGULIERT</b>						
<i>WDR1</i>		WD repeat domain 1	protein-protein interactions. non-motor actin binding protein; cell motility; hearing	(ja)	1,6	0,0045
<i>TSPAN14</i>		tetraspanin 14	cell adhesion-mediated signaling; cell adhesion	ja	1,7	0,0045
<i>TRIM8</i>	GERP; RNF27	tripartite motif-containing 8	maybe tumor suppressor gene; proteolysis	ja	1,5	0,0012
<i>DCLRE1B</i>		DNA cross-link repair 1B	involved in repair of interstrand cross-links; DNA repair	ja	1,9	0,0005
<i>MFSD5</i>		major facilitator superfamily domain containing 5	multi-pass membrane protein	ja	1,5	0,0013
<i>SART3</i>		squamous cell carcinoma antigen recognized by T cells 3	regulation of mRNA splicing; other nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	ja	1,4	0,0016
<i>COL4A3BP</i>	GPBP	collagen, type IV, alpha 3 binding protein	phosphorylates alpha 3 chain of type IV collagen; lipid and fatty acid transport; protein phosphorylation	ja	1,4	0,0027
<i>NDUFS1</i>		NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 1, 75kDa (NADH-coenzyme Q reductase)	encoded protein has NADH dehydrogenase activity and oxidoreductase activity; electron transport	ja	1,8	0,0338
<i>TMOD3</i>		tropomodulin 3	tropomyosin-binding, actin-binding	ja	1,5	0,0338
<i>OXR1</i>		oxidation resistance 1	protection from oxidative damage	ja	1,7	0,0045
<i>TMCO3</i>	C13orf11	transmembrane and coiled-coil domains 3	antiporter activity; cation transport	ja	1,5	0,0058
<i>KCTD6</i>		potassium channel tetramerisation domain containing 6	protein binding; voltage-gated potassium channel activity; cation transport	ja	1,5	0,0045
<i>GBP4</i>		guanylate binding protein 4	GTPase activity, immune resp.; macrophage- and interferon-mediated immunity	ja	1,5	0,0010
<i>HSP90B1</i>	TRA1	heat shock protein 90kDa beta (Grp94), member 1	signal transduction, protein folding, protein degradation, morphologic evolution; stress response	ja	1,5	0,0034
<i>AP3D1</i>	ADAPTIN, DELTA	adaptor-related protein complex 3, delta 1 subunit	intracellular biogenesis and trafficking of pigment granules; signal transduction	ja	1,7	0,0034
<i>RAD21</i>	HR21; NXP1; SCC1	RAD21 homolog (S. pombe)	repair of DNA double-strand breaks; DNA repair; chromosome segregation	ja	1,6	0,0058
<i>USP33</i>		ubiquitin specific peptidase 33	protein binding; proteolysis	ja	1,4	0,0488

Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung / Funktion	Expr. in ZNS	Fold Change	p-Wert
<b>HOCHREGULIERT</b>						
<b>ZC3H11A</b>		zinc finger CCCH-type containing 11A	nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	ja	2,2	0,003
<b>TES</b>	TESTIN	testis derived transcript (3 LIM domains)	zinc ion binding; gametogenesis; tumor suppressor; cell structure; cell motility		1,5	0,0027
<b>KIAA 0494</b>	RP11-8J9.3		calcium ion binding	ja	1,6	0,0027
<b>PRPF6</b>	C20orf14	PRP6 pre-mRNA processing factor 6 homolog	pre-mRNA splicing, can bind androgen receptor	ja	2,5	0,0045
<b>COX15</b>		COX15 homolog, cytochrome c oxidase assembly protein	cytochrom c oxidase; vitamin D metabolism and pathway	ja	2,0	0,0045
<b>SMC5</b>	SMC5-LIKE1	structural maintenance of chromosome 5	ATP-binding, DNA repair	ja	1,6	0,0035
<b>TMEM106B</b>		trans membrane protein 106B		ja	2,7	0,0045
<b>CLN8</b>	EMPR	ceroid-lipofuscinosis, neuronal 8	lipid synthesis, transport; neuronal activities	ja	1,5	0,0045

<b>HERUNTERREGULIERT</b>						
<b>ANK3</b>	ANKYRIN-G	ankyrin 3, node of Ranvier	cell motility, proliferation, contact; maintenance/targeting of ion channels; signal transduction	ja	-2,2	0,0045
<b>NCOA1</b>		nuclear receptor coactivator 1	mRNA transcription regulation Steroid hormone-mediated signaling		-1,8	0,0338
<b>LONPL</b>		ATP dependent LON protease family member	proteolysis		-1,8	0,0035
<b>KIAA 0999</b>			protein binding, ATP binding; serine/threonine protein kinase receptor	ja	-1,5	0,0035
<b>ANKRD 28</b>		ankyrin repeat domain 28	phosphatase inhibitor, protein binding; reverse transcription	ja	-1,8	0,0045
<b>TRPM7</b>	LTRPC7; TRP-PLIK	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 7	ion channel, kinase	ja	-1,8	0,0045
<b>USP34</b>		ubiquitin specific peptidase 34	proteolysis		-1,6	0,01211
<b>SCFD1</b>		Sec1 family domain containing 1	vesicle docking during exocytosis, vesicle mediated transport; Membrane traffic regulatory protein; exocytosis	ja	-1,6	0,0027
<b>CDC73</b>	C10RF28; HRPT2 GENE	cell division cycle 73, Paf1/RNA polymerase II complex component, homolog	tumor supressor	ja	-1,8	0,0005

Gen	Alias	vollständiger Name	Stoffwechselbeteiligung / Funktion	Expr. in ZNS	Fold Change	p-Wert
<b>HERUNTERREGULIERT</b>						
<b>CREBBP</b>	RSTS; RTS	CREB binding protein	plays a role in embryonic development, growth control; mRNA transcription regulation; signal transduction; neuronal activities; neurogenesis	ja	<b>-1,9</b>	<b>0,0027</b>
<b>ATP1B3</b>	ATPB-3; FLJ29027	ATPase, Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> transporting, beta 3 polypeptide	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPase, osmoregulation; cation transport	ja	<b>-2,4</b>	<b>0,0012</b>
<b>DOCK9</b>	KIAA1058 ZIZIMIN 1	dedicator of cytokinesis 9	GTPase binding; intracellular signaling cascade; phagocytosis; cell motility	ja	<b>-1,8</b>	<b>0,0034</b>
<b>ZBTB20</b>	DPZF; ZNF288	zinc finger and BTB domain containing 20	mRNA transcription regulation	ja	<b>-2,0</b>	<b>0,0045</b>
<b>SSBP2</b>		single stranded DNA binding protein 2	mRNA transcription initiation and -regulation		<b>-1,8</b>	<b>0,0045</b>
<b>CDC42SE2</b>		CDC42 small effector 2	protein binding	ja	<b>-2,2</b>	<b>0,0020</b>
<b>LOC 474170</b>		leucine rich repeat containing 37	protein binding	ja	<b>-1,8</b>	<b>0,0012</b>
<b>PPP3CA</b>	CALNA1	protein phosphatase 3 catalytic subunit, alpha isoform	calcium-dependent, calmodulin-stimulated protein phosphatase; B cell activation; T cell activation; glycogen metabolism	ja	<b>-2,2</b>	<b>0,0016</b>
<b>BBX</b>		bobby sox homolog	DNA binding; mRNA transcription regulation	ja	<b>-1,8</b>	<b>0,0020</b>
<b>VDP</b>	USO1	USO1 homolog, vesicle docking protein	recycles between the cytosol and the Golgi apparatus during interphase; exocytosis	ja	<b>-1,5</b>	<b>0,0045</b>
<b>TNRC15</b>	GIGYF2	GRB10 interacting GYF protein 2	may help to regulate tyrosine kinase receptor signaling	ja	<b>-2,0</b>	<b>0,0045</b>
<b>FTO</b>	fatso	Fat mass and obesity associated	nuclear protein	ja	<b>-2,3</b>	<b>0,0034</b>
<b>TYMS</b>	TMS; TS	thymidylate synthetase	DNA replication and repair; formyltetrahydroformate biosynthesis; DNA metabolism	ja	<b>-2,0</b>	<b>0,0010</b>
<b>ANKH</b>	HANK	inorganic pyrophosphate transport regulator	multipass transmembrane protein	ja	<b>-4,7</b>	<b>0,0027</b>



## Danksagung

Zur Fertigstellung dieser Arbeit haben viele Menschen mit unermüdlichem Engagement, enormer Hilfsbereitschaft und viel fachlicher Leidenschaft beigetragen.

Ich möchte mich insbesondere bedanken bei Herrn Prof. Dr. Ulrich Stephani und Frau PD Dr. Muhle, für die Bereitstellung des Themas und die Übernahme des Referats. Frau Muhle hat mich bis zum Ende mit Ihrer nicht enden wollenden Unterstützung durch diese Arbeit begleitet und geleitet.

Ich möchte mich auch bei Herrn Professor Stephani bedanken für die Einführung in die Materie der Epilepsiegenetik, für intensive Gespräche sowie alle Informationen und Hilfestellungen im Ablauf der Arbeit, besonders zu Beginn. Herrn von Deimling, der das Thema weiter verfolgt hat möchte ich ebenfalls sehr danken.

Herrn Prof. Holterhus bin ich zu Dank verpflichtet, er hat uns als mit der Mikroarraymethode vertrauter Kollege insbesondere bei der Planung des experimentellen Teils der Arbeit beraten.

Den Mitarbeitern des Labors der Kinderklinik im UKSH und insbesondere Herrn Dr. Häsler vom Institut für klinische Molekularbiologie bin ich ebenfalls zu großem Dank verpflichtet. Im Institut wurden die Proben vorbereitet und eingefroren. Unter der Aufsicht von Herrn Dr. Häsler wurden die Microarrayversuche und deren Auswertung durchgeführt.

Auch möchte ich mich bei Frau Professor Ambrosch und den Mitarbeitern der Klinik für HNO des UKSH bedanken. Sie alle waren stets aufgeschlossen und sehr hilfsbereit bei der Rekrutierung des Vergleichskollektivs.

Nicht zuletzt möchte ich mich bedanken bei meinen Eltern, meiner Schwiegermutter und meinem Mann, die mich sehr unterstützten und bei meinen Kindern, die mich insbesondere in der letzten Phase dieser Arbeit viel entbehren mussten.

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name	Verena Lou Steinbach, geb. Volz
Anschrift	Harkensee 3e 22307 Hamburg
Familienstand	verheiratet, zwei Kinder (geb. 2011 und 2013)

### Schulbildung

1985 – Mai 1989	Loretoschule Freiburg (Grundschule)
Mai – Juli 1989	Grundschule Häusern
1989 – 1998	Kolleg St. Blasien (Gymnasium, abgeschlossen mit Abitur)

### Ausbildung

1999 – 2002	SRH Fachschule für Physiotherapie Karlsruhe (Ausbildung Physiotherapeutin, Staatsexamen)
2002 – 2008	Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Studium der Humanmedizin, Staatsexamen)

### Berufstätigkeit

2009 – 2011	Weiterbildungsassistentin Allgemein Chirurgie Klinik Dr. Guth, Hamburg
2011 bis Feb 2016	Elternzeit
Seit März 2016	Assistenzärztin im Institut für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf

### Veröffentlichungen

- Von Deimling M., Häslér R., Volz V., Holterhus P.-M., von Spiczak S., Stephani U., Helbig I., Muhle H. (2014). Gene Expression in Childhood and Juvenile Absence Epilepsy. *Epilepsia*, 55(Suppl. 2):4–246, 2014 doi: 10.1111/epi.12675
- Von Deimling M., Häslér R., Volz V., Holterhus P.-M., von Spiczak S., Stephani U., Helbig I., Muhle H. (2013) Gene expression in Absence Epilepsy. Postervortrag Epilepsy Genetics Workshop & Young Researchers in Epileptology Meeting 2013 in Israel

Von Deimling M., Häsler R., Steinbach V., Holterhus P.M., von Spiczak S., Stephani U., Helbig I., Muhle H. (Mai 2017) Gene expression analysis in untreated absence epilepsy demonstrates an inconsistent pattern. *Epilepsy Res.* 132: 84-90. doi: 10.1016/j.eplepsyres.2017.02.008. Epub 2017 Feb 28