Universitätsklinikum Ulm, Klinik für Neurologie

Prof. Dr. med. Albert C. Ludolph

Abteilung für Neurologie

Institut für Angewandte Physiologie

Prof. Dr. med. Holger Lerche

Klinische und genetische Analyse von idiopathischen Epilepsiesyndromen:

Benigne Anfälle des Säuglingsalters und idiopathische generalisierte Epilepsien

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Miriam Jacob

aus Braunschweig

2009

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. Holger Lerche

Zweiter Berichterstatter: PD Dr. Karin Jurkat-Rott

Tag der Promotion: 11. Februar 2010

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS **I**

1. EINLEITUNG **1**

1.1 Epilepsie – Geschichte und Klassifikation **1**

1.2 Idiopathische Epilepsien **3**
1.2.1 Definition – Klassifikation 3
1.2.2 Idiopathische Generalisierte Epilepsien – IGE 5
1.2.3 Fieberkrämpfe (FS), Generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus (GEFS+) und Dravet-Syndrom (*severe myoclonic epilepsy of infancy* = SMEI) 8
1.2.4 Idiopathische fokale Epilepsien 10

1.3 Zielsetzung der Arbeit **15**

2. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN **16**

2.1 Klinische Analyse **16**
2.1.1 Patientenkollektiv 16
2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien 17
2.1.3 Studienprotokoll 18
2.1.4 Blutproben 18

2.2 Molekulargenetische Untersuchungen **19**
2.2.1 Extraktion humaner DNA aus Blutproben 19
2.2.2 Polymerase Kettenreaktion (PCR) 21
2.2.3 Gelelektrophorese 23
2.2.4 Statistische Auswertung: Kopplungsanalyse, zwei-Punkt Lod-Score-Analyse 27

3. ERGEBNISSE **30**

3.1 Epidemiologie **30**
3.1.1 Erfassung der Probanden 30
3.1.2 Semiologie in dem rekrutierten Patientenkollektiv 32
3.1.3 Familienanamnese bei idiopathischen generalisierten Epilepsiesyndromen 33
3.1.4 Einteilung der Diagnosen und Ätiologien 35

3.2 Klinische Beschreibung einiger Multiplexfamilien **37**
3.2.1 Familie IGE92 37
3.2.2 Familie IGE102 40
3.2.3 Familie BFIS35 42
3.2.4 Familie BFIS29 48

3.3 Molekulargenetische Untersuchungen **54**
3.3.1 Familie BFIS35 54
3.3.2 Familie BFIS29 57

4. DISKUSSION 60

4.1 Epidemiologie 60
4.1.1 Verteilung: Idiopathische versus symptomatische und kryptogene Epilepsien 61
4.1.2 IGE-Anteil an idiopathischen Epilepsien 62
4.1.3 Verteilung der IGE-Syndrome 63
4.1.4 Familienanamnese 68

4.2 Klinische und molekulargenetische Untersuchungen 69
4.2.1 Idiopathische generalisierte Epilepsien – IGE 69
4.2.2 Benigne familiäre infantile Anfälle – BFIS 73

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick 78

5. ZUSAMMENFASSUNG 80

6. LITERATURVERZEICHNIS 82

7. ANHANG 95

8. DANKSAGUNG 107

9. LEBENSLAUF 108

Abkürzungsverzeichnis

Add	Aufüllen auf
ADLTE	autosomal dominante laterale Temporallappenepilepsie
ADNFLE	autosomal dominante nächtliche Frontallappenepilepsie
APS	Ammoniumpersulfat
ATP1A2	Na+/K+ transportierende ATPase, Typ α2
BECTS	benigne Epilepsie des Kindesalters mit zentrotemporalen Spikes
BFIS	benigne familiäre infantile Anfälle
BFNIS	benigne familiäre neonatale/ infantile Anfälle
BFNS	benigne familiäre neonatale Anfälle
bp	Basenpaar
CACNA1H	α1H-Untereinheit des spannungsabhängigen T-Typ Calciumkanals
CACNB4	β4-Untereinheit des spannungsabhängigen T-Typ Calciumkanals
CACNL1A4	α4-Untereinheit des spannungsabhängigen P-Typ Calciumkanals
CAE	kindliche Absence-Epilepsie
chr	Chromosom
CLCN2	Chloridkanal 2
cM	centiMorgan
CT	Computertomographie
Cy5	Indodicarbocyanin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleotidtriphosphaten
EBN	benigne neonatale Epilepsie
ECA	kindliche Absence-Epilepsie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EEG	Elektroenzephalogramm
EFHC1	EF-Hand Domain (C-Terminal) containing 1

EGMA	Epilepsie mit Aufwach-Grand-Mal
EGTCS	generalisierte Epilepsie mit tonisch-klonischen Anfällen
EIG	idiopathische generalisierte Epilepsie
EJM	juvenile myoklonische Epilepsie
FEB	familiäre Fieberkrampf
FISH	Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung
FHM	familiäre hemiplegische Migräne
FPEVF	familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci
g	Gramm
GABA	Gamma-aminobuttersäure
GABRD	$GABA_A$ Rezeptor Typ δ
GABRA1	$GABA_A$ Rezeptor Typ α1
GABRG2	$GABA_A$ Rezeptor Typ γ2
GEFS+	generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus
GTKA	Generalisierte tonisch-klonische Anfälle
ICCA	infantile Konvulsionen mit paroxysmaler Choreoathetose
IGE	Idiopathische generalisierte Epilepsie
ILAE	Internationale Liga gegen Epilepsie
JAE	juvenile Absence-Epilepsie
JME	juvenile myoklonische Epilepsie
kb	Kilobasen
KCNQ2	spannungsgesteuerte Kaliumkanäle Typ 2
KCNQ3	spannungsgesteuerte Kaliumkanäle Typ 3
LGI1	Leucin-rich Gene, 1
LOH	loss of heterocygosity, Verlust der Heterozygotie
M	Molar
MAE	Myoklonisch-astatische Epilepsie
MASS1	monogenic audiogenic seizure-susceptible gene, Typ 1
Mbp	Megabasenpaare
min	Minute
mg	Milligramm
ml	Milliliter
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

MRT	Magnetresonanztomographie
nACHR	nikotinische Acetylcholinrezeptor
Nav1.1	Typ 1 α-Untereinheit des spannungsgesteuerten Natriumkanals
Nav1.2	Typ 2 α-Untereinheit des spannungsgesteuerten Natriumkanals
nm	Nanometer
PCR	Polymerase Kettenreaktion
pH	potentia Hydrogenii
PKC	paroxysmale kinesiogene Choreoathetose
RNA	Ribonukleinsäure
rpm	Revolutions per minute
SCN1A	spannungsgesteuerter Natriumkanal Typ 1A
SCN1B	spannungsgesteuerter Natriumkanal Typ 1B
SCN2A	spannungsgesteuerter Natriumkanal Typ 2A
sek.	Sekunde
SMEI	Dravet-Syndrom
SPZ	sozialpädiatrischen Zentrum
TBE	Tris-Borat- Ethylendiamintetraessigsäure
TEMED	Tetramethylethylendiamin
USA	United States of America
ZNF	Zinkfingerprotein

1. Einleitung

1.1 Epilepsie – Geschichte und Klassifikation

Kaum eine andere Krankheit lässt sich in der Medizingeschichte so weit zurückverfolgen wie die Epilepsie. Diese Krankheit hat den Menschen seit seinen Anfängen begleitet. Damals wie heute gehört sie zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen.

Es gibt viele berühmte Menschen, die an Epilepsie litten, wie beispielsweise Jeanne d'Arc, Julius Caesar, Molière, Napoléon Bonaparte, Alfred Nobel, Vincent Van Gogh, Fjodor Michailowitsch Dostojewski oder Wladimir Iljitsch Lenin. Der Bezeichnung der Epilepsie als „Herakles-Krankheit" beruht auf der Meinung, dass der Halbgott Herakles an einer Epilepsie litt. In Euripides' Drama „Der Wahnsinn des Herakles" wird ein Anfall eindrucksvoll geschildert: „Und alles schaut hin auf einen verstummenden, ganz verwandelten Mann, der die geröteten Augen rollt; aus dem Bart troff Schaum… Er entblößt seinen Leib und ringt und ficht mit der Luft." (Euripides Übersetzt 1979).

Da epileptische Anfälle ein spektakuläres Erscheinungsbild bieten, haben sich Menschen aus allen Epochen ausführlich mit dieser Erkrankung befasst, und gaben ihr viele verschiedene Namen. Je nach Epoche, Ort und Kultur sind die Menschen mit Epilepsie positiv oder negativ stigmatisiert worden. So galten von Epilepsie betroffene Menschen in manchen antiken Kulturen als Heilige, da ihnen der Übergang in Trancezustände angeblich leichter fiel. Bei den Griechen galt Epilepsie als eine „heilige Krankheit", als das „Besessensein von der göttlichen Macht". Hippokrates (460-375 vor J.-C.) beschrieb schon im 4.-5. Jahrhundert vor Christus, dass das Gehirn für die heilige Krankheit verantwortlich sei. Im antiken Rom mussten die angehenden Soldaten bei der Ausmusterung durch ein rotierendes Wagenrad in eine Lichtquelle schauen; Erlitten sie einen vom Flackerlicht getriggerten Anfall, wurden sie ausgemustert (Deutsches Epilepsiemuseum Kork 2009).

Im Mittelalter wurde ein Anfall als „dämonische Besessenheit" oder als „göttliche Strafe" gedeutet, so dass von Epilepsie betroffene Menschen bis zum Exorzismus von der Bevölkerung ausgestoßen wurden. Ein wissenschaftlicher Beweis für den natürlichen Ursprung der Epilepsie wurde erst in der zweiten Hälfte des 19. Jahrhunderts gefunden. Die erste Heilanstalt für „Epileptische" in Deutschland wurde 1855 von Doktor H.A. Reimer in

Görliz eröffnet. Während des Nationalsozialismus' galten Menschen, die von einer Epilepsie betroffen waren, als „unwertes Leben" (Deutsches Epilepsiemuseum Kork 2009).

Die Epilepsien gehören zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen. Im Laufe des Lebens erkranken ca. 3% der Allgemeinbevölkerung an einer Epilepsie (Hauser et al. 1996). Die Erkrankung ist durch wiederkehrende zerebrale Anfälle charakterisiert. Sie sind das klinische Korrelat von plötzlich auftretenden, synchronisierten neuronalen Entladungen des zentralen Nervensystems. So vielfältig wie die klinische Anfallssymptomatik (die sog. Anfallssemiologie) können auch die in Frage kommenden Ursachen sein. Entsprechend berücksichtigen die heute üblichen Klassifikationen sowohl klinische, elektroenzephalographische (EEG) als auch ätiologische Faktoren (Commission on Classification and Terminology of the International Leaque against Epilepsy, 1981 und 1989).

Epileptische Anfälle und Epilepsien werden den Richtlinien der Internationalen Liga gegen Epilepsie (ILAE) entsprechend definiert und klassifiziert. Sie werden in solche mit fokalem oder generalisiertem Beginn unterteilt. Fokale Epilepsien weisen einen lokalisationsbezogenen Beginn des Anfalls auf, der oft aber nicht immer sowohl klinisch als auch im EEG zu sehen ist. Einfach fokale Anfälle beeinflussen das Bewusstsein nicht; Kommt es im Rahmen eines fokalen Anfalls zu einer Bewusstseinseintrübung, wird dieser als komplex-fokal bezeichnet. Sekundär generalisierte Anfälle werden solche genannt, die fokal beginnen und sich im Verlauf auf das gesamte Gehirn ausbreiten. Bei den primär generalisierten Anfällen weisen die Semiologie und die EEG-Befunde auf einen bilateral synchronen Beginn der zerebralen Erregungssteigerung hin.
Eine zweite Unterteilung basierend auf der Ätiologie unterscheidet die symptomatischen und kryptogenen von den idiopathischen Epilepsien. Den symptomatischen Epilepsien liegt eine zerebrale Läsion zugrunde, die etwa auf einer zerebralen Ischämie, einem Schädel-Hirn-Trauma, einer intrakraniellen Blutung oder einer Enzephalitis etc. beruht. Bei den idiopathischen Epilepsien liegt kein Hinweis auf eine exogene Ursache oder auf eine strukturelle Hirnläsion vor. Sie umfassen ganz besondere Epilepsie-Syndrome mit bestimmten klinischen Charakteristika und EEG-Befunden. Für idiopathische Epilepsien besteht eine genetische Disposition, die in bis zu 47% aller Epilepsien vorkommt (Freitag et al. 2001). Zudem gibt es eine dritte ätiologische Gruppe, die kryptogenen fokalen Epilepsien, bei denen ein fokaler Beginn vermutet wird, aber keine strukturelle Hirnläsion

vorliegt. Bei verbesserter Magnetresonanztomographie- (MRT-) Technik werden hier immer häufiger kleine Dysplasien oder abnormale positionierte Nervenzellverbände nachgewiesen.

Das weltweit erste Gen für eine erbliche Epilepsie wurde 1995 von Steinlein et al. (1995) entdeckt. Seitdem haben auch andere Forschungsgruppen auf der Suche nach den genetischen Grundlagen der Anfallserkrankung weitere Gene gefunden, die eine wichtige Rolle in der Entstehung der Erkrankung spielen.

1.2 Idiopathische Epilepsien

1.2.1 Definition – Klassifikation

Idiopathische Epilepsien sind genetisch determinierte Erkrankungen des Zentralnervensystems, die durch spezielle EEG-Veränderungen und typische Anfallsmuster charakterisiert sind und nicht mit strukturellen Hirnläsionen einhergehen. Die Bildgebung mittels Magnetresonanztomographie (MRT) oder Computertomographie (CT) zeigt einen Normalbefund.

Idiopathische Epilepsien werden in solche mit generalisiertem oder lokalisationsgebundenem Beginn unterteilt. Sie treten altersgebunden auf und sind durch typische Anfallsmuster wie zum Beispiel Absencen, myoklonische Anfälle oder generalisierte tonisch-klonische Anfälle gekennzeichnet.

Zu den idiopathischen fokalen Epilepsiesyndromen werden die autosomal dominante nächtliche Frontallappenepilepsie (ADNFLE), die autosomal dominante laterale Temporallappenepilepsie (ADLTE), die familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci (FPEVF), die benignen familiären neonatalen und infantilen Anfälle (BFNS, BFNIS, BFIS) und die Rolando-Epilepsie gezählt. Die vier klassischen idiopathischen generalisierten Epilepsiesyndrome sind die kindliche und juvenile Absence-Epilepsie (CAE und JAE), die juvenile myoklonische Epilepsie (JME) und die Epilepsie mit Aufwach-Grand-Mal (EGMA). Die Anfallssemiologie ist vielfältig und wird im Folgenden für jedes Syndrom einzeln besprochen.

Idiopathische Epilepsien unterliegen definitionsgemäß einer genetischen Prädisposition. In den letzten 15 Jahren wurden zunehmende Erkenntnisse bei der Erforschung molekularer Ursachen monogener und genetisch komplexer idiopathischer Epilepsien, die ganz

überwiegend durch Mutationen in Ionenkanalgenen hervorgerufen werden, gewonnen. Die ersten Epilepsie-Gene wurden in großen Familien mit seltenen monogen vererbten autosomal dominanten Syndromen entdeckt. Nur 2% der idiopathischen Epilepsien folgen einem monogenen Vererbungsmodus, bei welchem die Mutation eines Hauptgens den Phänotyp erklärt und andere Gene mit geringeren Effekten und umweltbedingte Faktoren die Expression dieses Hauptgens nur geringfügig modulieren. Hierzu zählen u.a. die benignen familiären neonatalen Anfälle (BFNS), die autosomal dominante nächtliche Frontallappenepilepsie (ADNFLE), die autosomal dominante laterale Temporallappenepilepsie (ADLTE) und die generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus (GEFS+). Die überwiegende Mehrzahl der genetisch determinierten Epilepsien folgt aber einem genetisch komplexen Vererbungsmodus mit multifaktorieller Pathogenese. Zu den polygen vererbten Epilepsiesyndromen gehören u.a. die vier klassischen IGE-Syndrome (CAE, JAE, JME und EGMA). Hier ist der epileptische Phänotyp auf eine komplexe Interaktion mehrerer genetischer Faktoren zurückzuführen, die sehr viel schwerer zu identifizieren sind als bei monogen vererbten Erkrankungen. Einige Mutationen konnten in den letzten Jahren bei den häufigen klassischen Formen der idiopathischen Epilepsien mit komplexem Vererbungsmodus identifiziert werden, wie zum Beispiel für die Absencen oder die juvenile myoklonische Epilepsie. Die bisher bekannten Gene, bzw. die entsprechenden chromosomalen Genorte, sog. Genloci, sind im Anhang in der Tabelle 15 zusammengefasst.

Je nach Vererbungsmodus kommen zur Genidentifikation zwei verschiedene Forschungsansätze zum Einsatz. (1) Studien über monogen vererbte Epilepsie Syndrome werden im Rahmen von parametrischen Kopplungsanalysen mit der Berechnung eines Lod-Scores durchgeführt. (2) Bei polygen vererbten Epilepsien werden genetische Variationen in Kandidatengenen mittels nicht-parametrischen populations- und familienbasierten Assoziationsstudien gesucht.

Nahezu alle bisher identifizierten Gene, die genetische Epilepsien verursachen, kodieren für Ionenkanäle. Dies ist von der Pathophysiologie her gut verständlich, denn Ionenkanäle bilden die Grundlage der Erregbarkeit von Nervenzellen und die meisten derzeit im klinischen Einsatz befindlichen Antikonvulsiva wirken auf Ionenkanäle. Ionenkanäle bilden die Grundlage der elektrophysiologischen Erregbarkeit neuronaler Zellmembranen und der Kommunikation zwischen Neuronen: Spannungsgesteuerte Natrium- und Kaliumkanäle erzeugen die Aktionspotentiale und vermitteln somit die axonale Erregungsfortleitung; Ligandengesteuerte Ionenkanäle, wie der nikotinische Acetylcholinrezeptor (nACHR) oder der γ-aminobuttersäure $GABA_A$-Rezeptor, vermitteln die synaptische Transmission und

somit die Signaltransduktion von einer Zelle zur anderen. Mutationen, die Fehlfunktionen der Ionenkanäle bewirken, können demnach die Erregbarkeit des Gehirns verändern und epileptische Anfälle auslösen.

1.2.2 Idiopathische Generalisierte Epilepsien – IGE

Die vier klassischen IGE-Subtypen sind die kindliche und die juvenile Absence-Epilepsie (CAE, JAE), die juvenile myoklonische Epilepsie (JME) und die Epilepsie mit Aufwach-Grand-Mal (EGMA). Die IGE werden klinisch durch definierte Formen von Anfällen oder durch charakterisierende elektroenzephalographische Merkmale wie bilaterale, synchrone Spike-and-Waves oder Polyspike-and-Wave Entladungen gekennzeichnet. Der Beginn der Anfälle liegt meistens im Kindes- oder im Jugendlichenalter, selten im Erwachsenenalter. Der Anteil an IGE in der Allgemeinbevölkerung beträgt 0,4% (Annegers et al. 1982; Berkovic et al. 1998).

Die idiopathischen generalisierten Epilepsien zeigen eine komplexe genetische Disposition im Gegensatz zu den monogen vererbten Erkrankungen. Das Vorkommen unterschiedlicher IGE Syndrome in einzelnen Familien mit häufig kleinen Stammbäumen ohne klaren autosomal dominanten oder rezessiven Erbgang (Marini et al. 2004) und das altersabhängige Auftreten verschiedener IGE Syndrome bei ein und demselben Patienten vergegenwärtigen die Tatsache, dass es sich bei den IGE um eine multifaktorielle Pathogenese handelt.

1.2.2.1 Juvenile Myoklonische Epilepsie (JME)

Die juvenile myoklonische Epilepsie (JME) ist ein Syndrom von Jugendlichen zwischen dem 12. und 25. Lebensjahr. Klinisch manifestiert sie sich in Form von bilateralen myoklonischen Zuckungen insbesondere der Arme, meist ohne Bewusstseinsverlust. Die Anfälle treten typischerweise nach dem Aufstehen auf und sind durch Schlafentzug provozierbar. Das herunterfallen lassen von Gegenständen in den ersten ein bis zwei Stunden nach dem Aufstehen ist eine typische anamnestische Angabe der Patienten. Der Übergang in generalisierte tonisch-klonische Anfälle ist mit 75% der Fälle sehr häufig. Im EEG zeigen sich oft generalisierte Polyspike-Wave Muster.

Die juvenile myoklonische Epilepsie ist mit einem Anteil von 26% an den IGE eines der häufigsten IGE Syndrome (Janz and Durner 1997). JME macht 4-11% aller Epilepsien aus (Bai et al. 2002).

1.2.2.2 Kindliche Absenceepilepsie (CAE) und Juvenile Absenceepilepsie (JAE)

Absencen sind bei der kindlichen und der juvenilen Absenceepilepsie die prägende Anfallsform. Absencen kommen allerdings auch in verschiedenen Epilepsieformen vor. Je nach Alter des Patienten bei Beginn der Absenceepilepsie werden zwei Hauptverlaufsformen unterschieden: Im Vorschulalter und frühen Schulalter kommt die kindliche Absenceepilepsie (CAE, *childhood absence epilepsy*) und in der Pubertät eher die juvenile Absenceepilepsie (JAE, *juvenile absence epilepsy*) vor. CAE und JAE sind sehr ähnliche Syndrome mit einer Überlappung des Erstmanifestationsalters (Trinka et al. 2004).

Die CAE oder Pyknolepsie beginnt in der Regel zwischen dem 6. und dem 7. Lebensjahr. Sie ist durch das häufige Auftreten von kurzdauernden Absencen (ca. 10 sek.) charakterisiert, die in Form von Clustern auftreten und somit bis zu über 100 Anfälle pro Tag ausmachen können. Das EEG zeigt während einer Absence wie oft auch interiktal bilaterale synchrone und symmetrische spike-wave Komplexe von 2,5-4/sek. Die Absence-Epilepsie kann sich spontan zurückbilden. Allerdings entwickeln 40% der Betroffenen generalisierte tonisch-klonische Anfälle in ihrer Adoleszenz oder später im Leben (ILAE, 1989). Sehr wenige Patienten haben ausschließlich Absence-Anfälle im Erwachsenenalter.
Eine Unterteilung der CAE in 3 verschiedene Subtypen ist in einer Arbeit von Fong et al. (1998) zu finden. Das erste Subsyndrom das man bei 40-60% der CAE-Patienten findet, bezieht sich auf Patienten, bei denen die Anfälle ausschließlich aus Absencen bestehen. Die Anfälle bilden sich in der Pubertät spontan zurück. Das zweite Subsyndrom betrifft weitere 40% der CAE-Patienten. Die Semiologie schließt außer Absencen im Kindesalter auch eine Persistenz der Absencen bis ins Erwachsenenalter ein. Generalisierte tonisch-klonische Anfälle (GTKA) können bei den Erwachsenen auftreten. Das dritte Subsyndrom ist seltener, es tritt bei 10-12% der CAE-Patienten auf und ist durch das Auftreten von generalisierten tonisch-klonischen Anfällen und myoklonischen Anfällen in der Pubertät, nach dem Beginn der Absencen im Kindesalter, gekennzeichnet.

Die JAE ist der Pyknolepsie sehr ähnlich, das Manifestationsalter liegt jedoch in der Pubertät (9. bis 12. Lebensjahr) und generalisierte tonisch-klonische Anfälle treten häufig schon gleich bei Beginn der Epilepsie auf. Diese stellen sich z.T. als Aufwach-Grand-Mal-Anfälle dar. Die Anfallshäufigkeit ist bei der JAE deutlich geringer als bei der CAE, Cluster gibt es in diesem Sinne bei den JAE nicht. Das iktale oder auch interiktale EEG zeigt generalisierte spike-wave Komplexe von 2,5-4/sek.

1.2.2.3 Aufwach-Grand mal Epilepsie (EGMA)

Die Aufwach-Grand-Mal Epilepsie (EGMA) beginnt typischerweise in der zweiten Lebensdekade. Sie ist durch generalisierte tonisch-klonische Anfälle charakterisiert, die unabhängig von der Tageszeit innerhalb der ersten ein bis zwei Stunden nach dem Erwachen stattfinden. Schlafmangel ist ein wichtiger Provokationsfaktor (Janz 2000). Wie schon oben erwähnt, kommt dieses Syndrom auch in Kombination mit anderen IGE des Kindesalters oder des Jugendlichen vor.

1.2.2.4 Genetik der IGE

Die klinischen IGE Syndrome überlappen sich oftmals innerhalb eines einzigen Patienten oder innerhalb einer Familie. Die Überlappung der Syndrome und die große Variabilität von IGE-Phänotypen weisen auf eine komplexe Interaktion mehrerer genetischer Faktoren bei der Vererbung der IGE hin. Analysen des Erbgangs von Familien mit mehreren IGE Mitgliedern stützen die Annahme, dass einzelne Hauptgene die Manifestation der IGE bestimmen. Die molekulargenetische Untersuchung allgemeiner komplexer Merkmale wird durch verschiedene ungelöste analytische Probleme beeinträchtigt, wie zum Beispiel inkomplette Penetranz, Phänokopien, genetische Prägung (genetisches *Imprinting*), eine bedeutende Varianz in der Genotyp-Phänotyp-Beziehung und genetische Heterogenität (Lander et al. 1994).

Bisher wurden einige Suszeptibilitätsregionen und mutierte Gene für idiopathisch generalisierte Epilepsien identifiziert. Hierzu gehören chr8q24 (EIG1) (Zara et al. 1995), chr14q23 (EIG2) (Sander et al. 2000), chr9q32-33 (EIG3) (Baykan et al. 2004), chr10q25-26 (EIG4) (Puranam et al. 2005) und chr10p11.22 (EIG5) (Kinirons et al. 2008). EIG6 wurde mit Variationen in dem CACNA1H-Gen assoziiert (Chen et al. 2003). Eine Form von kindlicher Absenceepilepsie (ECA1) wurde zu chr8q24 gekoppelt (Fong et al. 1998). Andere klinisch ähnliche Formen der CAE schließen ECA2 ein, die durch eine Mutation in

dem *GABRG2*-Gen verursacht wird (Wallace et al. 2001), ECA3 mit einer Mutation des *CLCN2*-Gens (Sander et al. 2000) und ECA4 mit einer Mutation in dem *GABRA1*-Gen (Maljevic et al. 2006). In einer Familie mit juveniler Absenceepilepsie wurde eine Mutation in dem *CLCN2*-Gen entdeckt (Sander et al. 2000) und es wurde eine Mutation in dem *EFHC1*-Gen bei einem Patienten mit JAE nachgewiesen (Stogmann et al. 2006). Zu den bislang identifizierten mutierten Genen, die für die juvenile myoklonische Epilepsie mitverantwortlich sind, zählen das *GABRA1*-Gen auf chr5q34-35 (Cossette et al. 2002), *CACNB4* auf chr2q22-23 (Escayg et al. 2000), *CLCN2* auf chr3q26 (Sander et al. 2000) (Haug et al. 2003) und *GABRD* auf chr1p36.3 (Dibbens et al. 2004). Bei EJM1 wurde eine Mutation in dem *EFHC1*-Gen gefunden (Liu et al. 1995). Weiterhin wurden drei verschiedene Loci mit JME gekoppelt, EJM2 zu chr15q14 (Elmslie et al. 1997), EJM3 zu chr6p21 (Greenberg et al. 1987) und EJM4 zu chr5q12-14 (Kapoor et al. 2007). Zwei Mutationen in dem *CLCN2*-Gen wurden in zwei unabhängigen Familien mit EGMA identifiziert (Haug et al. 2003). Eine Übersicht ist im Anhang in der Tabelle 15 zu sehen.

1.2.3 Fieberkrämpfe (FS), Generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus (GEFS+) und Dravet-Syndrom (*severe myoclonic epilepsy of infancy* = SMEI)

Fieberkrämpfe stellen die häufigste Form der zerebralen Anfallsgeschehen im Kindesalter mit einem Anteil von 2-5% der Kinder unter 5 Jahren dar (Wallace et al. 1996). Ein Fieberkrampf ist ein epileptischer Anfall, der im Kindesalter jenseits des ersten Lebensmonats in Verbindung mit einer fieberhaften Erkrankung auftritt, wobei eine Infektion des zentralen Nervensystems (ZNS) als Ursache ausgeschlossen werden muss. Es handelt sich um einen epileptischen Anfall, ohne vorausgegangene Neugeborenenkrämpfe oder vorausgegangenen afebrilen Anfälle und auf den die Kriterien eines anderen akuten symptomatischen Anfalls nicht zutreffen (Siemes und Bourgeois 2001). Fieberkrämpfe treten während eines Fieberschubes, d.h. bei einer Körpertemperatur von über 38,5°C auf. Sie werden in einfache und komplizierte Fieberkrämpfe unterteilt. (1) Die einfachen Fieberkrämpfe treten als GTKA bei Kindern zwischen dem 6. Lebensmonat und dem 5. Lebensjahr auf. Die Anfälle dauern weniger als 15 Minuten und treten nicht häufiger als einmal innerhalb von 24 Stunden auf. Fieberkrämpfe treten maximal drei Mal im Leben auf und ein EEG ist zwei Wochen nach dem Anfall unauffällig. (2) Ein komplizierter

Fieberkrampf ist gegeben, wenn der Anfall fokal beginnt oder abläuft, länger als 15 Minuten anhält oder der Fieberkrampf sich innerhalb von 24 Stunden beziehungsweise in derselben Fieberperiode wiederholt. Postiktual (nach dem Anfall) können neurologische Herdzeichen beobachtet werden und zwei Wochen nach dem Fieberkrampf sind im EEG häufig Herd- bzw. Epilepsiezeichen zu sehen. Die Kinder können bei komplizierten Fieberkrämpfen unter 6 Monate oder über 4 Jahre alt sein. Obwohl sie benigne sind, entwickeln sich bei 2-7% der Kinder mit Fieberkrämpfen im späteren Alter afebrile Anfälle (Johnson et al. 1998).
Fieberkrämpfe werden von der Bezeichnung Epilepsie abgegrenzt, da letztere durch wiederkehrende afebrile Anfälle gekennzeichnet sind (Engel 2001). Die ersten Anfälle einiger epileptischer Syndrome können sich als febrile Anfälle manifestieren wie zum Beispiel bei der GEFS+, was allerdings erst im weiteren Verlauf festgestellt werden kann.

Die generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus (GEFS+) wurde 1997 erstmals als eigenständige Epilepsieform beschrieben (Scheffer u. Berkovic 1997). Es handelt sich um ein autosomal dominantes Syndrom mit Beginn im Kindesalter, welches sich durch das familiäre Auftreten von Fieberkrämpfen bei Kindern auch nach dem 6. Lebensjahr und von afebrilen Anfällen unterschiedlichster Semiologie auszeichnet. Hierzu zählen u.a. Absencen, myoklonische, myoklonisch-astatische und atonische Anfälle. Eine Kombination mit fokalen Epilespien kommt selten vor. Die Besonderheit dieses Syndroms ist die außerordentliche Variabilität des klinischen Phänotyps. Der EEG-Befund ist mit dem anderer generalisierter Epilepsien vergleichbar. Die Penetranz beträgt 60%.

Das Dravet-Syndrom (SMEI) (Dravet 1978) ist die schwerste Verlaufsform der GEFS+. Die Familienanamnese von SMEI-Patienten ist häufig für Fieberkrämpfe und afebrile Anfälle positiv und in manchen Familien gibt es sogar Überschneidungen mit GEFS+. Das Dravet-Syndrom ist durch klonische und tonisch-klonische Anfälle, die häufig anhaltend und mit Fieber assoziiert im ersten Lebensjahr auftreten, charakterisiert. Im Verlauf der Erkrankung entwickeln sich bei den Patienten afebrile generalisierte myoklonische Anfälle, Absencen oder tonisch-klonische Anfälle. Einfach- oder komplex-fokale Anfälle können auch auftreten. Bis zum zweiten Lebensjahr kann die frühkindliche Entwicklung noch normal sein, dann kommt es aber zu einer Stagnation in der psychomotorischen Entwicklung, zu einer mentalen Retardierung und zu progressiven neurologischen Auffälligkeiten. Die

Erkrankung ist äußerst resistent gegen alle bisher bekannten antikonvulsiven Pharmakotherapien.

Die Ätiologie der Fieberkrämpfe ist unbekannt, ihr Auftreten ist aber eng mit den Faktoren Fieber, Kindesalter und genetische Prädisposition verknüpft. In Familien mit gehäuftem Auftreten von Fieberkrämpfen konnten bisher sechs familiäre Fieberkrampf (FEB)-Loci identifiziert werden. Diese liegen auf den Chromosomabschnitten 8q13-21 (FEB1) (Wallace et al. 1996), 19p13.3 (FEB2) (Johnson et al. 1998), 2q24 (FEB3) mit einer Mutation im *SCN1A*-Gen (Mantegazza et al. 2005), 5q14 (FEB4) mit einer Mutation im *MASS1*-Gen (Nakayama et al. 2002), 6q22-24 (FEB5) (Nabbout et al. 2002) und 18p11.2 (FEB6) (Nakayama et al. 2004).
Bisher konnten verschiedene Suszeptilitätsregionen und mutierte Gene für GEFS+ identifiziert werden. Im Jahre 1998 gelang es Wallace und Mitarbeitern (Wallace et al. 1998) GEFS1 auf eine Mutation im *SCN1B*-Gen zurückzuführen. Dieses Gen kodiert für die β_1-Untereinheit spannungsabhängiger Natriumkanäle. Eine Mutation in einem Gen einer weiteren Untereinheit des Natriumkanals (*SCN1A*), der α-Untereinheit $Na_v1.1$, wurde zunächst in zwei GEFS+ Familien identifiziert (GEFS2) (Escayg et al. 2000). Bei der SMEI wurden weitere Mutationen, die zu einem Funktionsverlust des Natriumkanals führen, in dem Gen *SCN1A* gefunden. Eine positive Kopplung zu chr2p24.2-24.1 (GEFS4) (Audenaert et al. 2005) wurde nachgewiesen. Zudem wurden Mutationen des Gens *GABRG2* in GEFS+ Familien und in solchen mit kindlicher Absence Epilepsie und Fieberkrämpfen identifiziert (Baulac et al. 2001) (Wallace et al. 2001). Letzteres kodiert für die γ_2-Untereinheit eines $GABA_A$-Rezeptors, der zur Familie der Liganden-gesteuerten Ionenkanäle gehört.

1.2.4 Idiopathische fokale Epilepsien

1.2.4.1 Autosomal-dominante laterale Temporallappenepilepsie (ADLTE)

Die ADLTE, auch familiäre Temporallappenepilepsie, beginnt in der Adoleszenz und ist durch das Auftreten meist eher leicht ausgeprägter komplex- oder einfach-fokaler Anfälle charakterisiert. Der Phänotyp dieser Epilepsie ist sehr variabel. Häufig werden auditive Auren beschrieben, manchmal kommt es aber auch zu visuellen, olfaktorischen oder emotionalen Symptomen (Winawer et al. 2000).

Eine Mutation wurde im *LGI1*-Gen entdeckt (Kalachikov et al. 2002), die Funktion des LGI1-Proteins ist bisher noch unbekannt.

1.2.4.2 Familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci (FPEVF)

Die FPEVF beginnt zwischen der ersten und der dritten Lebensdekade. Sie ist dadurch charakterisiert, dass die Anfälle bei Familienmitgliedern eines Stammbaums aus verschiedenen kortikalen Regionen entspringen. Die Semiologie der Anfälle ist allerdings bei jedem einzelnen Betroffenen konstant.
Eine Kopplung zu chr22q11-12 wurde beschrieben, bisher konnte noch kein Gen identifiziert werden (Xiong et al. 1999).

1.2.4.3 Rolando-Epilepsie

Die Rolando-Epilepsie, auch benigne Epilepsie des Kindesalters mit zentrotemporalen Spikes (BECTS), ist eine der häufigsten Epilepsieformen des Kindesalters. Sie beginnt meist zwischen dem 3. und dem 13. Lebensjahr, am häufigsten im Alter von 5 bis 10 Jahren. Es handelt sich um eine benigne Epilepsie mit gutem Ansprechen auf die Medikation und einer Remission in der Adoleszenz. Die Anfälle sind kurz und einfach-fokal oder sekundär generalisiert, sie treten oft aus dem Schlaf heraus auf. Charakteristisch für die Rolando-Epilepsie sind die hemifazialen Anfälle mit somatosensorischer und motorischer Beteiligung. Die Anfälle beginnen mit Parästhesien im Mund, in der Zunge und in einer Gesichtshälfte. Es folgen unilaterale tonische, klonische oder tonisch-klonische Anfälle der Gesichtsmuskulatur, der Lippen, der Zunge sowie der Pharynxmuskulatur. Eine Dysarthrie mit gurgelnden Lauten kommt bei Beteiligung der Larynxmuskulatur vor und es kommt zu einem verstärkten Speichelfluss. Die Kinder sind während des Anfalls bei Bewusstsein. Die hemifazialen Anfälle können sich auf die gleichseitige Körperhälfte ausbreiten und in komplex fokale Anfälle übergehen. Eine sekundäre Generalisierung kommt häufig, vor allem nachts, vor. Kennzeichnend für die Rolando-Epilepsie sind die im EEG zentrotemporal lokalisierten epilepsietypischen Potentiale (Spike/Sharp-Wave).
Eine Kopplung wurde zu chr15q14 nachgewiesen, ein verantwortliches Gen wurde aber bislang nicht beschrieben (Neubauer et al. 1998).

1.2.4.4 Benigne familiäre neonatale Anfälle (BFNS)

Die benignen familiären Neugeborenenanfälle (BFNS: *Benign familial neonatal seizures*) folgen einem monogenen autosomal dominanten Vererbungsmodus mit einer Penetranz von 80% (Plouin. 1994). Die ersten Anfälle treten zwischen dem 1. und 3. Lebenstag auf. Sie äußern sich in Form von häufigen, kurz dauernden tonischen, klonischen, apnoischen oder zyanotischen Episoden. Der Beginn ist klinisch und im EEG meist fokal, wobei häufig rasch eine sekundäre Generalisierung folgt. Häufig treten die Anfälle in Form von Clustern auf, d.h. mit drei oder mehr Anfällen innerhalb von 24 Stunden. Die postiktuale Phase ist bei den Kindern von kurzer Dauer, interiktal reagieren sie adäquat. Interiktale EEGs zeigen in der Regel keine Auffälligkeiten. Meist sistieren die Anfälle innerhalb der ersten Lebenswochen und die weitere psychomotorische Entwicklung bleibt unauffällig. Unlängst wurden allerdings Fälle mit späterer mentaler Retardierung bei betroffenen Familienmitgliedern beschrieben (Steinlein et al. 2007). Spätere generalisierte tonisch-klonische Anfälle wurden nur bei ca. 15% der Fälle im Kindes- und Erwachsenenalter beschrieben.

Im Jahr 1989 wurde erstmals eine Kopplung von BFNS zu Chromosom 20 (Leppert et al. 1989) und 1993 zu Chromosom 8 (Lewis et al. 1993) nachgewiesen. Die identifizierten Loci beinhalten Gene, die für spannungsgesteuerte Kaliumkanäle der KCNQ-Familie kodieren. Im Jahr 1998 gelang es zwei unabhängigen Gruppen, krankheitsrelevante Mutationen in den neuronal exprimierten Kaliumkanalgenen *KCNQ2* (chr20q13, EBN1) und *KCNQ3* (chr8q24, EBN2) zu identifizieren. Seitdem wurden für BFNS mehr als 30 Mutationen in *KCNQ2* und vier Mutationen in *KCNQ3* nachgewiesen, welche respektive für die neuronal spannungsgesteuerten Kaliumkanal-Untereinheiten $K_v7.2$ und $K_v7.3$ kodieren. Alle bisher untersuchten Mutationen in *KCNQ2* und *KCNQ3* haben einen Funktionsverlust mit Haploinsuffiziens und eine Reduktion des resultierenden Kaliumstromes zur Folge, was zu einer Übererregbarkeit der Zelle führt und somit das Auftreten epileptischer Anfälle auslöst (Maljevic et al. 2008; Weber und Lerche 2008).

Sehr interessant in Bezug auf die Pathophysiologie von BFNS ist der Wirkmechanismus des neuen Antiepileptikums Retigabin, das zurzeit noch in Phase III der pharmakologischen Testung für pharmakoresistente fokale Epilepsien ist: Indem es spezifisch die neuronalen Kaliumkanäle der KCNQ-Familie aktiviert, stabilisiert es das Ruhemembranpotential und bewirkt somit das Gegenteil von dem, was die BFNS-assoziierten Mutationen auslösen. (Maljevic et al. 2008). Besonders zu betonen ist, dass durch Retigabin erstmals die Bedeutung genetischer Befunde bei seltenen monogen vererbten Epilepsiesyndromen für

die Pathophysiologie und die Therapie der Epilepsie im Allgemeinen eindrücklich belegt wurde.

1.2.4.5 Benigne familiäre neonatale/infantile Anfälle (BFNIS)

Bei den benignen familiären neonatalen/infantilen Anfällen (BFNIS) handelt es sich um ein autosomal dominantes Epilepsiesyndrom, das sich lediglich durch das Alter bei Beginn der Anfälle von den BFNS und den BFIS unterscheidet. Die ersten Anfälle treten bei den BFNIS zwischen dem 2. Lebenstag und dem 7. Lebensmonat auf, also zwischen den typischen Zeitabschnitten für BFNS und BFIS (Berkovic et al. 2004). Die Anfälle sind fokaler Genese mit oder ohne sekundäre Generalisierung und treten meist in Form von Clustern auf. Sie sistieren spätestens im Alter von 10 Monaten, die weitere psychomotorische Entwicklung ist normal und das Risiko, eine Epilepsie im höheren Alter zu entwickeln, ist mit dem der Allgemeinbevölkerung vergleichbar. Heron et al. (2002) identifizierten in zwei unabhängigen Familien Mutationen im Gen *SCN2A*, welches für die α-Untereinheit $Na_v1.2$ eines neuronalen spannungsgesteuerten Natriumkanals kodiert. Das verantwortliche Gen liegt auf chr2q23-q24.3 und wurde seither in unterschiedlichen Familien bestätigt (Berkovic et al. 2004; Weber und Lerche 2008). Die bisher beschriebenen Mutationen führen zu einem Funktionsgewinn am Natriumkanal und dadurch, ähnlich wie durch die Reduktion des Kaliumstromes bei BFNS, zu einer Übererregbarkeit der entsprechenden Nervenzellen (Scalmani et al. 2006; Xu et al. 2007).

1.2.4.6 Benigne familiäre infantile Anfälle (BFIS)

BFIS ist ein autosomal dominantes idiopathisches Epilepsiesyndrom, das zwischen dem 3. und 12. Lebensmonat beginnt. Es ist eine mit BFNS klinisch verwandte benigne fokale Epilepsie des Säuglingsalters.

Bereits 1963 beschrieb Fukuyama eine günstig verlaufende kindliche Epilepsie mit generalisierten tonisch-klonischen Anfällen in den zwei ersten Lebensjahren und prägte den Begriff der „*benign infantile convulsions*“ (Fukuyama et al. 1963). In den 80er und 90er Jahren beschrieb Watanabe eine fokale kindliche Epilepsie mit komplex-fokalen Anfällen und einfach-fokalen Anfällen mit sekundärer Generalisierung (Watanabe et al. 1987; Watanabe et al. 1990; Watanabe et al. 1993). In den meisten Fällen gab es keine positive Anamnese für gleichartige Epilepsien in der Familie, weshalb dann auch die familiären von den nicht-familiären kindlichen Epilepsien unterschieden wurden: Vigevano et al. (1992)

fokussierte die Beschreibung der günstig verlaufenden kindlichen Epilepsie auf die Familienanamnese und suggerierte die Bezeichnung „*benign infantile familial convulsions*“ (Vigevano et al. 1992).

Die Klinik ist durch das Auftreten von Clustern oder einzelner komplex-fokaler und generalisierter tonisch-klonischer Anfälle geprägt. Cluster werden in 34% der Fälle beobachtet (Weber et al. 2008). Iktale EEGs zeigen meistens einen fokalen Beginn mit sekundärer Generalisierung, können aber auch einen quasi generalisierten Beginn dokumentieren. Interiktale EEGs können unauffällig sein. Es wurden Fälle beschrieben, bei denen interiktale EEGs multifokale und generalisierte Entladungen aufzeichneten. Allerdings zeigten die EEG-Ableitungen der meisten Patienten nach Sistieren der Anfälle im späteren Alter einen Normalbefund (Weber et al. 2008).

Die BFIS gehen mit einer exzellenten Prognose einher, unter anderem durch das gute Ansprechen auf die Medikation und das spontane Sistieren der Anfälle im späteren Kindesalter. Ein diagnostisches Kriterium der BFIS ist eine normale psychomotorische Entwicklung vor dem Auftreten der Epilepsie. Auch die weitere psychomotorische Entwicklung bleibt in der Regel unauffällig, eine mentale Retardierung besteht nicht. Die Inzidenz für andere Epilepsie-Syndrome im höheren Lebensalter ist die gleiche wie in der Allgemeinbevölkerung.

Obwohl für das verwandte Syndrom der benignen familiären Neugeborenenkrämpfe schon Mutationen in einem Kaliumkanal-Gen entdeckt wurden, konnte bislang für die benignen familiären infantilen Anfälle noch kein verantwortliches Gen identifiziert werden. Allerdings wurden in den letzten Jahren mittels Kopplungsanalysen mehrere Kandidatengenregionen beschrieben. Die BFIS1 wurden zu chr19q12-13.11 gekoppelt (Guipponi et al.1997) und die BFIS2 zu chr16p12-q12 (Szepetowski et al. 1997; Weber et al. 2004). Die Kopplung zu chr2q24 (BFIS 3) (Malacarne et al. 2001) entspricht der BFNIS.

Eine Kopplung zu chr16p12-q12 wurde zudem für verschiedene hereditäre neurologische Syndrome mit epileptischen Anfällen und/oder anderen paroxysmalen Symptomen beschrieben: die paroxysmale kinesiogene Choreoathetose (PKC), die infantilen Konvulsionen mit paroxysmaler Choreoathetose (ICCA) und die autosomal-rezessive Rolando-Epilepsie mit paroxysmaler Dystonie und Schreibkrampf.

Die paroxysmale kinesiogene Choreoathetose (PKC) ist durch kurzzeitige und mehrmals am Tag auftretende unwillkürliche Dyskinesien mit dystonen, choreoathetotischen und ballistischen Elementen charakterisiert, die durch plötzliche Bewegungen („kinesiogen“) ausgelöst werden. Sie beginnt im frühen Kindesalter oder in der Pubertät. Eine effiziente

Therapie ist mit Antiepileptika möglich (Tomita et al. 2002). Das Syndrom der infantilen Konvulsionen mit paroxysmaler Choreoathetose (ICCA) entspricht dem kombinierten Auftreten von PKC und BFIS entweder innerhalb eines Stammbaumes oder bei ein und derselben Person (Szepetowski et al. 1997).

Im Jahr 1999 beschrieben Guerrini et al. (Guerrini et al. 1999) eine Kopplung der autosomal-rezessiven Rolando-Epilepsie verbunden mit paroxysmaler Dystonie und Schreibkrampf zu chr16p12-11.2. Die Rolando-Epilepsie ist durch einfach-fokale Anfälle beginnend im Alter von drei bis 13 Jahre und mit typischen epileptiformen Entladungen im EEG in der zentrotemporalen Region charakterisiert. Die Anfälle und die Dystonie treten vermehrt im Kindesalter auf, während die Schreibkrämpfe fortbestehen. Die Anfälle reagieren gut auf antiepileptische Therapie.

Das Syndrom der BFIS ist in manchen Familien mit familiärer hemiplegischer Migräne (FHM) assoziiert, einer schweren und seltenen autosomal dominanten Form der Migräne, die mit einer Aura in Form einer Hemiparese auftritt. In Familien mit FHM wurden verschiedene Mutationen in dem *ATP1A2*-Gen das für eine Na^+/K^+-ATPase-Pumpe kodiert, auf chr1q23 identifiziert (Vanmolkot et al. 2003; De Fusco et al. 2003; Jurkat-Rott et al. 2004). Eine dieser Familien zeigte eine Kombination von FHM mit BFIS-ähnlichen Anfällen (Vanmolkot et al. 2003). Weitere Mutationen in dem *CACNL1A4*-Gen auf chr19p13 (Ophoff et al. 1996), in dem *SCN1A*-Gen auf chr2q24 (Dichgans et al. 2005) und ein Locus auf chr1q31 (Gardner et al. 1997) wurden für die FHM gefunden.

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Rekrutierung und die Charakterisierung von Patienten mit idiopathischen Epilepsien im Epilepsiezentrum Ulm (Klinik für Neurologie der Universität Ulm) und in der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken). Neben der Erhebung von klinischen Daten sollten auch genetische Untersuchungen der Familien durchgeführt werden.

Die Arbeit sollte zu einem besseren Verständnis hinsichtlich des Vorkommens von idiopathischen Epilepsien in Schwerpunktambulanzen führen und darüber hinaus zur Erweiterung der Kenntnisse zur Pathophysiologie von einzelnen idiopathischen Epilepsien beitragen.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1 Klinische Analyse

2.1.1 Patientenkollektiv

Alle Probanden und nicht betroffenen Familienmitglieder, die an der Studie teilnahmen und Eltern der minderjährigen Probanden sind mit dem Protokoll der Studie vertraut und gaben eine schriftliche Einverständniserklärung zu der klinischen und genetischen Diagnostik. Das Verfahren unterliegt der Deklaration von Helsinki und wurde mit einem positiven Votum der Ethikkommission der Universität Ulm beschieden (siehe Abbildung 12 im Anhang).

Die Patienten wurden aus zwei verschiedenen Epilepsiezentren rekrutiert: (1) dem Epilepsiezentrum Ulm (Klinik für Neurologie der Universität Ulm) und (2) der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken). Zunächst wurden die gesamten Akten beider Institutionen (Ulm: 1065; Duisburg: 2250) hinsichtlich der Einschlusskriterien geprüft und die Patienten, die den Einschlusskriterien der Studie entsprachen, in die Studie aufgenommen. Die Rekrutierung der Patienten erfolgte telefonisch, schriftlich oder im Rahmen der Sprechstunde. Die Anamnese und die Untersuchung der Probanden mit ihren Familienangehörigen wurde in der Sprechstunde, bei den Probanden zu hause oder per Telefon und anhand der Patientenakten erhoben. Die Anamnese schloss eine genaue Erhebung der Semiologie der Anfälle und ihrer Frequenz, des neurologischen Status' und der psychomotorischen Entwicklung des Probanden, der Auswertung von EEGs, der Bildgebung des Gehirns und eine Medikamentenanamnese ein.

Die Patientendaten wurden gemäß der Einteilung der Internationalen Klassifikation epileptischer Syndrome der Liga gegen Epilepsie (ILAE, International Liga Against Epilepsy) beurteilt (Engel 2001). Zur Übersicht siehe Tabelle 1.

Tabelle 1 Auszug aus der ILAE (Internationale Liga gegen Epilepsie)-Klassifikation von Epilepsien und epileptischen Syndromen (Engel, 2001) mit den für die Studie relevanten Diagnosen (linke Spalte) und deren Abkürzungen (rechte Spalte).

Idiopathische generalisierte Epilepsien	IGE
Kindliche Absenceepilepsie	CAE
Juvenile Absenceepilepsie	JAE
Juvenile myoklonische Epilepsie	JME
Aufwach-Grand-Mal-Epilepsie	EGMA
Myoklonisch-astatische Epilepsie	MAE
Generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus	GEFS+
Familiäre fokale Epilepsien	
Benigne familiäre neonatale Konvulsionen	BFNS
Benigne familiäre infantile Konvulsionen	BFIS
Benigne familiäre neonatale/infantile Konvulsionen	BFNIS
Autosomal-dominante nächtliche Frontallappen-Epilepsie	ADNFLE
Autosomal-dominante laterale Temporallappen-Epilepsie	ADLTE
Familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci	FPEVF
Idiopathische fokale Epilepsien des Säuglings- und Kindesalters	
Benigne kindliche Epilepsie mit zentrotemporalen Spikes (Rolando-	Rol
Andere hereditäre Epilespiesyndrome	
Infantile Convulsionen mit Paroxysmaler kinesiogener Choreoathetose	PKC/ICCA
Anfälle, die nicht unbedingt die Diagnose Epilepsie tragen	
Fieberkrämpfe	FS

2.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Probanden wurden aus den Akten des Epilepsiezentrums Ulm (Klinik für Neurologie der Universität Ulm) und der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken) ausgewählt.

Die Einschlusskriterien waren (a) alle Probanden mit idiopathischer generalisierter Epilepsie, insbesondere mit JME, CAE, JAE, EGMA; (b) Probanden mit fokaler Epilepsie, mit Fieberkrämpfen, GEFS+, SMEI, BFIS, BFNS, BFNIS ausschließlich bei positiver Familienanamnese für Epilepsie; (c) Probanden mit einer Rolando-Epilepsie mit der Voraussetzung, dass mindestens zwei weitere Familienmitglieder betroffen waren. Die Ausschlusskriterien waren der Nachweis morphologischer oder metabolischer Gehirn-Erkankungen. In den Akten des Epilepsiezentrums Ulm (Neurologische Klinik der Universität Ulm) erfüllten 290 von den insgesamt 1065 Patienten die Einschlusskriterien der Studie. In der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie

Duisburg (Wedau Kliniken) erfüllten 168 von den 2250 Patienten die Einschlusskriterien der Studie.

2.1.3 Studienprotokoll

Neben der ausführlichen Befragung der Patienten bzw. deren Angehörigen und der klinisch neurologischen Untersuchung wurden zur weiteren Klassifikation des klinischen Syndroms die Ergebnisse einer Standard Elektroenzephalographie (EEG, ggf. 24-Stunden-EEG oder eine ausführlichere Video-EEG-Monitoring Untersuchung) und wenn möglich die Ergebnisse einer zerebralen Bildgebung erhoben. Jeder Proband unterlag einer Exploration, die schriftlich in jeweils einem Studienanamnesebogen festgehalten wurde (Abbildung 15 im Anhang).

In einem ersten Teil wurde nach Fieberkrämpfen gefragt, nach deren Semiologie und der Altersspanne in der sie auftraten. In einem zweiten Teil wurde bzw. wurden die Semiologien der epileptischen Anfälle, die genaue Zeitspanne in der diese Ereignisse stattfanden und eine eventuelle Schlafbindung der Anfälle erhoben. Ergebnisse von jeglicher Gehirnbildgebung wie zum Beispiel von zerebraler Magnetresonanztomographie (MRT) oder Schädel-Computertomographie (CT) wurden dokumentiert. Weiterhin wurden die Ergebnisse durchgeführter EEGs erfasst. Verlauf der Geburt und psychomotorische Entwicklung des Patienten wurden dokumentiert und sonstige Erkrankungen wie Migräne oder Bewegungsstörungen wurden zusätzlich aufgenommen. Zuletzt wurde die detaillierte Medikamentenanamnese mit dem Auftreten von Nebenwirkungen und dem Ansprechen auf verschiedene Medikamente festgehalten. Wichtig waren auch die Erhebung der ausführlichen Familienanamnese und die Aufzeichnung des daraus resultierenden Stammbaumes.

2.1.4 Blutproben

Jedem Probanden einschließlich der nicht betroffenen Familienmitglieder sowie den Kontrollpersonen wurde 30 ml EDTA-Blut entnommen (bei Kindern entsprechend weniger) und hieraus die DNA mittels Standard-Methoden gewonnen (s.u.).

2.2 Molekulargenetische Untersuchungen

Von jedem betroffenen und nicht betroffenen Teilnehmer wurden 30ml EDTA-Blut gewonnen, bei Kleinkindern reichten 3-10 ml aus.

2.2.1 Extraktion humaner DNA aus Blutproben

Die Extraktion der DNA aus EDTA-Vollblut erfolgte nach dem QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Kit von Qiagen.

2.2.1.1 Leukozytenlyse

Der erste Schritt zur DNA-Gewinnung war die Lyse der Leukozytenmembran, die den Einsatz eines Lyse-Puffers, der ein Reinigungsmittel zum Aufschluss der Zellmembran enthält, und einer Protease zur Verarbeitung der zellulären Proteinbestandteile, einschloss.

2.2.1.2 DNA-Extraktion

Die nächsten Schritte dienten der Eliminierung von Proteinen aus der DNA-Lösung. Das Lyseprodukt wurde in einer Filtriersäule zentrifugiert, wobei die DNA auf der Membran der Säule sitzen bliebt und die restlichen Zerfallsprodukte mit Hilfe zweier Waschpuffer ausgeschwemmt wurden. Die DNA wurde mit dem Elutionspuffer herausgelöst und wurde dann bei 4°C gelagert. Die Länge der gewonnenen DNA kann bis zu 50 Kilobasen (kb) betragen.

2.2.1.3 Praktische Durchführung der DNA-Extraktion

- 500 µl Qiagen-Protease zum Blut pipettieren
- mit dem Vortex durchmischen
- 12 ml Lyse-Puffer addieren
- Gemisch 10 min bei 70 °C im Wasserbad inkubieren
- 10 ml 100%igen Ethanol zugeben
- mit dem Vortex durchmischen

- 10 ml des Gemischs auf eine Säule geben
- diese 3 min bei 4°C und 4000 rpm zentrifugieren
- Filtrat verwerfen und die letzten 3 Schritte wiederholen
- 5 ml Waschpuffer-1 addieren und 1 min bei 4°C und 4000 rpm zentrifugieren
- 5 ml Waschpuffer-2 addieren und 30 min bei 4°C und 4000 rpm zentrifugieren
- Säule in ein sauberes *Tube* einlegen
- 1 ml Elutionspuffer zugeben
- 5 min bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend 5 min bei 4°C und 4000 rpm zentrifugieren
- Wiederholung des letzten Schrittes
- Das Filtrat bei 4°C lagern.

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- DNA-Isolation: QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Kit von Qiagen
- Vortex: Heraeus/Sorvall® Biofuge pico
- Zentrifuge: Heraeus Megafuge® 1.0 R Benchtop Centrifuge - Thermo Scientific

2.2.1.4 Mengenbestimmung der DNA

Mit Hilfe eines Photometers wurde die Absorption einer DNA-Lösung bei einer Wellenlänge von 160 nm bestimmt. Folgende Rechnung ergab eine Konzentrationsangabe:

Absorption bei 260 nm x 10^4 => Konzentration der DNA-Lösung in µg/ml

Des Weiteren sollte mit einer DNA-Lösung von 5 ng/µl gearbeitet werden. Dazu war folgende Berechnung nötig:

200 / DNA-Konzentration (µg/ml) x 5 => Menge der DNA-Lösung, die man mit Aqua dest. auf 200 µl Endvolumen auffüllt, um 5 ng/µL DNA zu erhalten

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Photometer: Ultrospect®3000, Pharmacia Biotech

2.2.2 Polymerase Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase Chain Reaction (PCR) dient der Amplifizierung eines bestimmten DNA-Fragmentes.

Die Methode beruht auf der Verwendung einer thermostabilen Polymerase, ein Enzym, das aus einem Bakterium gewonnen wird, welches in der Nähe heißer unterseeischer Quellen lebt (Taq steht für *Thermus aquaticus*). Das Temperaturoptimum für die Polymerase liegt bei 72°C, sie übersteht aber Temperaturen bis zu 100°C ohne ihre Funktion einzubüßen.
Zur Erkennung des zu amplifizierenden DNA-Fragments dient ein einzelsträngiges DNA-Stück von 15-30 Nukleotiden als Ansatzpunkt für die Polymerase, ein sog. Primer. Sein Temperaturoptimum, die Annealingtemperatur, hängt von seiner Länge und seiner Nukleotidzusammensetzung ab. Sie variiert zwischen 40°C und 65°C. Pro PCR werden zwei Primer eingesetzt, da die Taq-Polymerase die DNA in beide Richtungen amplifizieren soll: von 3' → 5' (*forward*) sowie von 5' → 3' (*reward*). Hier wurden aufgrund der nachfolgenden Kopplungsanalyse besondere Primer, sog. Marker eingesetzt. Es handelt sich dabei um Mikrosatelliten, d.h. Polymorphismen von Di-, Tri- oder Tetranukleotiden, die zur genetischen Kartierung verwendet werden (siehe 2.2.4, Seite 27).

Das Prinzip der PCR beruht auf einem Zyklus aus 3 Schritten: Die Denaturierung der DNA in ihre Einzelstränge erfolgt bei 92°C. Darauf folgt das Anheften der Primer (*Annealing*) an die DNA-Einzelstränge bei optimaler Temperatur (s.o). Die Polymerisation der DNA findet bei 72°C statt, dem Temperaturoptimum für die Taq-Polymerase-Aktivität. Dabei fertigt die Polymerase einen neuen DNA-Strang mit Desoxyribonukleotidtriphosphaten (dNTPs) als Bausteine an. Die dNTPs sind ein Gemisch aus allen vier Nukleotiden Adenin, Thymin, Cytosin und Guanin. Dieser Vorgang wird 30-40-mal wiederholt, so dass ein quasi exponentieller Anstieg der DNA-Fragmente stattfindet. Ein Reaktionspuffer, Lothar-Puffer, hält den pH-Wert im optimalen Bereich. Zum Pipettierschema siehe Tabelle 2.

2.2.2.1 Praktische Durchführung der PCR

Tabelle 2 Verwendetes Pipettierschema für die polymerase Kettenreaktion (PCR), Reagenzien und Menge je Probe

Reagenz	Menge
Taq-DNA-Polymerase	0,3 µl
dNTP (vier verschiedene Desoxynukleotide)	0,6 µl
Lothar-Puffer	5,0 µl
Primer I (*Forward*)	0,6 µl
Primer II (*Reverse*)	0,6 µl
Destilliertes Wasser	32,9 µl
DNA	10,0 µl
Gesamtvolumen/Probe	**50,0 µl**

DNA = Desoxyribonukleinsäure, dNTP = Desoxyribonukleotidtriphosphat, µl = Mikroliter

Zur Amplifikation wurden die Proben dann unter standardisierten Konditionen in das PCR-Gerät gestellt (Tabelle 3).

Tabelle 3 Verwendetes Protokoll für die polymerase Kettenreaktion (PCR) zur Amplifikation des gewünschten Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Segments.

Temperatur	Dauer	Zyklen
95°C	3 Minuten	1
95°C	30 Sekunden	30-40
X°C	45 Sekunden	
72°C	30 Sekunden	
72°C	2-5 Minuten	1
4°C	Pause	

X = Annealingtemperatur

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Thermocylcer (PCR-Gerät) : Ahatman Biometra, Goettingen, Deutschland

- Taq-DNA-Polymerase : Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland
- Primer : Marker : Human Screening Set/Version 8.8a, Genethon human linkage map, Marshfield marker set
- Desoxyribonukleotidtriphosphate (dNTP): Peqlab, Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland

2.2.3 Gelelektrophorese

2.2.3.1 Agarosegel

Die Gelelektrophorese diente der Auftrennung oder der Längenüberprüfung von DNA-Fragmenten. Abhängig von ihrer Größe wandern die negativ geladenen DNA-Fragmente in einem elektrischen Feld in unterschiedlicher Geschwindigkeit zur positiv geladenen Anode, wobei die kleineren DNA-Fragmente schneller wandern als die großen. Die angelegte Spannung betrug zwischen 80 und 130 V.

Den PCR-Produkten wurde ein *loading buffer* (Auftragspuffer) beigemischt bevor sie in die vorbereiteten Geltaschen gefüllt wurden. Der Auftragspuffer diente der Beschwerung der Proben, damit sie in die Taschen sanken und nicht in den übergeschichteten Puffer (1%iges TBE) diffundierten. Außerdem ermöglichte der Farbstoff des Auftragspuffers eine leichtere Überwachung der Lauflänge des Agarosegels, da er sich in einem elektrischen Feld so bewegt wie ein kleineres DNA-Fragment. Als Referenz wurde eine DNA-Leiter in die erste Tasche gegossen, die je nach Hersteller bestimmte standardisierte Banden zeigt.

Das Gel bestand aus Agarose und dem Puffer TBE (pH = 8,0). Diesem wurde Ethidiumbromid (3 µl auf 100 ml Gel) beigemischt (Tabelle 4). Ethidiumbromid ist positiv geladen und wandert der DNA im elektrischen Feld entgegen. Dabei lagert sich der Farbstoff selektiv in die DNA ein. Nach Beendigung des Gellaufes konnten die DNA-Banden unter UV-Licht anhand der Fluoreszenz des Ethidiumbromids sichtbar gemacht werden.

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Gelelektrophoresegerät: Peqlab, Biotechnologie GmbH, Erlangen, Deutschland
- Agarosepulver NEEO: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland

- TBE: 54 g Tris (USB corporation, Cleverland, OH USA) + 27,5 g Borat (Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland) + 2,92 g Ethylendiamintetraessigsäure (Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland) auf 500 ml destilliertes Wasser
- Ethidiumbromid: Sigma-Aldrich, Steinheim, Deutschland
- DNA-Leiter: 100 bp / 1 Kb, Invitrogen, Carlsbad, Deutschland
- Bilder durch Fujifilm Thermal Imaging system FTI-500, Phamacia Biotech VSD Imagemaster, Lorton, USA

Tabelle 4 Reagenzien und Menge der eingesezten Produkte bei der Herstellung des Agarosegels in Abhängigkeit von der Länge des DNA-Fragments

DNA-Fragment-Länge	Gel-Konzentration	Bestandteile	Menge
DNA-Fragment: 300-700 bp	1%iges Agarosegel	Agarosepulver	2 mg
		1%iges TBE	200 ml
		Ethidiumbromid	6 µl
DNA-Fragment: < 300 bp	2%iges Agarosegel	Agarosepulver	2 mg
		1%iges TBE	100 ml
		Ethidiumbromid	3 µl

bp = Basenpaare, DNA = Desoxyribonukleinsäure, mg = Milligramm, µl = Mikroliter, ml = Milliliter, TBE = Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure

2.2.3.2 Polyacrylamidgel

Wie bei dem Agarosegel war das Ziel der Durchführung des Polyacrylamidgels die Auftrennung von geladenen DNA-Fragmenten in Abhängigkeit von ihrer Länge bei Anlegen einer Spannung, hier 1500 V.

2.2.3.2.1 Gelzubereitung

Die Tabelle 5 zeigt das Schema zur Herstellung des Polyacrylamidgels. Das Gel wurde mittels radikalischer Polymerisation aus den Stoffen Acrylamid und Bisacrylamid (oder N,N-Methylenbisacrylamid) hergestellt. Letzteres sorgte für die Festigung des Gels durch

die Quervernetzung der ansonst linearen Polyacrylamid-Ketten. Der eingesetzte Puffer war TBE, welcher einen pH-Wert von 8,0 herstellte. Die Trenneigenschaften des Polyacrylamidgels hängen nämlich von dem pH-Wert, der Konzentration von Acrylamid und dem Bisacrylamid-Gehalt ab.

Ammoniumpersulfat (APS) wurde mit Tetramethylethylendiamin (TEMED) zu der Gellösung gegeben. APS ist ein Polymerisationsinitiator, der die Radikalbildung initiiert. Als Polymerisationskatalysator führt TEMED zu einer rascheren Polymerisation des Polyacrylamidgels.

Ohne dass Blasen in dem Gel entstanden, wurde es zwischen zwei Glasplatten gegossen, welche durch 1-2 mm dicke Abstandshalter (*Spacer*) getrennt wurden. Das Material musste absolut sauber und trocken sein.

Zur Polymerisation benötigte das Gel ca. 1-5 Stunden, dann wurde es in den ALF gespannt (siehe 2.2.4.1, Seite 28). Die Pufferkammern wurden mit 6%igem TBE gefüllt. 3 µl Probe (PCR-Produkt mit einem Linkage-Puffer) wurden pro Tasche geladen (s.u.).

Tabelle 5 Verwendetes Schema für das Polyacrylamidgel mit den eingesetzten Reagenzien und deren Menge pro Gel.

Reagenz	Menge pro Gel
Harnstoff	25,2 g
Acrylamid (30%)	12,0 ml
10%iges TBE	3,6 ml
Destilliertes Wasser	Add 60 ml
Ammoniumpersulfat	210 µl
Tetramethylethylendiamin	53 µl

Add = Auffüllen auf, g = Gramm, µl = Mikroliter, ml = Milliliter, TBE = Tris-Borat-Ethylendiamintetraessigsäure

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Harnstoff: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
- Acrylamid: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
- Ammoniumpersulfat: Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
- Tetramethylethylendiamin: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland

2.2.3.2.2 Probenvorbereitung

Die Proben sind ein Gemisch aus 1 µl PCR-Produkt und 5 µl einer Mischung aus Standard-DNA-Fragmenten (je 5 µl) und einem *linkage buffer* (250 µl). Das verwendete Pipettierschema ist der Tabelle 6 zu entnehmen. Das Gemisch wird mindestens 5 Minuten auf 95°C gehalten. Das Formamid im *linkage buffer* führt bei dieser Temperatur zur Denaturierung der Nukleinsäuren und zur anschließenden Stabilisierung der Nukleinsäuren während des Sequenzierungvorganges. Die Standard-DNA-Fragmente dienen bei der Auswertung des Gels als Referenz. In jede Probe kommen drei verschiedene Standard-DNA-Fragmente von jeweils 95, 300 und 400 Basenpaaren. Von jeder Probe werden je 3 µl pro Geltasche des Polyacrylamidgels pipettiert.

Tabelle 6 Verwendetes Pipettierschema für die Proben, die in das Polyacrylamidgel geladen werden, mit den eingesetzten Reagenzien und deren Menge pro Probe (*linke Spalte*).

Reagenz			**Menge**		
PCR-Produkt					1 µl
Puffer mit Standard-DNA	Standard-DNA 1			5 µl	5 µl
	Standard-DNA 2			5 µl	
	Standard-DNA 3			5 µl	
	Linkage buffer	Formamid	10 ml	Add 250 ml	
		0,2 M EDTA	1 ml		
		Bromphenolblau	wenig		

Add = Auffüllen auf, DNA = Desoxyribonukleinsäure, EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure, µl = Mikroliter, ml = Milliliter, M = Molar, PCR = Polymerasekettenreaktion

Ein Polyacrylamidgel und die mit dem Computer-Programm AlleliX verarbeiteten Kurven sind im Anhang in den Abbildung 16, Abbildung 17 und Abbildung 18 dargestellt. Es handelt sich um den Marker D16S411 für die Proben der Familie BFIS35.

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Standard-DNA: 10 µL Template (Pumillo Human 1 ng/µL) + 5 µL PCR-Puffer + 0,6 µL Primer f (Standard 795) (50 pmol/µL) (Thermo Hybaid GmbH, Deutschland) + 0,6 µL Primer r (Standard 95, Standard 300 oder Standard 400) (50 pmol/µL) (Thermo

Hybaid GmbH, Deutschland) + 0,5 µL dNTP + 33,3 µL destilliertes Wasser + 0,2 µL Taq-Polymerase. Anschließend PCR mit Annealing bei 60°C.

- Formamid : Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
- Ethylendiamintetraessigsäure: Carl Roth GmbH & Co., Karlsruhe, Deutschland
- Bromphenolblau : Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland

2.2.4 Statistische Auswertung: Kopplungsanalyse, zwei-Punkt Lod-Score-Analyse

Eine Kopplungsanalyse dient der Erstellung einer genetischen Karte, in die die physische Distanz und die Rekombinationsrate zwischen verschiedenen Genen eingehen. Anhand dieser Methode kann also eine Kopplung festgestellt und eine Rekombinationsrate geschätzt werden. Dies ermöglicht eine Untersuchung des Übertragungsmodus, eine Auflösung der ätiologischen Heterogenität, eine Berechnung des genetischen Risikos und die Erstellung einer genetischen Karte (Lathrop et al. 1984).

Das Prinzip der Kopplungsanalyse beruht auf dem Vergleich der Position eines Gens im Genom mit bekannten genetischen Markern. Dazu macht man sich den Mechanismus der genetischen Rekombination zunutze. Die Rate der Rekombinationen zwischen zwei chromosomalen Genorten, sog. Genloci, ist proportional zu der physischen Distanz zwischen diesen Loci. Folglich, je weiter zwei Genloci voneinander entfernt sind, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass diese Gene durch Rekombination in der Meiose getrennt werden. Der Genlocus ist die physikalische Position eines Gens im Genom. Die relativen Abstände zwischen zwei Genen auf einem beliebigen Chromosom kann physikalisch in Basenpaaren (physikalische Karte) oder genetisch in der Wahrscheinlichkeit, dass Cross-over zwischen den beiden Genloci stattfindet (genetische Karte) gemessen werden. Die genetische Kartierungseinheit ist ein centiMorgan (cM). 1 cM bedeutet eine Rekombinationshäufigkeit von 1%.

Für verschiedene Rekombinationsfraktionen (θ) wird der Lod-Score berechnet. Er wird als statistische Abschätzung der Wahrscheinlichkeit herangezogen, ob zwei Loci auf demselben Chromosom nahe beieinander liegen und somit gekoppelt vererbt werden. Dabei entspricht eine Rekombinationsfraktion θ von 0,0 zwei nebeneinander liegenden Loci und eine Rekombinationsfraktion θ von 0,5 zwei weit voneinander oder auf verschiedenen Chromosomen liegende Loci. Der Lod-Score ($Z(\theta)$) wird berechnet als der 10er-

Logarithmus des Verhältnisses der Wahrscheinlichkeit L(θ) dass zwei Marker miteinander gekoppelt sind, zur Wahrscheinlichkeit L(θ=0,5) dass zwei Marker sicher nicht miteinander gekoppelt sind.

$$Z(\theta) = \log_{10} [L(\theta) / L(\theta=0,5)]$$

Ein Lod-Score von über 3 wird als statistisch signifikant bewertet und steht somit für eine Kopplung (*genetic linkage*) zwischen dem Marker und dem Erkrankungslokus, da bei einem Lod von 3 die Wahrscheinlichkeit, dass diese Loci aufgrund einer Kopplung gemeinsam übertragen wurden 1000 mal größer ist als die Wahrscheinlichkeit, dass diese Loci zufällig miteinander vererbt wurden. Bei einem Lod-Score von unter -2 ist eine Kopplung zwischen zwei Genorten bzw. dem Marker und dem Erkrankungslokus statistisch gesichert ausgeschlossen.

2.2.4.1 Durchführung

Der erste Schritt der Kopplungsanalyse dient der genauen Längenbestimmungen eines DNA-Fragmentes bis auf ein Basenpaar genau. Er wurde mit einem „ALFexpress DNA Sequencer“ durchgeführt. Dieser besteht aus einem Aufhangsystem für das Polyacrylamidgel, einem Laserstrahl und einem Computerprogramm, das die Informationen des Lasers verarbeitet.
Für die Kopplungsanalyse wurden bei der Polymerase Kettenreaktion (s.o.) besondere Primer, auch Marker genannt, angewandt. Marker sind Mikrosatelliten, d.h. Polymorphismen von Di-, Tri-, Tetranukleotiden, die typischerweise bei der genetischen Kartierung (auch Mapping) eingesetzt werden. An dem 5’-OH-Ende einer der beiden Marker war ein Molekül Indodicarbocyanin (Cy5) angehängt. Das Indodicarbocyanin ist ein fluoreszierender Farbstoff, der im Verhältnis 1:1 an die DNA-Moleküle gebunden ist (Filee et al. 2001). Wenn das Indodicarbocyanin-beladene DNA-Fragment beim Lauf durch das Polyacrylamidgel den Laserstrahl durchquerte, emittierte das Indodicarbocyanin Licht, das von Photodetektoren lokalisiert wurde. Pro Probelaufbahn gibt es einen Photodetektor. Die von den Photodetektoren ausgehenden Signale wurden im Computer gespeichert und verarbeitet. So wurden letztendlich die DNA-Fragmente hinsichtlich ihrer Länge bestimmt und konnten die individuelle Länge der untersuchten Mirkosatelliten anzeigen.

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Alf Express automated sequencer : Pharmacia Biotech, Freiburg, Deutschland

2.2.4.2 Allel-Bestimmung - Haplotypenanalyse

Als Allel wird die mögliche Ausprägung eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort (Locus) auf einem Chromosom befindet, bezeichnet. Die gemeinsam vererbten Allele von eng gekoppelten Genorten oder Sequenzvarianten auf einem Chromosom bilden einen Haplotypen. Die Computerdaten wurden mit dem Programm „AlleliX (international test release) V2 00.25“ gelesen. Die analysierten Allele der untersuchten Individuen wurden mittels eines Stammbaum-Programmes, Cyrillic, mit dem jeweiligen Phänotypen der Individuen (betroffen versus nicht betroffen) verglichen. Die Informationen wurden anschließend zur Genotypenanalyse in die MLINK subroutine des Linkage package Programms transferiert (Lathrop et al. 1984). Für die Lod-Score Berechnung bei BFIS wurde ein autosomal dominanter Erbgang, eine Krankheitsallelfrequenz von 0,0001 und eine Penetranz von 70% verwendet.

Für diesen Arbeitsschritt wurden folgende Geräte und Substanzen verwendet:

- Computer-Programm : AlleliX (international test release) V2 00.25
- Stammbaumanalyse : Cyrillic : Version 2.1.3, CHEM Research, Frankfurt, Deutschland
- Genotypenanalyse : MLINK subroutine des Linkage package Programms

3. Ergebnisse

3.1 Epidemiologie

3.1.1 Erfassung der Probanden

Die gesamten Akten zweier Epilepsiezentren, (1) des Epilepsiezentrums Ulm (Klinik für Neurologie der Universität Ulm) und (2) der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken), wurden hinsichtlich der Einschlusskriterien der Studie überprüft und die entsprechenden Patienten wurden erfasst (siehe 2.1.2, Seite 17). In Ulm wurden 290 Betroffene aus den 1065 Akten ausgewählt und in Duisburg 168 Betroffene aus den insgesamt 2250 Akten. Da einerseits Patienten die Teilnahme an der Studie ablehnten und andererseits die Kontaktaufnahme zu den Patienten durch mangelnde Informationen über Adressen und Telefonnummern erschwert war, wurden in Ulm lediglich 172 Betroffene und in Duisburg 54 Betroffene rekrutiert. Die Patienten der Epilepsiezentren wurden entsprechend der Familienanamnese mit weiteren Betroffenen ihrer Familie und mit nicht betroffenen Familienmitgliedern rekrutiert, bei negativer Familienanamnese nur mit den Eltern, wenn es möglich war. Das so entstandene Teilnehmergut wird in der Abbildung 1 als „Probanden“ bezeichnet. In Ulm wurden letztendlich 305, in Duisburg 133 Probanden rekrutiert. Die resultierende Anzahl der teilnehmenden Familien beträgt in Ulm 140 und in Duisburg 26. Eine Übersicht über den Rekrutierungsvorgang gibt Abbildung 1.

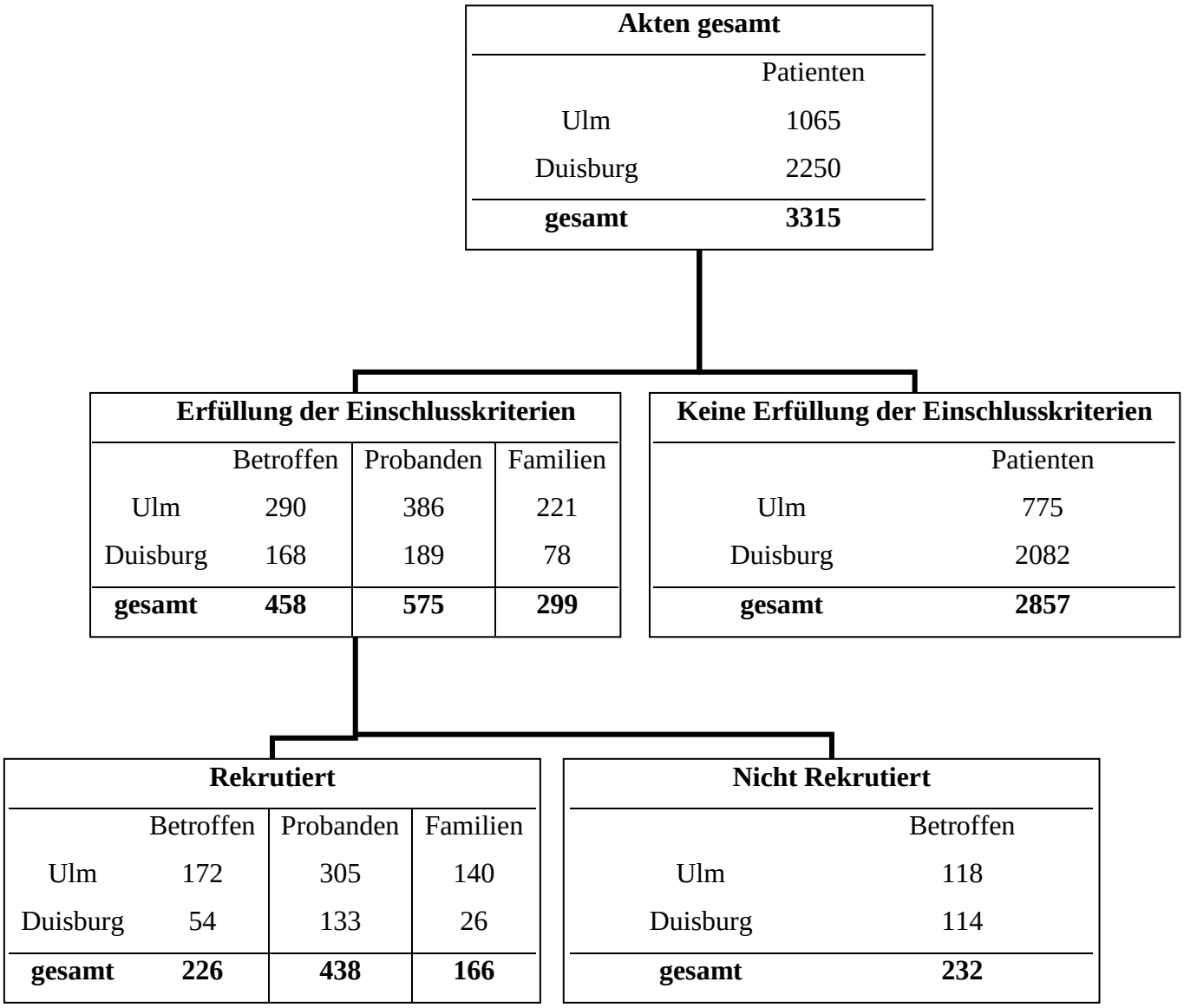


Abbildung 1 Anzahl der Patienten des Epilepsiezentrums Ulm (Klinik für Neurologie der Universität Ulm) und der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken), von Beginn bis Ende des Rekrutierungsvorganges.

3.1.2 Semiologie in dem rekrutierten Patientenkollektiv

Die Diagnosen des gesamten Patientenkollektivs umfassten mehrere idiopathische Epilepsiesyndrome (siehe 2., Seite 16). Die Verteilung der Epilepsie Syndrome in dem Patientenkollektiv kann der Tabelle 7 entnommen werden.

Tabelle 7 Anzahl der rekrutierten Patienten nach Epilepsie Syndromen geordnet, entsprechend der ILAE-Klassifikation von Epilepsien und epileptischen Syndromen.

Epielspiesyndrom	Anzahl der Betroffenen	[%]	
Idiopathisch generalisierte Epilepsien	**120**	**[58]**	**[%] der IGE**
EGTCS	33	[16]	[27]
CAE	17	[8]	[14]
JAE	17	[8]	[14]
EGMA	8	[4]	[7]
JME	45	[22]	[38]
Andere idiopathische Epilepsien	**86**	**[42]**	
BFNS	2	[1]	
BFIS	2	[1]	
BFNIS	1	[0,5]	
MAE	1	[0,5]	
GEFS+	20	[9,5]	
SMEI	1	[0,5]	
nicht klassifizierbare Epilepsien	59	[29]	
Summe	**206**	**[100]**	**[100]**

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle, BFNIS = benigne familiäre neonatale/infantile Anfälle, BFNS = benigne familiäre neonatale Anfälle, CAE = kindliche Absenceepilepsie, EGMA = Epilepsie mit Aufwach-Grand-Mal, EGTCS = generalisierte Epilepsie mit tonisch-klonischen Anfällen, GEFS+ = generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus, IGE = idiopathisch generalisierte Epilepsie, JAE = juvenile Absenceepilepsie, JME = juvenile myoklonische Epilepsie, MAE = Myoklonisch-astatische Epilepsie, SMEI = Dravet-Syndrom.

Idiopathische generalisierte Epilepsien wurden bei 58% der rekrutierten Patienten beobachtet. Die Verteilung der einzelnen Syndrome der idiopathischen generalisierten Epilepsien ist in der Tabelle 7 zu sehen; die CAE machten wie die JAE 14% der idiopathisch generalisierten Epilepsien aus, die EGMA ergaben 7% und die JME 38% der idiopathisch generalisierten Epilepsien. Generalisierte tonisch-klonische Anfälle, die

unabhängig von Schlaf oder Aufwachen auftraten und im EEG generalisierte epilepsietypische Potentiale (Spike/Wave) zeigten, wurden als „generalisierte Epilepsie mit tonisch-klonischen Anfällen“ (EGTCS) bezeichnet und machten 27% der idiopathischen generalisierten Epilepsien aus.

Von dem gesamten Kollektiv der betroffenen Teilnehmer hatten 42% eine idiopathische Epilepsie, die nicht zu den IGE gezählt werden. Dazu zählten die Syndrome GEFS+, MAE, SMEI, BFNS, BFIS und BFNIS und andere nicht klassifizierbare Epilepsien mit epileptischen Anfällen im Sinne einer Epilepsie aber einem EEG ohne epilespietypischen Potentiale; weiterhin Rolando-Epilespie oder photosensitive Epilepsien, autosomal-dominante laterale Temporallappenepilepsie, familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci und weitere benigne fokale Anfälle des Kindesalters und der Adoleszenz mit einer ausschließlich positiven Familienanamnese für Epilepsie. Die anderen nicht klassifizierbaren Epilepsien mit epileptischen Anfällen im Sinne einer Epilepsie aber einem EEG ohne epilespietypischen Potentiale machten 29% der idiopathischen Epilepsien aus. Die benignen familiären Anfälle des Neugeborenen- und Säuglingsalters (BFNS, BFIS, BFNIS) sind seltene Syndrome und wurden bei respektive 1%, 1% und 0,5% der Patienten beobachtet.

3.1.3 Familienanamnese bei idiopathischen generalisierten Epilepsie-syndromen

Eine positive Familienanamnese mit zwei oder mehr betroffenen Probanden pro Familie wurde bei 75 der insgesamt 166 rekrutierten Familien festgestellt. Patienten, die unter der Diagnose „andere idiopathische Epilepsien“ rekrutiert wurden, wurden nachfolgend nicht in die Auswertung eingeschlossen, da diese sowieso mit der Vorraussetzung rekrutiert wurden, dass die Familienanamnese positiv war. Einen Überblick über die klinische und die familienanamnestische Verteilung der rekrutierten Familien gibt die Abbildung 2.

Die Auswertung begrenzte sich also auf die 103 Familien mit häufigen idiopathischen generalisierten Epilepsien. Hierzu gehörten 40 JME-Familien, 15 CAE-Familien, 16 JAE-Familien, 8 EGMA-Familien und 24 Familien mit EGTCS. Eine negative Familienanamnese wurde bei 72 Familien gefunden (72/103; 70%). Bei 31 Familien

(31/103; 30%) war die Familienanamnese für Epilepsie positiv, d.h. mit zwei oder mehr Betroffenen pro Familie.

Es wurden 92 Familien als Kernfamilie rekrutiert (92/103; 89%), d.h. nur Eltern mit ihren Kindern. Bei 20 der Kernfamilien war die Familienanamnese positiv, was bedeutet, dass bei 20 Patienten entweder die Eltern oder/und die Geschwister betroffen waren. Die restlichen 11 IGE-Familien (11/103; 11%) waren Multiplexfamilien, d.h. Familien mit mehreren Probanden, die die Grenzen der Kernfamilie überschreiten (JME, 1; CAE, 2; JAE, 2; EGMA, 0; EGTCS, 6). In diesen Familien war die Familienanamnese positiv und alle Betroffenen überschritten die Grenzen der Kernfamilie.

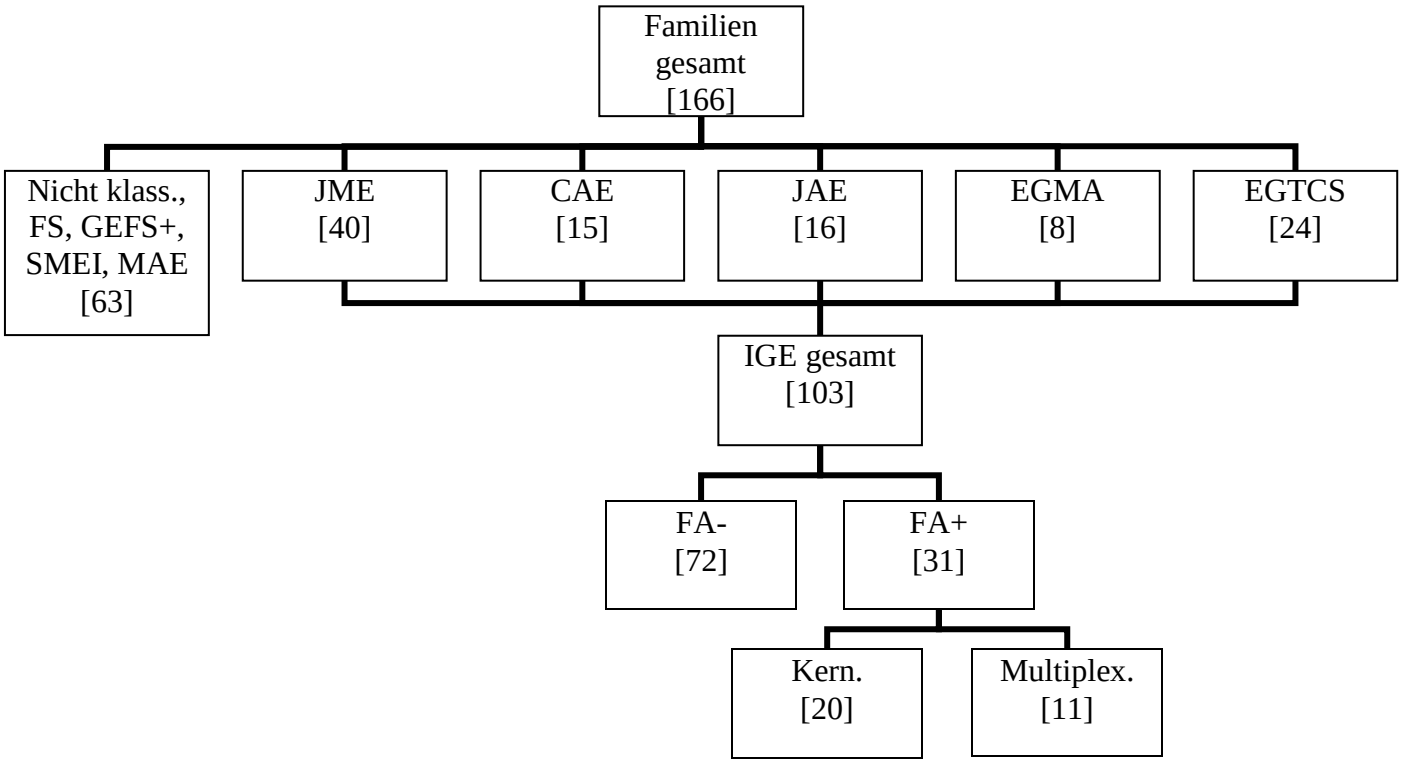


Abbildung 2 Anzahl (in Klammern) der rekrutierten Familien mit deren Aufteilung hinsichtlich der Diagnose und der Familienanamnese für Epilepsie. Es werden nur die häufigen idiopathisch generalisierten Epilepsie Syndrome (JME, CAE, JAE, EGMA) im Detail aufgeführt, da die restlichen Syndrome unter der Vorraussetzung rekrutiert wurden, dass die Familienanamnese positiv war.

CAE = kindliche Absenceepilepsie, EGMA = Epilepsie mit Aufwach-Grand-Mal, FA+ = positive Familienanamnese, FA- = negative Familienanamnese, FS = Fieberkrämpfe, GEFS+ = Generalisierte Fieberkrämpfe plus, IGE = idiopathisch generalisierte Epilepsie, JAE = juvenile Absenceepilepsie, JME = juvenile myoklonische Epilepsie, Kern. = Kernfamilie, MAE = myoklonische astatische Epilepsie, Multiplex. = Multiplexfamilie mit positiver FA, die über die Grenzen der Kernfamilie hinausgehen Nicht klass. = nicht klassifizierbare idiopathische Epilepsien, SMEI = Dravet-Syndrom.

3.1.4 Einteilung der Diagnosen und Ätiologien

3.1.4.1 Patienten des Epilepsiezentrums Ulm

In dem Epilepsiezentrum Ulm, dessen Patientengut aus erwachsenen Patienten besteht, hatten 290 der 1065 Patienten eine idiopathische Epilepsie. Somit machten die idiopathischen Epilepsien 27% und die symptomatischen und kryptogenen Epilepsien 73% aller Epilepsien aus (siehe Abbildung 3).

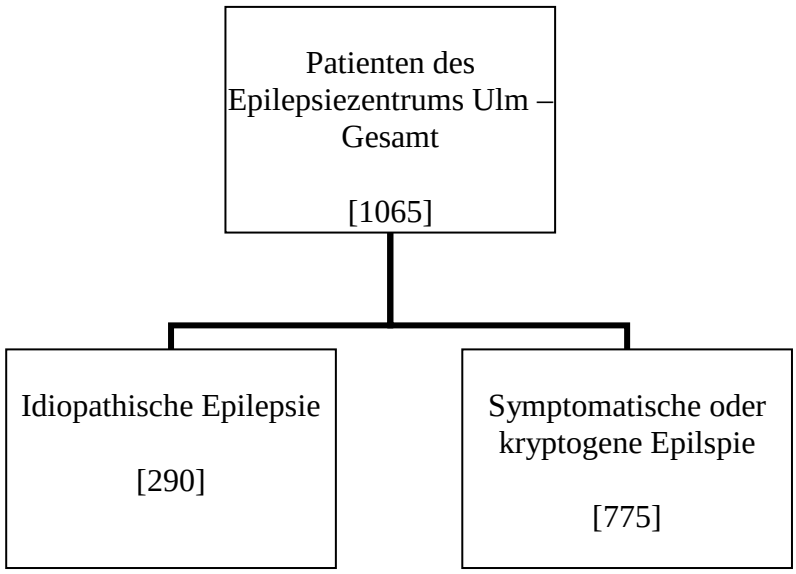


Abbildung 3 Einteilung der Patienten des Epilepsiezentrums Ulm nach der Ätiologie der Epilepsie. Anzahl der Patienten in Klammern [ ].

3.1.4.2 Patienten der Wedau Kliniken/Duisburg

Unter den 2250 Akten der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken) wurden aus organisatorischen Gründen 919 Akten hinsichtlich der Diagnosen genauer untersucht (siehe Abbildung 4). Dieses Vorgehen ermöglichte eine gründliche klinische Einteilung von einer Stichprobe des Patientenguts dieser Einrichtung. Einen Überblick verschafft Abbildung 4. Von den 919 überprüften Patienten hatten 101 eine Migräne (11%) und 416 andere neurologische Erkrankungen (45%). Die restlichen 402 Akten betrafen Patienten mit vermutlichen epileptischen Anfällen (44%). Diese teilten sich in Patienten mit Fieberkrämpfen, die mit

einer negativen Familienanamnese kombiniert waren (88), Patienten mit fraglicher Epilepsiediagnose (69) und Patienten mit eindeutiger Epilepsie (245) auf.

Zu den eindeutigen Epilepsie-Patienten zählten 97 Fälle mit symptomatischen oder kryptogenen Epilepsien (97/245; 40%) und 148 Fälle mit Epilepsien idiopathischer Ätiologie (148/245; 60%). Idiopathische Epilepsien waren ca. doppelt so häufig von fokaler (68%; 101/148) als von generalisierter (32%; 47/148) Genese. Die fokalen Anfälle waren bei 10% (10/101) der Patienten mit einer positiven Familienanamnese für Epilepsie verbunden, bei 90% (91/101) der Patienten mit fokalen Anfällen war die Familienanamnese negativ.

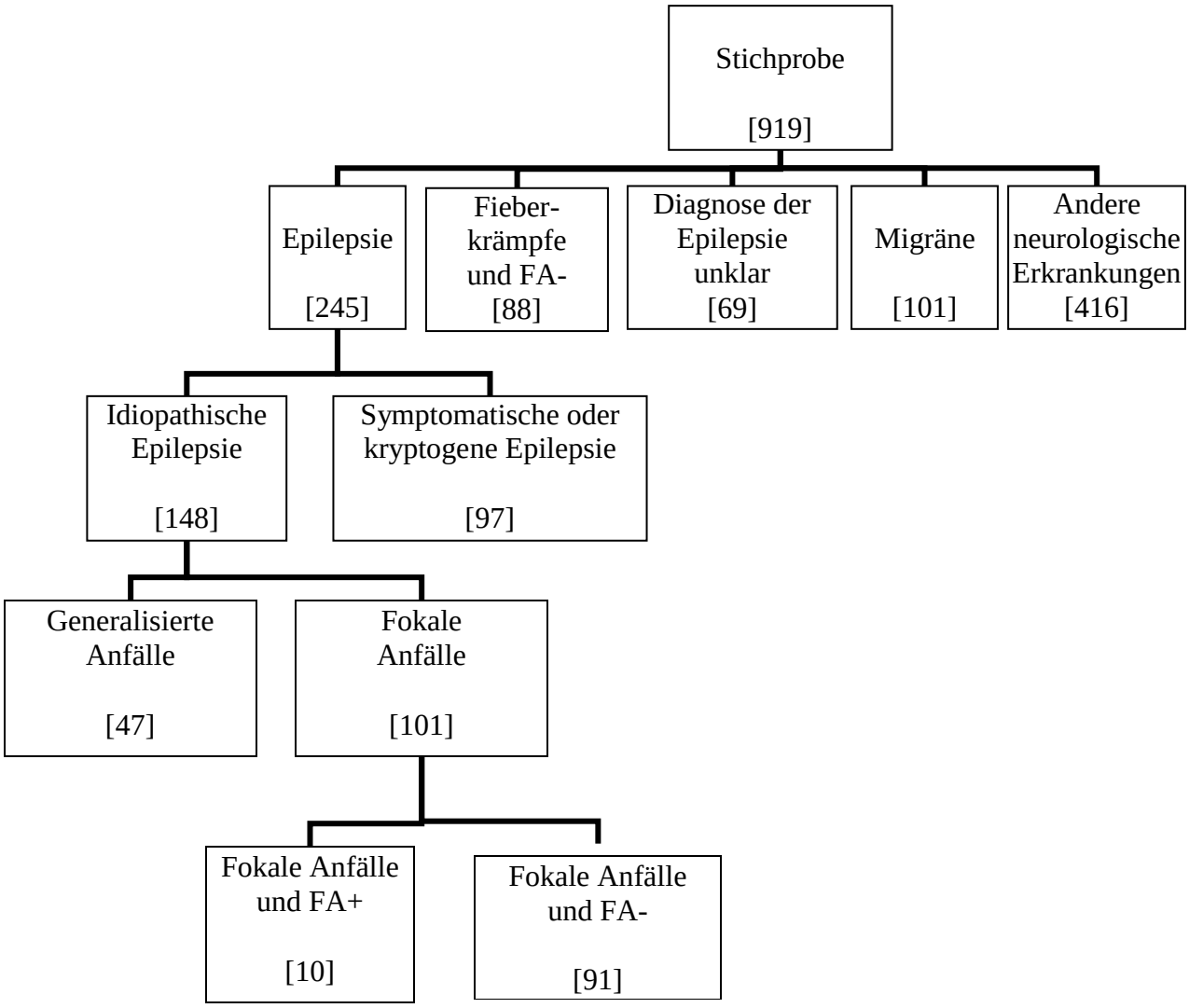


Abbildung 4 - Stichprobe aus den Akten der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken) mit Anzahl der Patienten in Klammern [ ].
Die detaillierte Untersuchung einer Stichprobe von 919 Akten aus jener neurologischen Einrichtung erlaubt eine Aussage zu der Verteilung der gesamten gebotenen Diagnosen und der Epilepsien hinsichtlich ihrer Ätiologie zu machen.

FA- = negative Familienanamnese, FA+ = positive Familienanamnese.

3.2 Klinische Beschreibung einiger Multiplexfamilien

3.2.1 Familie IGE92

Die Abbildung 5 zeigt den Stammbaum einer deutschen Familie. Von den 26 Familienmitgliedern wurden 12 klinisch untersucht.

Gemeinsam war den vier betroffenen Familienmitgliedern das Auftreten von generalisierten tonisch-klonischen Anfällen im Verlauf ihrer Epilepsie. Die Anfälle sprachen außer bei IV.3 gut auf die Therapie an (Römische Zahlen = Generation; Arabische Zahlen = Individuum innerhalb einer Generation). Die neurologische Untersuchung ergab bei allen Familienmitgliedern einen Normalbefund und die psychomotorische Entwicklung war bei jedem Familienmitglied normal. In dieser Familie kamen keine Bewegungsstörungen vor. Eine Migräne war ausschließlich bei III.8 zu finden.

III.8 (w, 32): Die 32-jährige Patientin hatte insgesamt zwei GTKA im Alter von 15 und von 17 Jahren, die unabhängig von Schlaf oder Erwachen auftraten. Einer der Anfälle fand im Rahmen eines Diskobesuches statt. Eine Medikation mit Valproat (600 mg pro Tag) wurde bis zum 28. Lebensjahr durchgeführt. Seitdem traten keine weiteren Anfälle mehr auf. Alle EEG-Aufnahmen waren unauffällig. Zusätzlich zu der Epilepsie leidet die Patientin seit ihrer Kindheit an einer Migräne ohne Aura, wobei die Familienanamnese für Migräne negativ ist.

III.9 (m, 29): Zwischen seinem 12. und seinem 22. Lebensjahr hatte der Patient ein bis zwei primäre GTKA pro Jahr. Zu Beginn traten die Anfälle bei Nacht oder Frühmorgens gleich nach dem Aufwachen auf, später waren sie zum Teil durch Schlafmangel oder Alkoholkonsum getriggert und traten auch tagsüber auf. Seit der Einstellung mit Valproat (1800 mg pro Tag) sind keine Anfälle mehr beobachtet worden. Im Alter von 12 Jahren sind im EEG bei Hyperventilation generalisierte 3/sek. Spikes-and-Waves aufgenommen worden. Die letzten EEGs zeigen keine Verlangsamung oder epilepsietypischen Potentiale mehr.

III.3 (m, 46): Der Patient lehnte die Teilnahme an der Studie ab. Die Mutter berichtete über Anfälle, deren Semiologie mit der einer juvenilen Absenceepilepsie vereinbar ist. Ab dem

12. Lebensjahr traten typische Absencen auf, die auf die Therapie gut ansprachen; diese wurde eigenständig abgesetzt. Daraufhin kam es zu einem GTKA im 16. Lebensjahr. Im Alter von zweieinhalb Jahren erlitt er einen einmaligen Fieberkrampf. Der Patient ist bis heute medikamentös gut eingestellt. Ein EEG war nicht verfügbar. Die psychomotorische Entwicklung war normal.

IV.3 (w, 14): Bei der 14-jährigen Patientin waren die Geburt und die postnatale Entwicklung normal. Der Beginn der Anfälle liegt im 7. Lebensmonat mit zwei sekundär generalisierten tonisch-klonischen Anfällen ohne Fieber. Die Anfallssemiologie ist insgesamt sehr variabel. Zu Beginn traten febrile und afebrile GTKA und hemiklonische Anfälle auf. Später entwickelte die Patientin visuelle Auren, komplex-partiale Anfälle und klonische Anfälle der rechten Hand. Während eines Video-EEG-Monitorings wurden mehrere Anfälle aufgenommen, die rechts parieto-okzipitale, links und rechts fronto-zentrale Entladungen mit sekundärer Generalisierung im iktalen EEG zeigten. Interiktal konnten mehrere multifokale Spikes beobachtet werden. Die Patientin wurde mit vielen antikonvulsiven Medikamenten therapiert (Valproat, Vigabatrin, Carbamzepin, Brom, Sultiam, ketogener Diät, Lamotrigin und Ethosuximid), blieb aber pharmakoresistent. Die aktuelle antiepileptische Therapie wird mit Topiramat durchgeführt; Ein Versuch, die Medikation abzustellen gelang bisher nicht. Alle cerebralen MRTs waren normal. Mit 11 Jahren wurde bei der neurophsychologischen Untersuchung eine milde Reduktion bei konzentrationsbedürftigen Aufgaben aber keine zusätzlichen Defizite festgestellt. Leichte Koordinationsprobleme entwickelten sich später noch.

Diese Familie wurde im Rahmen einer Studie mit einer Kohorte von 52 unabhängigen Familien hinsichtlich von Mutationen in dem *CLCN2*-Gen molekulargenetisch und elektrophysiologisch untersucht (Saint-Martin et al. 2009).
Der Patient III.9 zeigte eine c.1730G>A Mutation in dem *CLCN2*-Gen, welche in einer Substitution von Arginin zu Glutamin an Position 577 (p.arg577Gln) resultiert. Die R577Q Variante konnte auch bei der betroffenen Schwester (III.8) identifiziert werden. Die Mutation wurde durch den asymptomatischen Vater vererbt.
In der Familie waren zwei Personen betroffen, die einen entfernten Verwandtschaftsgrad zu den mutationstragenden Betroffenen hatten: die Betroffene mit SMEI-ähnlichem Phänotyp (IV.3) zeigte keine R577Q Variante. Eine direkte Sequenzierung des *SNC1A*-Gens bei

dieser Patientin ergab eine *de novo* heterozygote Deletion (c.4339-12_4349del123) bei der Überlappung von Intron 22 und Exon 23.

Der vierte Betroffene dieser Familie nahm nicht an der Studie teil, seine Mutter (II.5) trug allerdings keine R577Q- Variante.

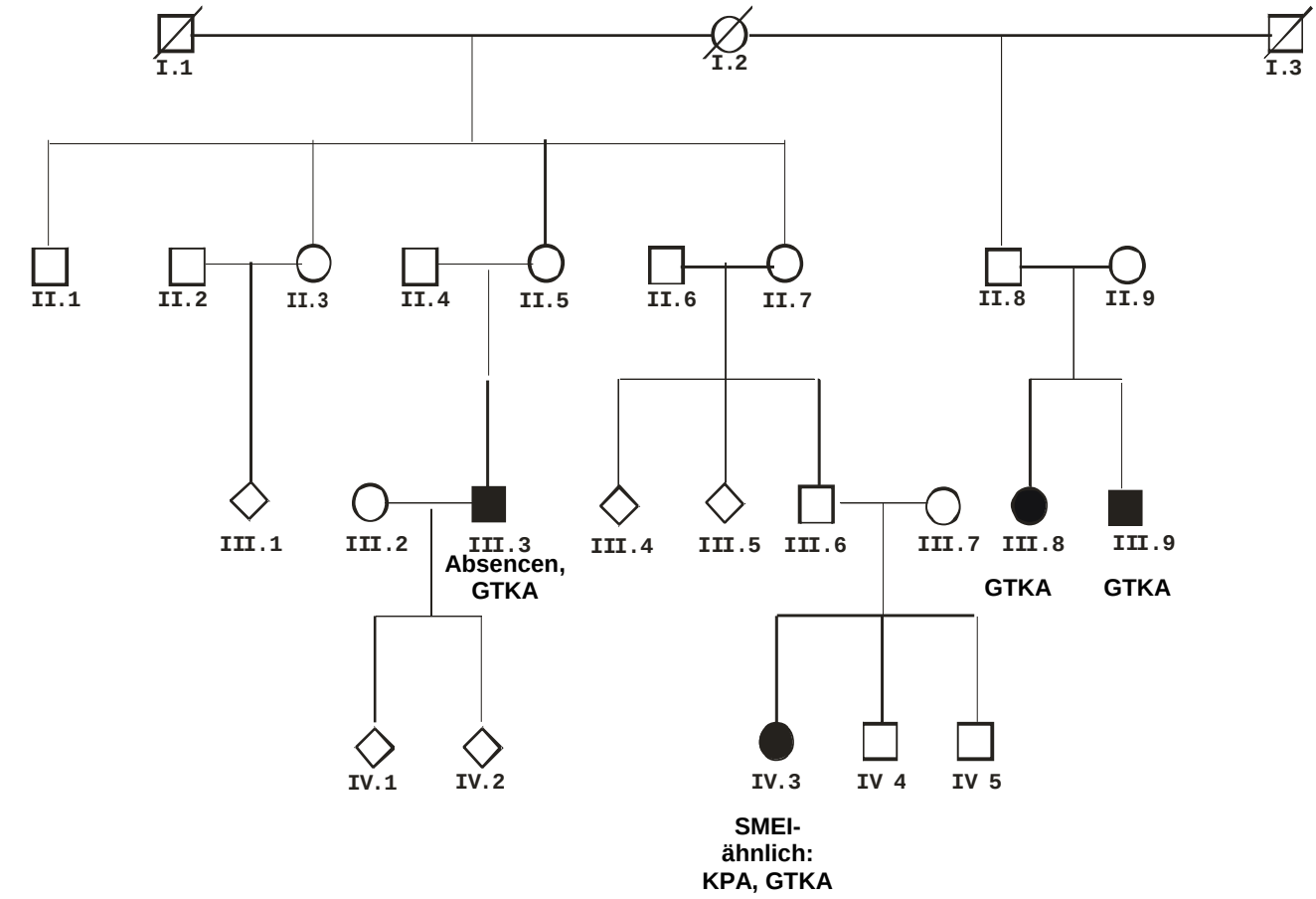
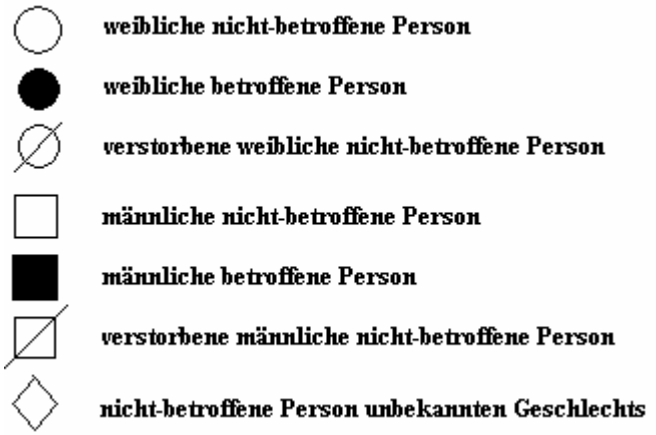


Abbildung 5 Stammbaum der Familie IGE92



GTKA = generalisierte tonisch-klonische Anfälle, IGE = idiopathische generalisierte Epilepsie, KPA = Komplex-partielle Anfälle, SMEI = Dravet-Syndrom

3.2.2 Familie IGE102

Die Familie türkischer Herkunft besteht aus 3 betroffenen und 14 unbetroffenen Probanden. Der Stammbaum ist in der Abbildung 6 zu sehen.

Die neurologische Untersuchung ergab bei allen Familienmitgliedern einen Normalbefund und die psychomotorische Entwicklung war bei jedem Familienmitglied altersentsprechend gut. In dieser Familie kamen weder Migräne noch Bewegungstörungen vor.

II.10: Die Anfälle begannen bei der Patientin im Alter von 15 Jahren mit myoklonischen Zuckungen der proximalen Extremitäten und mit generalisierten tonisch-klonischen Anfällen. Insgesamt kam es zu über 6 generalisierten tonisch-klonischen Anfällen. Epileptische Anfälle treten trotz der Medikation mit Oxcarbazepin (1200 mg pro Tag) bis heute noch auf. Vorherige Medikationen mit Valproat und Topiramat wurden abgesetzt. Das EEG ergab einen pathologischen Befund mit generalisierten Spike-Wave-Komplexen. In der Anamnese gab es keine Fieberkrämpfe, ein MRT des Schädels war ohne pathologischen Befund gewesen.

II.12: Der Beginn der Anfälle liegt bei dieser Patientin in der Schulzeit im Alter von 12 Jahren. Sie ist nun schon lange Zeit unter antikonvulsiver Therapie anfallsfrei. Die Semiologien der Anfälle zeigen einerseits myoklonische Zuckungen, wobei der Probandin Objekte aus der Hand fielen, andererseits generalisierte tonisch-klonische Anfälle, die besonders bei Schlafmangel auftraten. Die derzeitige Medikation ist Valproat in einer Dosierung von 1000 mg pro Tag. Vorherige Medikation mit Carbamazepin (300 mg pro Tag) wurde abgesetzt. In der Vorgeschichte sind keine Fieberkrämpfe beschrieben worden. Ein EEG zum Zeitpunkt des Gesprächs war normal, frühere Ergebnisse liegen nicht vor. Ein MRT des Schädels war normal.

III.6: Der Patient hatte mehrere generalisierte tonisch-klonische Anfälle, die im Alter von zwei Jahren begannen. Die Medikation erfolgte ein Jahr lang mit Valproat (1000 mg pro Tag). Mit 12 Jahren trat der letzte Anfall auf. Im EEG waren generalisierte Poly-Spike-Waves zu sehen. Zusätzlich hatte der Patient im ersten Lebensjahr einen Fieberkrampf bei 40°C Temperatur gehabt. Eine Bildgebung gab es nicht.

Diese Familie wurde in eines der Unterprojekte des Europäischen genetischen Projektes (EPCURE) aufgenommen. Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchungen sind zum Zeitpunkt der Niederschrift noch nicht verfügbar.

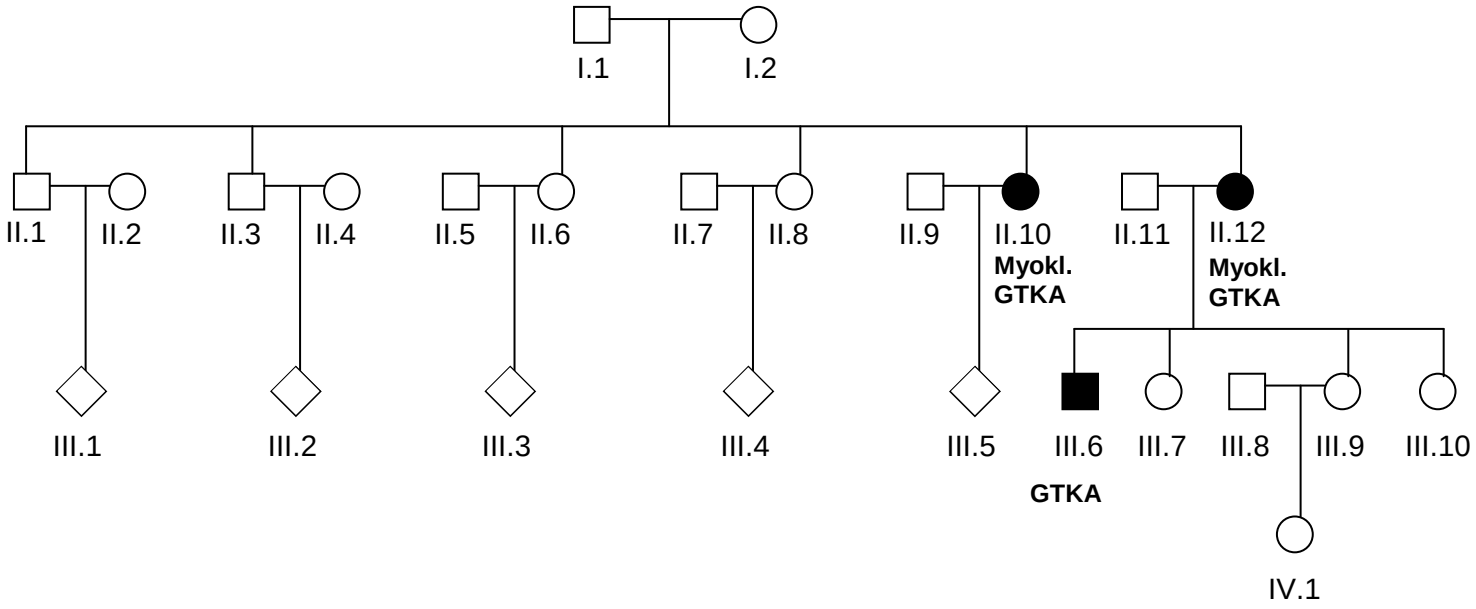
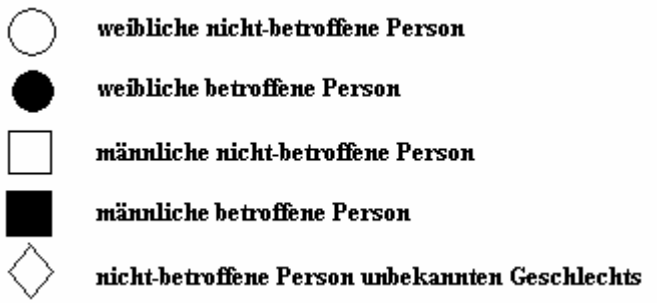


Abbildung 6 Stammbaum der Familie IGE102



GTKA = generalisierte tonisch-klonische Anfälle, IGE = idiopathische generalisierte Epilepsie, Myokl. = Myokloni

3.2.3 Familie BFIS35

Der Stammbaum der Familie BFIS35 ist in der Abbildung 7 zu sehen.

Die Familie BFIS35 ist deutscher Herkunft und wurde über 4 Generationen rekrutiert. Insgesamt wurden 33 Familienmitglieder klinisch und molekulargenetisch untersucht, 13 waren betroffen und 20 waren nicht betroffen. Über die Befragung der anwesenden Familienmitglieder wurden auch Informationen zu verstorbenen Patienten oder zu Patienten, die nicht an der Studie teilnehmen wollten, erworben. Insgesamt waren 16 Familienmitglieder betroffen. Patienten, welche als Nicht-Betroffen angesehen werden, waren klinisch unauffällig. Bei diesen Probanden wurde kein EEG durchgeführt. Eindeutige klinische Angaben zu den Krampfanfällen waren erst ab der Generation IV zu erheben.

Die verfügbaren MRT-Befunde zeigten keine pathologischen Befunde. Die psychomotorische Entwicklung aller Familienmitglieder war normal, zwei Probanden ohne Epilepsie haben eine Migräne (IV.4 und IV.2), eine Probandin hat eine Epilepsie und eine Migräne (V.7), Bewegungsstörungen sind nicht bekannt. Fieberkrämpfe traten bei keinem der betroffenen Familienmitglieder auf.

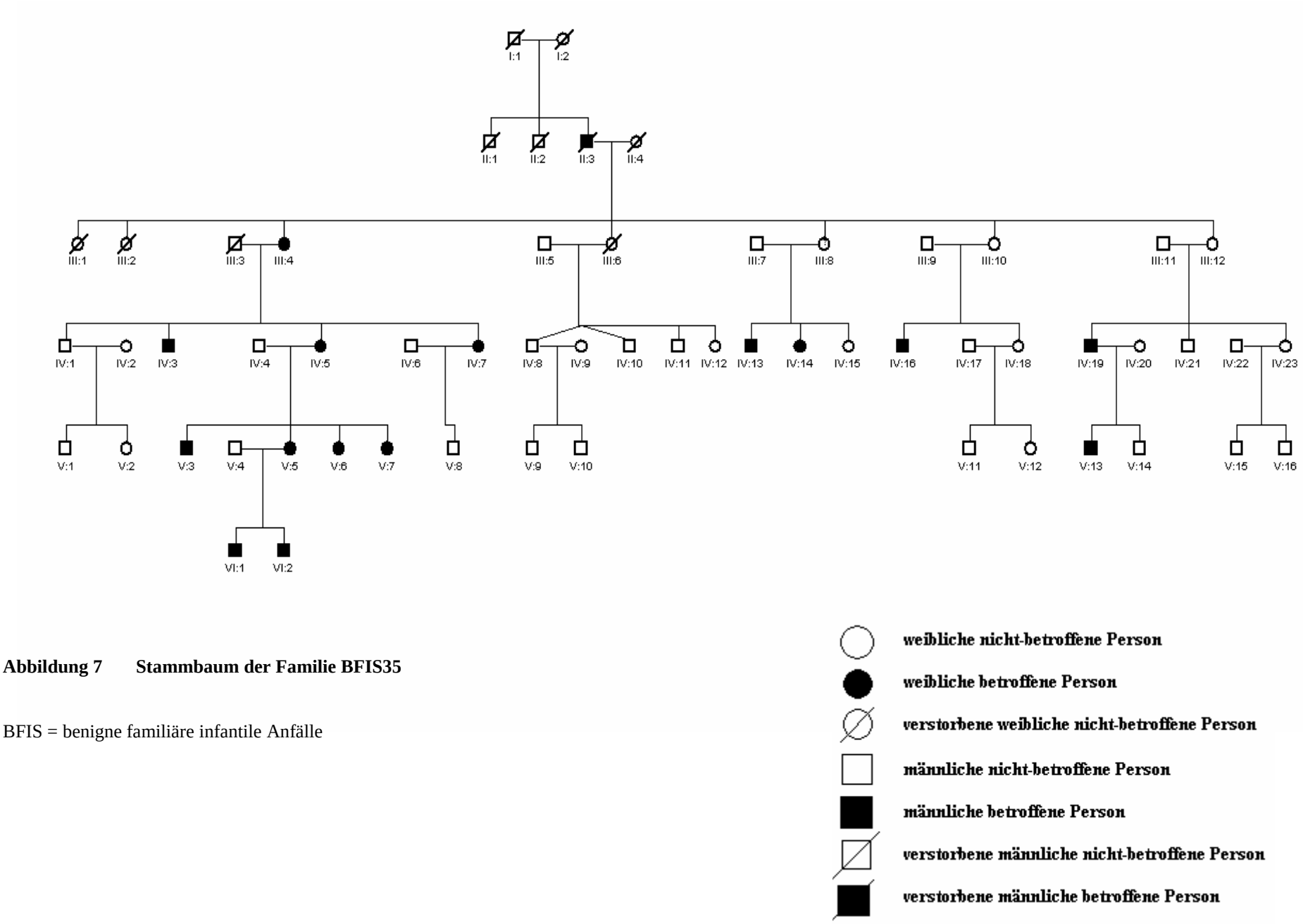


Abbildung 7 Stammbaum der Familie BFIS35

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle

II.3 (M, *): Der Patient hatte wohl mehrere „Zahnkrämpfe“ ohne Fieber in der Kindheit. Als Zahnkrämpfe wurden damals eigentlich Fieberkrämpfe bezeichnet aber auch Anfälle im Säuglingsalter und der Periode der ersten Zähne. Genauere Angaben waren nicht erhältlich. Der Patient verstarb vor längerer Zeit an Leukämie.

III.4 (W, 76): In der Kindheit lagen für diese Patientin Anfälle unklarer Semiologie vor, der genaue Beginn und das Ende der Anfälle konnte nicht erhoben werden.

IV.5 (M, 51): Der erste Anfall erschien im vierten Lebensmonat. Generalisierte tonisch-klonische Anfälle traten als einzelne Anfälle am Tag auf, ohne Cluster zu bilden. Eine Behandlung mit Mylepsinum wurde eingeleitet und die Anfälle sistierten im Alter von drei Jahren.

IV.4 (M, 54): Der Patient hat eine Migräne mit visueller Aura aber keine Epilepsie.

V.5 (W, 31): Die Anfälle begannen im Alter von drei Monaten mit als Cluster auftretenden GTKA. Die Cluster hielten ein paar Tage an, dann kam es zu keinen weiteren Anfällen mehr. Eine Medikation mit Maliasin wurde bis zum 6. Lebensjahr durchgeführt.

VI.1 (M, 10): Im dritten Lebensmonat erschien bei dem Patienten der erste GTKA. Die Anfälle traten während vier Wochen auf, ohne dass es zu Clustern kam; Später kam es zu keinen Anfällen mehr.

VI.2 (M, 7): Mit drei Jahren kam es bei diesem Patienten zu einem ersten generalisierten Anfall. Bis zum Alter von vier Jahren traten myoklonische, astatische und generalisierte tonisch-klonische Anfälle auf. Zu Beginn kamen die Anfälle einmal täglich vor aber nie in Form von Clustern. Die aktuelle Medikation wird mit Valproat (1050 mg pro Tag) durchgeführt, frühere antiepileptische Therapien waren Sultiam und Clobazepam zur Nacht die ohne Wirkung auf die Anfälle blieben, Clobazepam in Kombination mit Valproat führte zu einer Verhaltensstörung. In einem iktalen EEG konnten epilepsietypische Potentiale abgeleitet werden, interiktal wurden im EEG einige generalisierte epilepsietypische Potentiale aufgezeichnet. Ein MRT war unauffällig.

V.6 (W, 29): Der erste GTKA trat im Alter von fünf Monaten auf. Wie lange die Anfälle anhielten und wie häufig am Tag sie erschienen, war nicht eruierbar. Eine Behandlung mit Maliasin erfolgte bis zum vierten Lebensjahr.

V.3 (M, 24): Im Alter von 5 Monaten kam es zu einem GTKA. Genaueres konnte nicht erhoben werden. Phenobarbital wurde bis zum vierten Lebensjahr eingenommen. Seither ist der Patient Anfallsfrei.

V.7 (W, 20): Die Patientin hatte mit 6 Monaten ihren ersten GTKA. Phenobarbital wurde als Antiepileptikum bis zum vierten Lebensjahr eingenommen. Weiterhin besteht bei dieser Patientin, wie bei dem Vater (IV.4), eine Migräne mit visueller Aura.

IV.2 (W, ?): Seit dem 21. Lebensjahr leidet die Patientin einmal im Monat an Migräne mit visueller Aura. Epileptische Anfälle traten nie auf.

V.1 (M, 11): Es wurden keine epileptischen Anfälle beobachtet, eine Migräne wurde bis jetzt nicht ausgeschlossen.

IV.3 (M, 41): Die Anfälle begannen im vierten Lebensmonat mit 7 bis 8 GTKA pro Tag. Die Cluster traten bis zum Alter von 5 Monaten auf, dann sistierten die Anfälle unter der Behandlung mit Mylepsinum. Seitdem die Therapie mit drei Jahren abgesetzt wurde, besteht Anfallsfreiheit. Im EEG waren epilepsietypische Potentiale zu sehen.

IV.7 (W, 38): Die Patientin hatte insgesamt 8 Anfälle, die im Alter von vier Monaten begannen und nie als Cluster auftraten. Sie wurde auf Mylepsinum eingestellt. Seitdem die Medikation mit drei Jahren abgestellt wurde, sind keine Anfälle mehr aufgetreten.

IV.14 (W, 42): Der Beginn der Anfälle liegt im 4. Lebensmonat mit drei bis vier GTKA pro Tag, d.h. Cluster generalisierter tonisch-klonischer Anfälle. Im späteren Lebensalter traten ein bis zwei einfach fokale Anfälle pro Jahr mit Lähmung der linken Seite ohne sekundäre Generalisierung auf. Die Medikation mit Valproat und Carbamazepin wurde im Alter von 39 Jahren abgesetzt. Ein interiktales EEG war normal, ein MRT war unauffällig.

IV.13 (M, 40): Der Patient hatte einen einmaligen atonischen Anfall im 6. Lebensmonat.

IV.16 (M, 40): Der Beginn der Anfälle liegt im 6. Lebensmonat mit maximal zwei GTKA pro Tag. Der Patient wurde bis zu seinem 6. Lebensjahr auf Mylepsinum eingestellt und ist seither anfallsfrei.

IV.19 (M, 40): Der Patient hatte im 6. Lebensmonat zwei GTKA an zwei verschiedenen Tagen. Ohne Medikation kam es zu keinen weiteren Anfällen mehr.

V.13 (M, 10): Zwischen dem Alter von 7 Monaten und einem Jahr traten bei dem Patienten ein bis fünf Anfälle pro Tag auf, d.h. dass Anfälle zum Teil in Form von Clustern erschienen. Eine antiepileptische Medikation wurde im 7. Lebensmonat begonnen und im dritten Lebensjahr beendet.

Die Familie BFIS35 präsentiert somit das klassische Bild der benignen familiären infantilen Anfälle mit Beginn der Anfälle zwischen dem 3. und 7. Lebensmonat mit Ausnahme bei einem Patienten, bei welchem die Anfälle im dritten Lebensjahr begannen (in 6% spätes Autreten der Anfälle in dieser Familie). Klassisch für die BFIS sind auch das Verschwinden der Anfälle im späteren Lebensalter, was nur bei einer Patientin (IV.14) nicht der Fall war; das Vorkommen von GTKA bei 15 Patienten (94%) als typischen Anfallstyp bei BFIS und das Auftreten der Anfälle in Form von Clustern bei 4 Patienten (25%) sind ebenfalls charakteristische klinische Merkmale der BFIS.

Eine tabellarische Übersicht zu den klinischen Angaben der Familie BFIS35 gibt Tabelle 8.

Tabelle 8 Tabellarische Übersicht zu den klinischen Daten der Familie BFIS35

Proband [Geschlecht, alter in j]	Beginn/Ende der Anfälle (Alter)	Anfallsart	Anzahl der Cluster afebriler Anfälle [Alter]	Anzahl einzelner afebriler Anfälle [Alter]	Interiktales EEG	Medikation, Dosierung (mg/d), [Therapie-wirkung]	Therapie-Zeitraum
II.3 [m,*]	uk	GTKA	uk	uk	uk	-	-
II.4 [w,76]	Kindheit	uk	uk	uk	uk	-	-
IV.5 [w,51]	4mo/3j	GTKA	-	uk	-	PRM[af]	4mo/5j
V.5 [w,31]	3mo/3mo	GTKA	mehrere [3mo]	-	-	ML[af]	3mo/6j
VI.1 [m,10]	3mo/4mo	GTKA	-	uk	unauffällig	uk	uk
VI.2 [m,7]	3j/4j	GTKA, Mk, AA	-	sehr viele	Generalisierte Spike-Waves	VPA STM/CLB VPA(1050)/ESM(750)	51mo/54mo 54mo/55mo 55mo/heute
V.6 [w,28]	5mo/uk	GTKA	uk	uk	-	ML[af]	5mo/4j
V.3 [m,25]	5mo/uk	GTKA	uk		-	PB[af]	5mo/4j
V.7 [w,20]	6mo/uk	GTKA	uk	uk	-	PB[af]	6mo/4j
IV.3 [m,41]	4mo/5mo	GTKA	mehrere [4mo-5mo]	-	pathologisch	PRM[af]	4mo/3j
IV.7 [w,38]	4mo/5mo	GTKA	-	8 [4/5mo]	-	PRM[af]	4mo/3j
IV.14 [w,42]	4mo/heute	GTKA, EF	mehrere	mehrere	normal	VPA(1500)/CBZ(900)	4mo/39j
IV.13 [m,40]	6mo	AA	-	1 [6mo]	-	-	-
IV.16 [m,40]	6mo/uk	GTKA	-	mehrere [6mo]	-	PRM[af]	6mo/6j
IV.19 [m,39]	6mo/6mo	GTKA	-	2 [6mo]	-	-	-
V.13 [m,10]	7mo/1j	GTKA	mehrere [7mo-1j]	mehrere [7mo-1j]	-	Medikament nicht erinnerlich [af]	7mo/3j

AA = atonische Anfälle, Abs = Absencen, af = anfallsfrei, BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle, CBZ = Carbamazepin, CLB = Clobazam, EF = einfach fokale Anfälle, ESM = Ethosuximid, GTKA = generalisierte tonisch-klonische Anfälle, j = Alter in Jahren, m = männlich, Mk = myoklonische Anfälle, ML = Maliasin, mo = Alter in Monaten, PB =Phenobarbital, PRM = primidon, STM = sultiam, uk = unklar, VPA = Valproat, w = Weiblich, *verstorbener Patient.

3.2.4 Familie BFIS29

Die Abbildung 8 zeigt den Stammbaum der Familie BFIS29 mit 10 nicht betroffenen und 8 betroffenen Familienmitgliedern. Alle Familienmitglieder wurden klinisch und molekulargenetisch untersucht.

Die Familie ist deutscher Herkunft und präsentiert keine zusätzlichen Erkrankungen wie z.B. Bewegungsstörungen oder Migräne. Die neurologische Untersuchung aller Probanden war normal. Eine verminderte Intelligenz und ein Konzentrationsdefizit konnte bei zwei betroffenen Probanden (III.5 und IV.3) festgestellt werden. Interiktale EEGs aus der früheren Kindheit zeigten multifokale und generalisierte epilepsietypische Potentiale bei allen betroffenen Familienmitgliedern. Bei sechs der acht Patienten traten Fieberkrämpfe auf. Später zwischen dem Alter von zwei und 6 Jahren aufgezeichnete EEGs waren aber unauffällig, mit einer Ausnahme bei III.3, bei der das EEG noch bis zum Alter von 15 Jahren epileptiforme Potentiale zeigte.

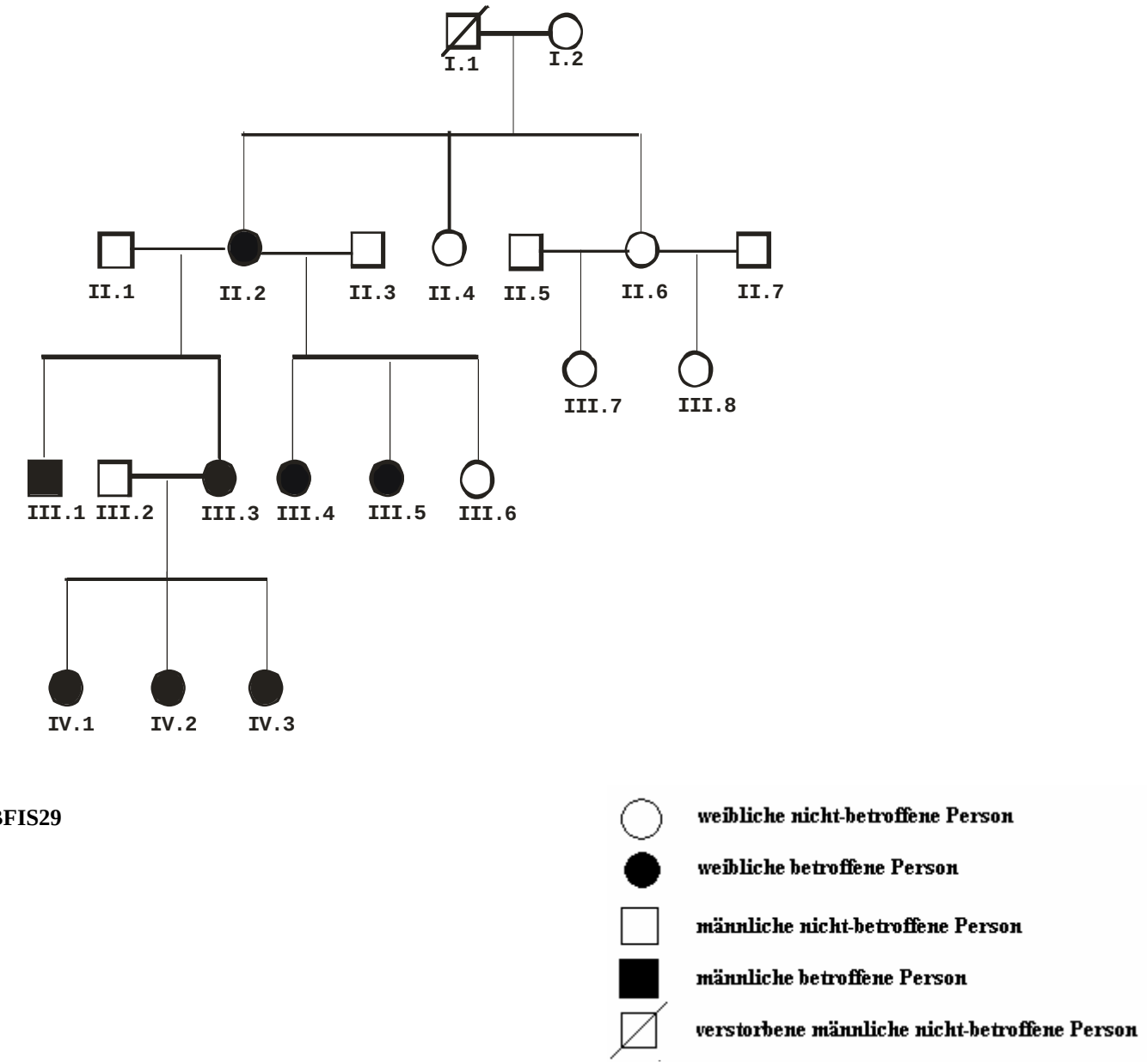


Abbildung 8 Stammbaum der Familie BFIS29

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle

II.2: Die Patientin hatte ab dem 14. Lebensmonat mehrere atonische Anfälle unbekannter Frequenz. Mit zwei Jahren wurde sie auf Primidon in unbekannter Dosis eingestellt, mit 11 Jahren wurde die Therapie abgestellt. Seitdem ist die Patientin anfallsfrei. Ein EEG war nicht erhältlich.

III.1: Mit 14 Monaten bekam der Patient einen Cluster mit Fieberkrämpfen woraufhin er mit Primidon (250 mg pro Tag) eingestellt wurde. Die Medikation wurde mit 9 Jahren beendet. Anfälle traten seither nicht auf. Eine EEG-Aufzeichnung war nicht erhältlich.

III.3: Die Patientin hatte initial zwei Fieberkrämpfe (18. und 21. Lebensmonat) und einen afebrilen generalisierten tonisch-klonischen Anfall im 21. Lebensmonat. Sie wurde auf Primidon (375 mg pro Tag) eingestellt und Anfälle traten innerhalb von zwei Jahren nicht mehr auf. Nach einem erneuten Fieberkrampf war die Patientin anfallsfrei. Die Medikation wurde mit 9 Jahren abgesetzt. Interiktale EEGs im früheren Alter zeigten multifokale epilepsietypische Potentiale und generalisierte Potentiale. Ein Schädel-CT war normal.

III.4: Die Patientin hatte vier Fieberkrämpfe zwischen dem 14. Lebensmonat und dem 4. Lebensjahr. Ein einziger afebriler Anfall trat mit 5 Jahren auf. Während eines Spazierganges fiel sie plötzlich atonisch auf den Boden und erstarrte. Eine Medikation mit Sultiam (125 mg pro Tag) wurde begonnen und mit 8 Jahren abgesetzt. Seitdem ist die Patientin anfallsfrei. Im interiktalen EEG sind multifokale und generalisierte epilepsietypische Potentiale zu sehen.

III.5: Mit 18 Monaten trat das erste Cluster afebriler Anfälle auf und eine Therapie mit Valproat wurde begonnen (300 mg pro Tag). Die Anfälle äußerten sich als atonisches Fallen und Bewustlosigkeit mit sekundären tonisch-klonischen Bewegungen. Die Cluster erschienen als die Patientin zwei Jahre alt war erneut, so dass die Valproatdosis auf 900 mg pro Tag erhöht wurde. Später wurde die Medikation auf Sultiam (275 mg pro Tag) umgestellt. Zu der Zeit veränderte sich die Semiologie der Anfälle: nach einer plötzlichen Vokalisation wurde die Patientin bewusstlos und erstarrte, eine tonische Haltung des Rumpfes und der Arme konnte beobachtet werden. Mit drei Jahren hatte die Patientin zwei Fieberkrämpfe, danach blieb sie aber anfallsfrei. Im Routine-EEG waren multifokale epilepsietypische Potentiale zu finden. Ein MRT war im 18. Lebensmonat unauffällig gewesen.

IV.1: Mit 17 Monaten bekam die Patientin einen Fieberkrampf. In den darauffolgenden 9 Monaten traten vier weitere Fieberkrämpfe und zwei afebrile Anfälle auf. Die afebrilen Anfälle äußerten sich mit einem initialen Schrei und ohne eine einzige Bewegung oder mit Agitation und Schreien nach der Mutter. Diese Anfälle endeten in Form von sekundär generalisierten tonisch-klonischen Konvulsionen. Die Medikation erfolgte mit Sultiam (150 mg pro Tag). Zwischen zwei und fünf Jahren kam es noch zu drei weiteren afebrilen komplex-partialen Anfällen. Ohne Veränderung in der Therapie blieb die Patientin danach anfallsfrei. Ein interiktales EEG zeigte multifokale epilepsietypische Potentiale mit sekundärer Generalisierung. Ein MRT im dritten Lebensjahr war normal.

IV.2: Die zwei ersten Fieberkrämpfe fanden im Alter von 10 Monaten statt. Eine Therapie mit Sultiam (75 mg pro Tag) wurde daraufhin begonnen und Clobazam wurde im Alter von 18 Monaten zusätzlich eingeführt. Ab dem Alter von 20 Monaten wurden mehrere Cluster afebriler generalisierter tonisch-klonischer Anfälle beobachtet und die Medikation wurde auf Topiramat (100 mg pro Tag) umgestellt. Es kam zu sieben weiteren Fieberkrämpfen zwischen dem Alter von 10 Monaten und 4 Jahren. Seither ist die Patientin anfallsfrei. Im interiktalen EEG waren multifokale epilepsietypische Potentiale zu sehen. Ein MRT war normal.

IV.3: Die Patientin hatte einen afebrilen generalisierten tonisch-klonischen Anfall im Alter von 14 Monaten. Drei Monate später kam es zu einem Cluster generalisierter tonisch-klonischer Anfälle. Die Medikation mit Sultiam (100 mg pro Tag) wurde begonnen aber ein weiteres Cluster an Anfällen wurde vier Monate später beobachtet und Oxcarbazepin (120 mg pro Tag) wurde zusätzlich zum Sultiam eingeführt. Die Patientin ist seither anfallsfrei. Generalisierte epilepsietypische Potentiale wurden im interiktalen EEG aufgezeichnet. Ein MRT war im 14. Lebensmonat unauffällig.

Die Familie BFIS29 zeigt einen BFIS-ähnlichen Phänotyp mit Clustern komplex-fokaler Anfälle in der Kindheit und einem Verschwinden der Anfälle im späteren Leben. Allerdings hat diese Familie mehrere klinische Merkmale, die sich von denen der klassischen BFIS unterscheiden. Erstens wurde bei allen Betroffenen ein später Beginn der Anfälle zwischen dem 14. und dem 20. Lebensmonat beobachtet. Zweitens traten diese bei allen Betroffenen

in Form von komplex-fokalen Anfällen auf, bei 3 Patienten auch als Cluster (38%). Außergewöhnlich ist auch das häufige Vorkommen von Fieberkrämpfen bei 6 Patienten (75%).

Eine tabellarische Übersicht zu den klinischen Angaben der Familie BFIS29 gibt Tabelle 9.

Tabelle 9 Tabellarische Übersicht zu den klinischen Daten der Familie BFIS29 (Aus: Weber et al. 2008)

Proband [Geschlecht, alter in j]	Anfallsart	Anzahl der Cluster afebriler Anfälle [Alter]	Anzahl einzelner afebriler Anfälle [Alter]	Anzahl der Fieberkrämpfe [age]	Interiktales EEG	Medikation, Dosierung (mg/d), [Therapiewirkung]	Therapie-Zeitraum
II.2 [w,45]	AA	uk	-	-	uk	PRM (-) [af]	2j/11j
III.1 [m,29]	-	-	-	alle [14mo]	uk	PRM (250) [af]	14mo/9j
III.3 [w,25]	GTKA	-	1 [18mo]	3 [18mo-36mo]	multifokal, generalisiert	PRM (375) [af]	21mo/9j
III.4 [w,10]	AA	-	1 [5j]	4 [14mo, 3j, 4j]	multifokal, generalisiert	STM (125) [af]	5j/8j
III.5 [w,6]	AA, KPA	alle [18mo-3j]	-	2 [4j]	multifokal, generalisiert	STM (175)/VPA (900) [af]	18mo/heute
IV.1 [w,7]	KPA	-	6 [17mo-5j]	5 [1j]	multifokal, generalisiert	STM (150) [af]	2j/heute
IV.2 [w,5]	GTKA	alle [20mo,4j]	-	7 [10mo-4j]	multifokal, generalisiert	STM (75), TPM (100) [af]	18mo/heute
IV.3 [w,3]	GTKA	1 [2j]	1 [14mo]	-	multifokal, generalisiert	STM (100), OXC (120) [af]	14mo/heute

AA = atonische Anfälle, af = anfallsfrei, BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle, GTKA = generalisierte tonisch-klonische Anfälle, j = Alter in Jahren, KPA = komplex-partiale Anfälle, m = männlich, mo = Alter in Monaten, OXC = Oxcarbamazepin, PRM = Primidon, STM = Sultiam, TPM = Topiramat, VPA = Valproat, uk = unklar, w = Weiblich

3.3 Molekulargenetische Untersuchungen

3.3.1 Familie BFIS35

In einer Kopplungsanalyse der Familie BFIS35 wurde der Locus für BFIS2 untersucht; Eine Kopplung der Erkrankung zum Locus auf Chromosom 16 konnte nachgewiesen werden. Die mit 12 Markern analysierte Region beträgt ca. 29 Mbp (Mega-Basenpaare) und schließt das Zentromer zwischen den Markern D16S753 und D16S3105 ein. Mittels Haplotypenanalyse und relevanter Rekombinationen bei VI.2 konnte eine Kandidatengenregion zwischen die Marker D16S769 und D16S411 auf dem chr16 lokalisiert werden. Diese Region beträgt ca. 23,5 Mbp. Der maximale zwei-Punkt Lod-Score wurde für den Marker D16S3044 mit +3.1 bei einer Rekombinationsfraktion von 0.1 gefunden. Die zwei-Punkt Lod-Score-Analyse wurde mit einem autosomal-dominanten Vererbungsmodus, mit einer Penetranz von 70% und einer Frequenz des Erkrankungsallels von 0.0001 durchgeführt, wie auch durch Weber et al. (2004) beschrieben. Die Haplotypenanalyse und die Ergebnisse der Kopplungsanalyse sind der Abbildung 9 und der Tabelle 10 zu entnehmen.

Für den in der Kandidatengenregion liegenden Marker D16S3080 ist besonders hervorzuheben, dass für alle Betroffenen in der Haplotypenanalyse ein Allelverlust festgestellt wurde. Der Marker liegt in einem Gen, das für ein Zinkfingerprotein (ZNF423) kodiert und welches neun Exons enthält. Das Zinkfingerprotein ist ein nukleares Protein, welches die Funktion eines DNA-bindenden Transkriptionsfaktors besitzt. Das *ZNF423*-Gen, das u.a. auch im Gehirn exprimiert wird, hat wahrscheinlich multiple Rollen bei der Signaltransduktion während der Entwicklung (http://genome.ucsc.edu/). Der beobachtete Allelverlust lässt eine Deletion in dem *ZNF423*-Gen vermuten. Eine weitere Möglichkeit wäre ein Verlust der Heterozygotie (*loss of heterocygosity*, LOH). Der Phänotyp entsteht dabei aus einer nicht kompensierten Hemizygotie.
Mittels Sequenzierung werden die neun Exons des *ZNF423*-Gens zurzeit auf Polymorphismen in der DNA-Sequenz analysiert. Ergebnisse liegen noch nicht vor.

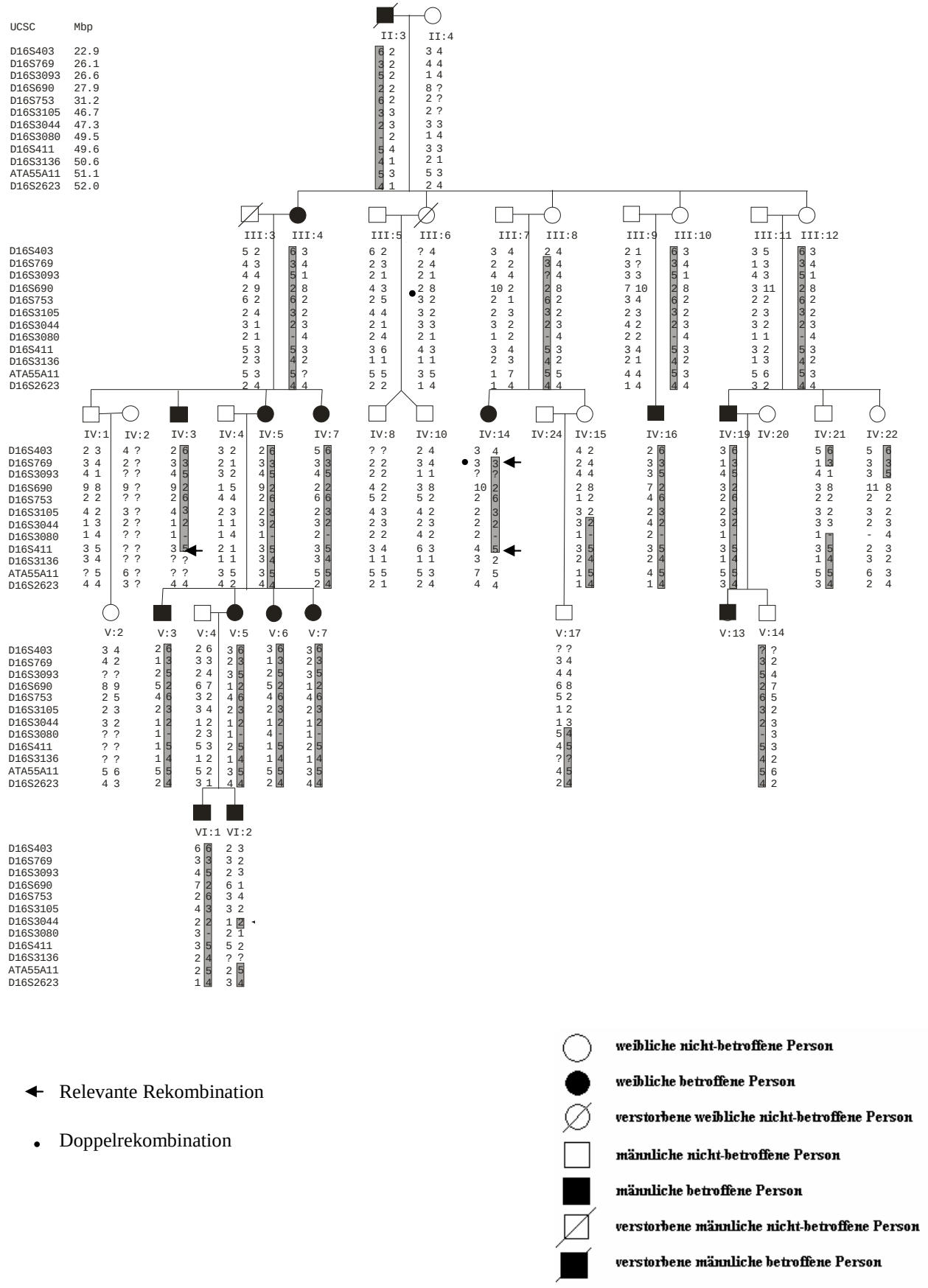


Abbildung 9 Haplotypenanalyse der Familie BFIS35. Relevante Rekombinationen (←) bei IV:3 und IV:14 lokalisieren die Kandidatengenregion zwischen die Marker D16S769 und D16S411

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle

In der Haplotypenanalyse fiel auf, dass der Marker D16S3044 von besonderer Relevanz war (Idividuum VI:2). Dieser Marker liegt in einem Integrin alpha FG-GAP repeat 1 Gen. Dieses Gen wurde nicht sequenziert, da es sich nicht um ein Kandidatengen handelt. Es enthält 18 Exons. Der Marker D16S3044 weist allerdings eine geringe Allelität auf und ist desshalb nur eingeschränkt aussagekräftig.

Der Betroffene VI:2 stellt eine Sonderstellung in dieser Familie dar. Zum einen weicht die Klinik stark von der der anderen Betroffenen dieser Familie ab mit Beginn der Anfälle im 3. Lebensjahr, schlecht einstellbarer medikamentöser Therapie und mit epilepsietypischen Potentialen im interiktalen EEG. Zum anderen fallen in der Haplotypenanalyse auf, dass bei ihm kein Allelverlust für den Marker D16S3080 besteht und er nur zu einem Teil die Allele der anderen Betroffenen dieser Familie für die Kandidatengenregion aufweist. Es handelt sich bei dem Betroffenen VI:2 am ehesten um eine Phänokopie oder um ein anderes idiopathisches Epilespiesyndrom.

Tabelle 10 Kopplungsanalyse der Familie BFIS35

Eine positive Kopplung wurde zu der bekannten BFIS-Region 16p11.2 -16q12.1 gefunden mit einem maximalen Lod-Score von 3.1 für den Marker D16S3044. Die zwei-punkte Lod-Score Analyse wurde mit einem autosomal dominanten Vererbungsmodus, einer Frequenz des Erkrankungsallels von 0.0001 und einer Penetranz von 70% ausgeführt. *Zu dem Marker D16S3080 konnte kein Lod-Score bestimmt werden, da ein Allelverlust vorliegt.

Marker	Mbp	Chr	Lod score für verschiedene Rekombinationsfraktionen				
BFIS2			0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
D16S403	22.9	16p12.1	-4.1	0.3	0.8	0.8	0.5
D16S769	26.1	16p12.1	2.7	2.3	1.9	1.3	0.6
D16S3093	26.7	16p12.1	0.4	2.8	2.4	1.7	0.9
D16S690	27.9	16p11.2	-0,6	2.3	2.0	1.5	0.8
D16S753	31.2	16p11.2	0.3	2.6	2.1	1.4	0.7
D16S3105	45.3	16q11.2	-2.1	0.5	0.6	0.5	0.3
D16S3044	46.0	16q12.1	0.3	3.1	2.5	1.8	0.9
D16S3080	48.2	16q12.1	*	*	*	*	*
D16S411	48.3	16q12.1	-1.2	1.7	1.5	1.0	0.4
D16S3136	49.3	16q12.1	-1.8	1.5	1.5	1.1	0.6
ATA55A11	49.7	16q12.1	1.8	1.4	1.0	0.5	0.6
D16S2623	50.7	16q12.1	0.8	0.7	0.5	0.3	0.1

BFIS = Benigne familiäre infantile Anfälle, chr = Chromosom Mbp = Megabasenpaare

3.3.2 Familie BFIS29

In der Kopplungsanalyse der Familie BFIS29 wurden die Loci für BFNS1/2, für BFNIS, BFIS1 und für GEFS1-4 mit Lod-Scores von -2.4 bis -8.0 ausgeschlossen. Eine Kosegregation der Erkrankung mit dem Locus für BFIS2 auf Chromosom 16 wurde nachgewiesen. Mittels Haplotypenanalyse und relevanter Rekombinationen bei III.5 und IV.2, wie es in der Abbildung 10 zu sehen ist, konnte die Kandidatengenregion zwischen die Marker D16S690 und D16S3136 lokalisiert werden. Diese Region beträgt ca. 22 Mbp.

Der Ergebnisse der Kopplungsanalyse in der Tabelle 11 ist zu entnehmen, dass der maximale zwei-punkt Lod-Score von +2.1 für den Marker D16S411 bei einer Rekombinationsfraktion von 0.0 gefunden wurde. Die zwei-Punkt Lod-Score-Analyse wurde mit einem autosomal-dominanten Vererbungsmodus, mit einer Penetranz von 70% und einer Frequenz des Erkrankungsallels von 0.0001 durchgeführt (Weber et al. 2004).

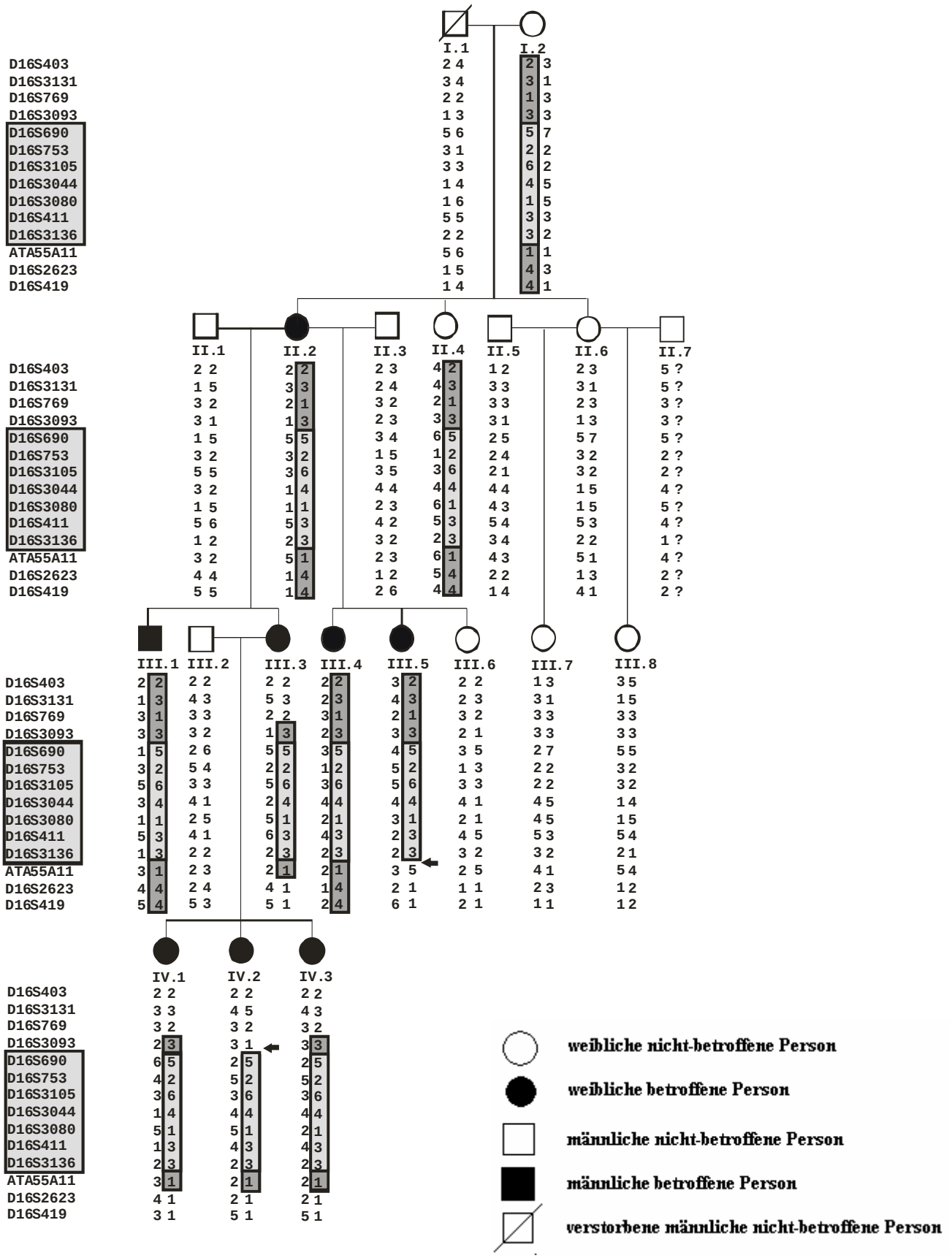


Abbildung 10 Haplotypenanalyse der Familie BFIS29. Relevante Rekombinationen (←) bei III.5 und IV.2 lokalisieren die Kandidatengenregion zwischen die Marker D16S690 und D16S3136. (Aus: Weber at al. 2008)

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle

Tabelle 11 Kopplungsanalyse der Familie BFIS29.

Eine positive Kopplung wurde zu der bekannten BFIS-Region 16p11.2 -16q12.1 gefunden (markiertes Areal, siehe Haplotypenanalyse in der Abbildung 10) mit einem maximalen LodScore von 2.1 für den Marker D16S411. Die zwei-punkte LodScore Analyse wurde mit einem autosomal dominanten Vererbungsmodus, einer Frequenz des Erkrankungsallels von 0.0001 und einer Penetranz von 70% ausgeführt. Außerdem zeigt die Tabelle den Ausschluss der bekannten BFIS-Loci auf chr2q23-31 und 19q12-13.1, der loci für BFNS (*KCNQ3*/chr 8q24.22, *KCNQ2*/chr 20q13.32-13.33), BFNIS (*SCN2A*/chr 2q24.3), GEFS1 (*SCN1B*/chr 19q13.11), GEFS2 (*SCNA*/chr 2q24.3), GEFS3 (*GABRG2*/chr 5q34), GEFS4 (chr 2p24.2-p24.1) und GEFS5 (GABRD/chr 1p36.33). (Aus: Weber et al. 2008)

Marker	Mbp	Chr	Lod score für verschiedene Rekombinationsfraktionen				
BFIS2			0.0	0.1	0.2	0.3	0.4
D16S403	22.9	16p12.1	-0.3	-0.2	-0.1	0.0	0.0
D16S3131	25.9	16p12.1	-3.4	-0.3	-0.1	0.0	0.1
D16S769	26.1	16p12.1	-3.5	-0.1	0.0	0.0	0.0
D16S3093	26.7	16p12.1	-2.4	0.4	0.4	0.2	0.1
D16S690	27.9	16p11.2	-0.4	-0,2	-0.1	0.0	0.0
D16S753	31.2	16p11.2	0.8	0.6	0.5	0.3	0.1
D16S3105	45.3	16q11.2	1.9	1.6	1.2	0.8	0.4
D16S3044	46.0	16q12.1	1.9	1.6	1.2	0.8	0.4
D16S3080	48.2	16q12.1	0.6	0.6	0.5	0.4	0.2
D16S411	48.3	16q12.1	2.1	1.7	1.3	0.8	0.4
D16S3136	49.3	16q12.1	1.1	0.9	0.7	0.5	0.3
ATA55A11	49.7	16q12.1	-2.5	0.7	0.7	0.5	0.3
D16S2623	50.7	16q12.1	-4.6	-0.2	0.2	0.3	0.2
D16S419	51.5	16q12.1	-3.3	-0.2	0.2	0.3	0.2
BFIS1, GEFS1							
D19S433	35.1	19q12	-3.3	-0.1	-0.4	-0.2	0.0
D19S245	38.8	19q13.11	-3.4	-1.4	-0.7	-0.3	-0.1
D19S191	40.2	19q13.11	-3.6	-1.0	-0.5	-0.2	0.0
BFNIS, GEFS2							
D2S1353	159.3	2q24.1	-2.9	-2.4	-1.4	-0.7	-0.3
D2S382	165.7	2q24.3	-2.6	-2.3	-1.3	-0.7	-0.3
D2S2330	166.4	2q24.3	-2.6	-2.3	-1.3	-0.7	-0.3
BFNS1							
D8S284	131.5	8q24.21	-7.5	-1.1	-0.4	-0.1	0.0
D8S529	134.1	8q24.22	-7.6	-2.0	-1.0	-0.4	-0.1
D8S256	134.4	8q24.22	-4.6	-1.0	-0.4	-0.2	0.0
BFNS2							
D20S171	57.2	20q13.32	-2.4	-0.3	0.0	0.1	0.0
D20S173	58.2	20q13.33	-7.3	-1.4	-0.7	-0.3	-0.1
GEFS3							
D5S820	156.0	5q34	-7.1	-0.4	0.0	0.1	0.1
D5S422	162.0	5q34	-8.0	-1.8	-0.8	-0.4	-0.1
GEFS4							
D2S1360	17.3	2p24.2	-7.1	-1.5	-0.7	-0.3	-0.1
D2S2342	20.2	2p24.1	-7.2	-1.4	-9.7	-0.3	-0.1

BFIS = Benigne familiäre infantile Anfälle, BFNIS = benigne familiäre neonatale/ infantile Anfälle, BFNS = benigne familiäre neonatale Anfälle, chr = Chromosom, GEFS = generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen plus, Mbp = Megabasenpaaren

4. Diskussion

4.1 Epidemiologie

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 166 Familien mit insgesamt 438 Mitgliedern und davon 226 Betroffenen mit idiopathischer Epilepsie aus zwei Epilepsiezentren, dem Epilepsiezentrum Ulm (Neurologische Klinik der Universität Ulm) und der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg (Wedau Kliniken) rekrutiert. Im Epilepsiezentrum Ulm wurden erwachsene Patienten rekrutiert, da Kinder mit Epilepsien in Ulm im sozialpädiatrischen Zentrum (SPZ) der Kinder- und Jugendmedizinischen Abteilung der Universität Ulm betreut werden. In den Wedau Kliniken in Duisburg waren die Indexpatienten ausschließlich Kinder, da es sich dort um eine neuropädiatrische Abteilung handelt. Das entstandene Patientenkollektiv für die vorliegende Arbeit bestand daher aus Patienten jeder Altersklasse; Ein breites Spektrum konnte somit erfasst werden.

Ein Teil der Patienten die den Einschlusskriterien entsprachen, konnte nicht rekrutiert werden (232 von 575 Betroffenen). Dies lag vor allem an uns vorliegenden unvollständigen Informationen zu Adressen und Telefonnummern der Patienten. Die meisten kontaktierten Personen willigten in die Teilnahme an der Studie ein. Motive zur Ablehnung der Teilnahme waren u.a. die lange Dauer -Jahre oder Jahrzehnte- bis zur Erlangung molekulargenetischer Ergebnisse oder die Tatsache, dass die Ergebnisse wahrscheinlich nicht dem Patienten persönlich zugunsten kommen würden, sondern eher seinen Nachkommen oder anderen Patienten. Der Anreiz für diese Patienten war somit durch das Fehlen einer unmittelbaren Rückmeldung (aufgrund des Nutzens der Ergebnisse für die Forschung und nicht auf persönlicher Ebene) verringert. Die Rekrutierung weiterer betroffener Familienmitglieder oder bei negativer Familienanamnese die Rekrutierung der Eltern der teilnehmenden Betroffenen war nicht immer möglich, da die Eltern zum Teil schon verstorben waren oder kein Kontakt zu ihnen oder zu weiteren betroffenen Familienmitgliedern bestand, die Kontaktaufnahme in manchen Fällen auch verweigert wurde.

Es gibt bisher wenige epidemiologische Studien über Epilepsien. Die Hauptreferenz im deutschen Raum ist eine Arbeit von Freitag und Kollegen (Freitag et al. 2001). In dieser populationsbasierten prospektiven Studie wird die Inzidenz von Epilepsien und epileptischen Syndromen bei deutschen Kindern und Jugendlichen zwischen dem Alter von einem Monat und 15 Jahren beschrieben. Weitere Studien mit epidemiologischen Aussagen zu Epilepsien wurden u.a. in Nord-Amerika (Hauser et al. 1998; Zarrelli et al. 1999; Berg et al. 1999) und in Europa (Callenbach et al. 1998) durchgeführt. Es wurden allerdings in erster Linie Inzidenzen von Epilepsien und epileptischen Syndromen untersucht, was in der vorliegenden Arbeit nicht der Fall war. Hier wurde keine populationsbasierte Studie durchgeführt sondern es wurde retrospektiv eine Kohorte aus zwei neurologischen Schwerpunktambulanzen untersucht. Eine ähnliche Studie wurde in Frankreich an 23 neurologischen Einrichtungen durchgeführt, wobei dies eine der seltenen Studien repräsentiert, die nicht populationsbasiert ablief (Jallon et al. 2001).

4.1.1 Verteilung: Idiopathische versus symptomatische und kryptogene Epilepsien

In der Stichprobe aus der neuropädiatrischen Abteilung der Wedau Kliniken der vorliegenden Studie hatten 60% der Epilepsie-Patienten eine idiopathische Epilepsie. Dies liegt zwischen dem Ergebnis aus den deutschen, niederländischen und spanischen Studien (Freitag et al. 2001; 47%), (Callenbach et al. 1998; 49%), (Durá-Travé et al. 2007; 45,5%) und dem Ergebnis der schwedischen Studie (Braathen et al. 1995; 70%). Die nordamerikanischen Studien zeigten mit 20-30% den geringeren Anteil idiopathischer Epilepsien an den gesamten Epilepsien (Zarrelli et al. 1999; Berg et al. 1992) (Shinnar et al. 1999) (Tabelle 12). Die Diskrepanz zu den europäischen Ergebnissen liegt wahrscheinlich an dem Ausschluss kindlicher Absencenepilepsien in den amerikanischen Arbeiten. Es liegt an der Auswahl der Indexpatienten der Wedau-Kliniken in der aktuellen Studie, dass die Anzahl an idiopathischen Epilepsien (60%) im Vergleich zu symptomatischen oder kryptogenen Epilepsien (40%) überwiegt, da es sich ausschließlich um Kinder handelte. In einer französischen Studie von Jallon und Kollegen kann der Anteil der idiopathischen Epilepsien mit 32,1% aller Epilepsien durch das breite Altersspektrum der Kohorte (von einem Lebensmonat bis 95 Jahren) erklärt werden, da der Anteil an kryptogenen und an

symptomatischen Epilepsien u.a. aufgrund von zerebrovaskulären Insulten mit steigendem Alter wächst (Jallon et al. 2001).

In der Epilepsieeinrichtung in Ulm bei der das Patientenkollektiv aus erwachsenen Patienten bestand, machten die idiopathischen Epilepsien tatsächlich nur 27% der Epilepsiepatienten aus. In dieser Arbeit konnte somit das altersabhängige Auftreten idiopathischer Epilepsien im Vergleich zu symptomatischen und kryptogenen Epilepsien ermittelt werden, wobei idiopathische Epilepsien im Kindesalter am häufigsten vertreten sind und symptomatische und kryptogene Epilepsien den größten Teil der Epilepsien im Erwachsenenalter ausmachen.

Tabelle 12 Übersicht über publizierte Daten zu der Verteilung idiopathischer versus symptomatischer und kryptogener Epilepsien innerhalb der untersuchten Studien-Population.

Referenz	Lokalisierung	idiopathisch	symptomatisch/kryptogen
Berg et al. 1992	USA, Connecticut	20-30%	70-80%
Zarelli et al. 1999	USA, Rochester		
Berg et al. 1999	USA, Connecticut	30%	70%
Braathen et al. 1995	Schweden, Huddinge	70%	30%
Callenbach et al. 1998	Niederlande	49%	51%
Shinnar et al. 1999	USA, Illinois	25%	75%
Freitag et al. 2001	Deutschland, H./M.	47%	53%
Jallon et al. 2001	Frankreich	32,1%	67,9%
Durá-Travé et al. 2007	Spanien, Navarre	45,5%	54,5%
Aktuelle Arbeit - Duisburg	**Deutschland - Duisburg**	**60%**	**40%**
Aktuelle Arbeit - Ulm	**Deutschland - Ulm**	**27%**	**73%**

H = Heidelberg, M = Mannheim, USA = United States of America

4.1.2 IGE-Anteil an idiopathischen Epilepsien

Bei dem Vergleich von idiopathischen generalisierten Epilepsien mit den anderen idiopathischen Epilepsien, traten die IGE haüfiger auf: 60% aller idiopathischen Epilepsien waren IGE, alle anderen idiopathischen Epilspien machten 40% aus. Bei der Gegenüberstellung mit weiteren Studien fällt auf, dass die Daten dieser Arbeit mit denen

der Studie von Freitag et al. (2001) (IGE: 53%) und von Durá-Travé et al. (2007) (IGE: 53,6%) vergleichbar sind. In anderen Arbeiten zeigte die Verteilung von IGE im Vergleich zu anderen idiopathischen Epilepsien bisher sehr unterschiedliche Ergebnisse, wie zum Beispiel in der niederländischen (IGE: 77%) (Callenbach et al. 1998) und der französischen Studie (IGE: 85,3%) (Jallon et al. 2001). In einer der US-amerikanischen Studien (Shinnar et al. 1999) überwiegte der Anteil an Patienten mit „anderen idiopathischen Epilepsien“ mit 58% der gesamten idiopathischen Epilepsien.

In der Stichprobe aus dem Gesamtkollektiv der Wedau Kliniken mit Einschluss aller idiopathischen Epilepsien ohne Berücksichtigung der Familienanamnese machten die IGE 32% aller idiopathischen Epilepsien aus. So entstand die Überlegung, dass fokale Anfälle (als Teil der anderen idiopathischen Epilepsien) häufiger mit negativer Familienanamnese vorkamen als mit positiver Familienanamnese. Diese Überlegung konnte in der Stichprobe aus dem Gesamtkollektiv der Wedau Kliniken bestätigt werden: fokale Anfälle mit negativer Familienanamnese machten 90% aller fokalen Anfälle aus.

Somit kann die Diskrepanz zu Angaben über die Verteilung von IGE versus anderer idiopathischen Epilepsien innerhalb der idiopathischen Epilepsien erklärt werden; Bei der Lektüre solcher Daten in der Literatur sollten daher immer die Rekrutierungskriterien kritisch beurteilt werden, da fokale Anfälle im Rahmen idiopathischer Epilepsien zum größten Teil mit einer negativen Familienanamnese verbunden sind. Somit kommt es bei Studien, die ausschließlich Patienten mit positiver Familienanamnese einschließen (Callenbach et al. 1998) zu niedrigeren Anteilen fokaler Anfälle als in Studien, in denen die Familienanamnese bei der Rekrutierung nicht berücksichtigt wird (Freitag et al. 2001).

4.1.3 Verteilung der IGE-Syndrome

Auch zu den verschiedenen Epilepsietypen und Epilepsiesyndromen gibt es sehr unterschiedliche epidemiologische Daten (Durá-Travé et al. 2007). Eine der Schwierigkeiten in der Untersuchung von IGE Syndromen ist die Variabilität der Epilepsie Phänotypen. Dies ist ein Grund dafür, dass bisher kaum Studien die verschiedenen IGE Syndrome im Detail untersuchten, sondern vielmehr ätiologische oder lokalisationsbezogene Daten analysierten. Die in dieser Studie zusammengetragenen Daten können allerdings mit einigen existierenden Arbeiten verglichen werden. Freitag et al. (2001) führte eine populationsbasierte Studie von Kindern und Jugendlichen zwischen dem

Alter von einem Monat und 15 Jahren durch, in dem er die einzelnen IGE-Syndrome erfasste. Von 36 Patienten hatten neun eine idiopathische generalisierte Epilepsie. In einer Studie rekrutierte Jallon et al. (2001) Epilepsie-Patienten aus 23 verschiedenen neurologischen Zentren, von denen die IGE-Syndrome einzeln aufgeführt werden. Weitere Daten wurden im Rahmen von genetischen Studien zusammengetragen und können somit zusätzlich zum Vergleich herangezogen werden (Sander et al. 2000; Durner et al. 2001; Hempelmann et al. 2006). Eine tabellarische Übersicht von bisher publizierten Studien und von den jeweiligen Verteilungen der IGE-Syndrome gibt Tabelle 13.

Tabelle 13 Vergleich der publizierten Studien zu idiopathischen generalisierten Epilepsien und der Verteilung der IGE-Syndrome innerhalb der untersuchten Population. Unter den Diagnoseangaben befinden sich jeweils links die Absolutzahl an Patienten und rechts die Prozent-Angaben in Bezug auf die gesamte untersuchte Population

Publikationen	**N**	**CAE [%]**	**JAE [%]**	**IAE [%]**	**JME [%]**	**EGMA [%]**	**EGTCS [%]**	**u. IGE [%]**	**Alter der Patienten**
Berg et al. 1999	102	67 [65,7]	10 [9,8]		11 [10,8]	-	1 [0,98]	13 [12,7]	Kinder
Sander et al. 2000	351	116 [33]	59 [16,8]	6 [1,7]	95 [27,1]	7 [1,9]	50 [14,2]	18 [5,1]	nicht spezifiziert
Durner et al. 2001	91	-	10 [11]		53 [58,2]	7 [7,7]	14 [15,4]	7 [7,7]	Beginn Anfälle: 10-20 j
Freitag et al. 2001	9	1 [11,1]	2 [22,2]		1 [11,1]	-	-	5 [55,6]	1 mo - <15 j
Jallon et al. 2001	278	91 [32,7]	30 [10,8]		54 [19,4]	6 [2,2]	-	97 [34,9]	1 mo - 95 j
Marini et. 2004	55	15 [27,3]	15 [27,3]		15 [27,3]	0 0	10 [18,2]	-	nicht spezifiziert
Hempelmann et al. 2006	365	144 [39,5]	46 [12,6]		90 [24,7]	24 [6,6]	35 [9,6]	26 [7,1]	nicht spezifiziert
Dura-Traves et al. 2007	159	45 [28,3]	8 [5,0]		3 [1,9]	2 [1,3]	-	32 [20,1]	1 mo -15 j
Aktuelle Arbeit	**120**	**17 [14,2]**	**17 [14,2]**		**45 [37,5]**	**8 [6,67]**	**33 [27,5]**	**-**	**Alle Altersklassen**

CAE = kindliche Absenceepilepsie, EGMA = Aufwach-Grand-Mal Epilepsie, EGTCS = Epilepsie mit generalisierten tonisch-klonischen Anfällen, IAE = idiopathische Absenceepilepsie, IGE = idiopathische generalisierte Epilepsie, j = Jahre, JAE = juvenile Absenceepilepsie, JME = juvenile myoklonische Epilepsie, mo = Monate, N= Anzahl an Patienten, u. IGE = unklassifizierbare idiopathische generalisierte Epilepsien.

Idiopathische generalisierte Epilepsien werden in verschiedene Syndrome unterteilt, die sich klinisch im Manifestationsalter und in der vorwiegenden Anfallssemiologie unterscheiden. In der aktuellen Studie traten JME mit 38% mit Abstand am häufigsten der vier klassischen IGE Syndrome auf, wie es auch schon einmal beschrieben wurde (26%; Janz et Durner, 1997). In einer Studie von Durner et al. (2001) hatten nahezu 60% der Patienten eine JME. Die hohe Anzahl lässt sich dort dadurch erklären, dass die Kohorte aus Jugendlichen bestand, definitionsgemäß also keine CAE-Patienten rekrutiert wurden; Der Anteil an Absenceepilepsien war somit im Vergleich zu der aktuellen Studie viel geringer, was den relativen Anteil an JME erhöhte. Außerdem wurden bei Durner et al. (2001) zur Verminderung der phänotypischen Heterogenität nur Patienten mit einer klinisch klar zu zuordbaren IGE-Diagnose in die Studie eingeschlossen, was bei der JME durch das klinische Charakteristikum der myoklonischen Zuckungen am Morgen von allen IGE Syndromen am einfachsten ist. Realistischer waren die Beobachtungen in der Studie von Jallon et al. (2001), bei der die JME 19% der IGE ausmachten. Auch in der Studie von Freitag et al. (2001) lag der Anteil der JME mit 11% weit unter dem hier beobachteten Prozentsatz. Da die Diagnose der JME häufig spät und retrospektiv erst nach dem ersten tonisch-klonischen Anfall gemacht wird, bleibt die exakte Frequenz von JME schwierig zu beurteilen.

In der aktuellen Studie traten CAE und JAE gleichermaßen mit je 14% der IGE auf, was außer bei Marini et al. (2004), wo CAE, JAE und JME je 27% ausmachten, bei keiner anderen Studie bisher der Fall war. In drei Studien war der Anteil an CAE höher (Jallon et al. 2001; Sander et al. 2000; Hempelmann et al. 2006), in zwei anderen Studien überwiegten die JAE (Durner et al. 2001; Freitag et al. 2001). Absenceepilepsien sind definitionsgemäß altersabhängige Syndrome und deren Distribution variiert in Abhängigkeit von der untersuchten Kohorte, d.h. inwiefern es sich ausschließlich um Kinder oder um eine kombinierte Kinder-Erwachsenen Kohorte handelt. So machten zum Beispiel in einer großen Kohorte die CAE 6% der Studienpopulation aus, mit 12,8% der CAE bei Patienten unter dem 15. Lebensjahr und 5,7% bei Patienten über 15 Jahren (Hauser et al. 1992).

Die Epidemiologie der JAE ist aufgrund einer Unterdiagnostizierung bisher nicht gut untersucht worden. Viele JAE werden erst mit dem ersten generalisierten tonisch-klonischen Anfall diagnostiziert und Absencen wurden bei den Patienten zunächst übersehen. In großen Kohorten scheinen die JAE mit nur 0,2-2,4% der Anfälle in der

gesamten Studienpopulation sehr selten zu sein (Berg et al. 1999; Oka et al. 1995; Jallon et al. 2001). Bei Berg et al. (1999) machten die JAE 8,5% der IGE aus, bei Jallon et al. (2001) 10,8%, was mit den Ergebnissen dieser Studie übereinstimmt. In einer Studie waren die JME und die JAE gleich häufig vertreten (Reutens et Berkovic, 1995).

Generalisierte tonisch-klonische Anfälle (GTKA) findet man in einer vielfältigen Varietät epileptischer Syndrome. Die Diagnose ist meistens schwer zu eruieren, da die Patienten zusätzlich weitere Anfallsarten zeigen wie beispielsweise Absencen oder Myoklonien. Wenn bei einem Patienten ausschließlich GTKA beobachtet werden und er ein pathologisches EEG mit Spikes und/oder Waves hat, wird er unter der Diagnose EGTCS (Epilepsie mit generalisierten tonisch-klonischen Anfällen) geführt. Diese traten in der aktuellen Studie mit 27% der Patienten seltener auf als in der Studie von Freitag et al. (2001) (56%).
Bisher gibt es kaum bewährte Ergebnisse zu der Aufwach-Grand-Mal Epilepsie. Hier machten sie 7% der IGE aus. Die EGMA sind wie in dieser Studie auch, bei allen vorliegenden Studien am seltensten vertreten, wobei zum Beispiel viele Patienten mit einer JME später eine EGMA entwickeln. In manchen Studien werden gar keine Fälle von EGMA beschrieben (Freitag et al. 2001; Berg et al. 1999).

In verschiedenen publizierten Arbeiten kommen die Termini „fokaler und/oder generalisierter Epilepsien undeterminierter Ätiologie“ und „Epilepsie ohne eindeutige generalisierte oder fokale Befunde“ zur Bezeichnung unspezifischer Epilepsien vor. In der aktuellen Studie wurden 29% aller Patienten mit unklassifizierbaren Epilepsien beobachtet. Dabei handelte es sich um Patienten mit fokalen Anfällen oder mit generalisierten Anfällen aber einem normalen EEG. In der Studie von Durá-Travé machten diese zum Beispiel 10,6% der Epilepsien aus; Die Zahlen variieren stark von einem Autor zum nächsten. Diese Unterschiede sind aufgrund der nicht ausreichenden Definitionen dieser Epilepsien oder Epilepsie Syndrome in gewisser Weise verständlich, da sie für verschiedenartige Interpretationen anfällig werden.

4.1.4 Familienanamnese

Angaben zu der Häufigkeit positiver Familienanamnesen bei idiopathischen Epilepsien sind in der Literatur spärlich aufgeführt. In der aktuellen Studie war die Familienanamnese für IGE bei 11% der Familien für zweitgradige Verwandte positiv. Diese wurden als Multiplexfamilien rekrutiert. 89% der Familien wurden als Kernfamilien rekrutiert, wobei 22% der Familien innerhalb der Kernfamilien eine positive Familienanamnese zeigten. In der spanischen Studie war die Familienanamnese für Epilepsien bei 7,3% der Patienten mit idiopathischen Epilepsien für erstgradig Verwandte, bei 19,5% der Patienten für zweitgradige Verwandte positiv (Durá-Travé et al. 2007). In den Kohorten, die für drei genomweite Kopplungsanalysen rekrutiert wurden, wurden ausschließlich Patienten mit positiver Familienanamnese rekrutiert. Multiplexfamilien machten dort 18% (Sander et al. 2000), 42% (Durner et al. 2001) und 23% (Hempelmann et al. 2006) der rekrutierten Familien aus. Die höhere Anzahl im Vergleich zu dieser Arbeit ist dadurch zu erklären, dass in solchen Studien möglichst große Familien rekrutiert werden und somit ein Bias zugunsten von Multiplexfamilien entsteht.

Zusammenfassend weisen die erheblichen Unterschiede in epidemiologischen Daten auf die Komplexität der Diagnostik von Epilepsien hin. Die hohe Variabilität der klinischen und elektroenzephalographischen Beobachtungen bei diesen Patienten trägt zu der Schwierigkeit bei, die differenzierenden Charakteristika der Epilepsie Syndrome zu erkennen (Berg, Levy et al. 1999). Diese Arbeit trägt daher erheblich zur Vertiefung der klinischen Analyse idiopathischer Epilepsien bei. Zum einen wurde eine große Kohorte an Patienten rekrutiert, in der die Phänotypisierung nach einem standardisierten Protokoll erhoben wurde. Dadurch konnte eine relative phänotypische Homogenität gewährleistet werden. Das altersabhängige Auftreten von Epilepsien idiopathischer Ätiologie wurde belegt und die Verteilung der häufigen IGE Syndrome konnte mit existierenden Studien verglichen werden. In Zukunft sollten weiterhin große Kohorten rekrutiert und nach einem standardisierten Protokoll phänotypisiert werden. Um Diskrepanzen in epidemiologischen Studien zu verringern, sollte am Beispiel dieser Arbeit eine Subklassifizierung der Anfälle mittels weiterer phänotypischer Faktoren wie Details zur Anfallsemiologie, Provokationsfaktoren oder EEG-Auswertungen gemacht werden.

4.2 Klinische und molekulargenetische Untersuchungen

4.2.1 Idiopathische generalisierte Epilepsien – IGE

Bei jedem rekrutierten Probanden erfolgte zunächst eine klinische Diagnostik. Die Untersuchungen aller Patienten bestätigten das weite Symptomenspektrum der idiopathischen Epilepsien. Zwei Familien wurden zur Darstellung typischer IGE-Familien in den Ergebnissen aufgeführt.

Die klinische Variabilität konnte am Beispiel der Familie IGE102 verdeutlicht werden: bei zwei Geschwistern begannen myoklonische Anfälle und GTKA in der Pubertät, bei dem Sohn einer der Geschwister traten allerdings schon ab dem zweiten Lebensjahr ausschließlich GTKA auf.

4.2.1.1 Kandidatengenanalyse

Zur Entdeckung IGE-assoziierter genetischer Defekte werden verschiedene Verfahren herangezogen. Kopplungsanalysen bei häufigen IGE Syndromen haben zur Lokalisation einer Reihe von potentiellen Erkrankungsloci geführt (siehe Tabelle 15 im Anhang). Mutationsanalysen von Kandidatengenen können im Anschluss an Kopplungsanalysen stattfinden, um disponierende Genmutationen bei IGE-Patienten aus Familien mit positivem Kopplungshinweis zu identifizieren. Gene, die möglicherweise Assoziationen mit dem Auftreten von genetisch beeinflussten Krankheiten aufweisen, werden als Kandidatengene bezeichnet. So werden im Rahmen von populations- oder familienbasierten Assoziationsstudien funktionell relevante genetische Variationen in Kandidatengenen mit entweder physiologischer Plausibilität oder aber positionaler Evidenz hinsichtlich möglicher Suszeptibilitätseffekte analysiert.

Eines der zur Zeit laufenden Unterprojekte des europäischen genetischen Projektes (EPICURE) in das Patienten einfließen, die in dieser Arbeit rekrutiert wurden, umschließt beispielsweise eine genomweite Analyse für idiopathische generalisierte Epilepsien, bei der 95 Multiplexfamilien in Kandidatengenen sequenziert werden. Klinische Angaben zu jedem Familienmitglied wurden anhand eines standardisierten Dokumentationsbogens systematisch erfasst und mit den Proben und dem Stammbaum der jeweiligen Familie verarbeitet. Zum *Screening* IGE-assoziierter Mutationen wurden 99 Kandidatengene identifiziert. Die Auswahl der Kandidatengene beruhte auf (1) dem aktuellen Wissen über

die Rolle verschiedener Gene in Formen der IGE, die einem mendelschen Vererbungsmodus folgen und (2) der Plausibilität funktioneller Hypothesen über Epilepsie, die anhand von funktionellen Studien oder von Tiermodellen formuliert wurden. Die meisten Kandidatengene kodieren für transmembranäre Proteine, die mit dem Ionentransport verbunden sind (EPICURE 2009).

Die in meiner Arbeit aufgeführte Familie IGE92 wurde im Rahmen einer Studie mit einer Kohorte von 52 unabhängigen Familien hinsichtlich von Mutationen in dem *CLCN2*-Gen molekulargenetisch und elektrophysiologisch untersucht (Saint-Martin et al. 2009). Der Locus auf Chromosom 3q26 in dem das Gen liegt, wurde in der genomweiten nicht-parametrischen Kopplungsanalyse von Sander et al. (2000) identifiziert. Verschiedene Arbeitsgruppen haben bisher Mutationen in dem *CLCN2*-Gen gefunden (Haug et al. 2003; D'Agostino et al. 2004). Anhand der Familie IGE92 konnte gezeigt werden, dass verschiedene epileptische Phänotypen innerhalb von einer Familie verschiedene genetische Ursprünge haben können: die zwei betroffenen Geschwister mit der Mutation in dem *CLCN2*-Gen hatten einen homogenen GTKA-Phänotypen, während ein Patient mit SMEI negativ für diese Variante war und eine *de novo* Mutation in dem Gen *SCN1A* für den schwerwiegenden Phänotyp verantwortlich war. Viele Mutationen in dem für die α-Untereinheit spannungsabhängiger neuronaler Natriumkanäle kodierenden *SCN1A*-Gen wurden bisher in GEFS+ Familien (Escayg et al. 2000) und bei SMEI-Patienten (Claes et al. 2001) identifiziert (Lerche et al. 2005). Bei dem Vater der zwei betroffenen Geschwister wurde ebenfalls die Mutation in dem *CLCN2*-Gen gefunden. Der Vater war aber klinisch unauffällig, so dass hier von einer inkompletten Penetranz auszugehen ist.
Die molekulargenetische und elektrophysiologische Analyse dieser Familie gibt einen Einblick in die Möglichkeiten, die bei Untersuchung weiterer IGE Familien bevorstehen und zeigt mit welcher Art von Ergebnissen in Zukunft gerechnet werden kann. Diese Entdeckungen waren nur möglich, da eine große Kohorte untersucht wurde und diese, wie es Familie IGE92 zeigt, u.a. im Rahmen meiner Arbeit rekrutiert wurde.

4.2.1.2 Genomweite Kopplungsuntersuchungen

Die Durchführung systematischer genomweiter Kopplungsanalysen (w*hole genome scans*) ermöglicht die Identifizierung von Suszeptibilitätsloci, die für häufige IGE Syndrome prädisponieren. Bislang wurden drei große genomweite Kopplungsanalysen bei Familien

mit klassischen IGE durchgeführt (Sander et al. 2000; Durner et al. 2001; Hempelmann et al. 2006). In der ersten Arbeit wurden durch die Untersuchung von 130 europäischen IGE-Multiplexfamilien drei Loci auf den Chromosomen 2q36, 3q26 und 14q23 entdeckt, die mit IGE gekoppelt sind (Sander et al. 2000). Innerhalb der durch Sander et al. (2000) identifizierten Kopplungsregion auf chr3q26 befindet sich das Gen *CLCN2*, das für den u.a. neuronal exprimierten Chloridkanal CLC-2 kodiert. Die Studie von Sander et al. (2000) war u.a. für die Entdeckung von drei Mutationen in dem *CLCN2*-Gen in drei unabhängigen Familien, die als CAE, JAE, JME, EGMA diagnostiziert wurden, ausschlaggebend (Haug et al. 2003). Mit dieser Arbeit von Haug und Kollegen gelang der erste Nachweis eines Epilepsiegens, in dem Mutationen alle häufigen IGE Formen verursachen können. Es beweist auch die genetische Überlappung dieser vier Syndrome, die oft diskutiert wurde. Die Mutationen übten in allen drei Familien einen Hauptgendefekt aus, der überwiegend für die Manifestation der Epilepsie bei den Betroffenen verantwortlich war. Die Tatsache, dass sich in allen drei Familien ein unterschiedlicher Hauptphänotyp fand, spricht jedoch auch für die genetische Komplexität dieser Syndrome (Lerche et al. 2004). Drei neue Mutationen in dem *CLCN2*-Gen wurden in einer Arbeit publiziert, die oben schon beschrieben wurde; Eine der analysierten Familien ist die in der aktuellen Arbeit beschriebene Familie IGE92 (Saint-Martin et al. 2009).

In der zweiten genomweiten Kopplungsanalyse wurden 91 europäische IGE-Familien untersucht, bei denen der Beginn der Anfälle bei den Indexpatienten im Jugendlichenalter lag (Durner et al. 2001). In dieser Arbeit wurde durch parametrische Analysen ein Locus für ein allgemeines IGE Syndrom auf chr18q21 gefunden. Eine Kopplung zu chr6p21 wurde für JME-Formen der IGE bestätigt (Whitehouse et al. 1993), sowie eine Kopplung zu chr8p12 für nicht-JME Formen der IGE (Durner et al. 1999). Zwei Loci für Absencen wurden auf chr5p15 und chr5q22 entdeckt.

Die dritte genomweite Kopplungsanalyse von 126 Multiplexfamilien (Hempelmann et al. 2006), wovon einige aus dem Epilepsiezentrum Ulm (Neurologische Klinik der Universität Ulm) stammten, offenbarte ein komplexes Muster an Kopplungssignalen (5q34, 6p12, 11q13, 13q22-q31 und 19q13), die sich, abhängig von der prädominanten Form der Anfallstypen innerhalb der Multiplexfamilie, in ihrer Komposition unterschieden. Konfigurationen von einzelnen oder gemischten genetischen Effekten schienen die Wahrscheinlichkeit eine besondere IGE-Form zu entwickeln, zu beeinflussen. Um die Heterogenität in der Kohorte zu reduzieren wurden die IGE-Patienten in zwei Gruppen eingeteilt: (1) mindestens zwei Geschwister mit typischen Absencen ohne JME-artige

Anfälle (IAE-Gruppe = idiopathische Absenceepilepsie), (2) mindestens zwei Geschwister mit JME-artigen Anfällen und EGMA (JME-Gruppe). So waren die Loci 11q13 und 13q22-q31 eher mit Absencen gekoppelt und die Loci 5q34, 6p12 und 19q13 prädisponierten eher für myoklonische Anfälle und GTKA nach dem Aufwachen (Hempelmann et al. 2006).
Die Diskrepanz zwischen den verschiedenen Kopplungsergebnissen deutet auf eine sehr komplexe genetische Architektur und auf die heterogene Vererbung der meisten IGE Syndrome hin. Aufgrund des offensichtlichen Fehlens einer eindeutigen Genotyp-Phänotyp-Beziehung und der anzunehmenden genetischen Heterogenität stellt die erfolgreiche Identifikation von Erkrankungs-Genen bei häufigen IGE Syndromen bislang eine Ausnahme dar.

Unabhängig von diesen Kopplungsbefunden wurde die erste Mutation im Gen *GABRA1* in einer Familie mit einer reinen IGE Form, einer JME ohne Fieberkrämpfe, gefunden. Dieses Gen kodiert für die α_1-Untereinheit des $GABA_A$ Rezeptors (Cossette et al. 2002). Eine zweite Mutation in diesem Gen wurde bei einem Patienten mit einer Absenceepilepsie nachgewiesen (Maljevic et al. 2006).

4.2.1.3 Genomweite Assoziationsstudie

Eine Assoziationsstudie ist ein statistisches Verfahren, in dem das gleichzeitige Auftreten eines bestimmten Allels bei einem definierten Phänotyp mit dem bei einer Kontrollgruppe verglichen wird. Es wird untersucht, ob bestimmte Allele oder Haplotypen bei Merkmalsträgern häufiger oder seltener sind als bei Nichtmerkmalsträgern, die als Kontrollen dienen. Der Haplotyp wird durch die gemeinsam vererbten Allele von eng gekoppelten Genloci oder Sequenzvarianten auf einem Chromosom gebildet. Die meisten Assoziationsstudien werden als retrospektive Fallkontrollstudie durchgeführt. Polymorphismen verschiedener Kandidatengene werden in den zwei Gruppen untersucht und die Häufigkeit der jeweiligen Allele miteinander verglichen. Tritt ein Allel signifikant häufiger in der Gruppe der Merkmalsträger auf, lässt dies auf einen Zusammenhang zwischen Allel des betreffenden Gens und der Erkrankung schließen.

Ein großer Teil der in dieser Arbeit und im Rahmen eines Europäischen genetischen Projektes (EPICURE) rekrutierten Patienten floss in umfangreiche Assoziationsstudien ein. Genomweite Assooziationsstudien für idiopathische generalisierte Epilepsien erleben

derzeit enorme Fortschritte, was zu der Identifizierung gemeinsamer Suszeptibilitätsallele und somit zur Präzisierung gemeinsamer epileptogener *Pathways* führt. In der zuletzt publizierten Arbeit von Helbig et al. (2009), in die die Patienten der EPICURE-Kohorte eingingen, wurden die Forschungsergebnisse um eine Mikrodeletion auf chr15q13.3 erweitert, die in der Allgemeinbevölkerung geradezu abwesend ist. In der 1,5-Mbp großen Region die von der Deletion betroffen ist, befindet sich u.a. das Gen *CHRNA7*, das für die α7-Untereinheit des nikotinischen Acetylcholinrezeptors kodiert. Die Mikrodeletion auf chr15q13.3 wurde mit einer Frequenz von 1% der IGE Patienten gefunden und repräsentiert somit den bisher häufigsten Hauptrisikofaktor für klassische IGE (Helbig et al. 2009). Solche Erkenntnisse können nur erzielt werden, wenn große Kohorten rekrutiert werden. Meine Arbeit konnte somit zu der Identifizierung des ersten Hauptrisikofaktors der häufigen IGE beitragen. Außerdem konnte in der Arbeit von Helbig et al. (2009) gezeigt werden, dass Mikrodeletionen eine tragende Rolle in der Ätiologie häufiger Erkrankungen wie Epilepsien spielt.

4.2.2 Benigne familiäre infantile Anfälle – BFIS

4.2.2.1 Klinische Aspekte

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zwei Familien mit benignen familiären infantilen Anfällen (BFIS) klinisch und molekulargenetisch ausführlich untersucht. Charakteristisch für die BFIS war in den beiden Familien die signifikante Kopplung der Erkrankung zu der BFIS2-Region auf dem Chromosom 16p11.2-q12.1, bzw. suggestive Kopplung zu diese Region im Fall der Familie BFIS29 (d.h. Kosegregation des Phänotyps mit einem Haplotypen auf chr16p11.2-q12.1 aber einem maximalen Lod-Score unter 3,0). Eine der beiden beschriebenen Familien, Familie BFIS35, präsentierte das klassische klinische Bild der benignen familiären infantilen Anfälle mit Beginn der Anfälle zwischen dem 3. und dem 7. Lebensmonat mit Ausnahme eines Patienten, bei welchem die Anfälle erst im 3. Lebensjahr auftraten. In der Familie BFIS29 hingegen wurde interessanterweise bei allen Betroffenen ein später Beginn der Anfälle zwischen dem 14. und 20. Lebensmonat beobachtet. In der Literatur liegt der Beginn der Anfälle bei BFIS zwischen dem 3.und dem 12. Lebensmonat und ein Beginn der Anfälle nach dem 12. Lebensmonat wird nur bei 2,2% der Patienten beschrieben (siehe Tabelle 16 im Anhang). Außerdem wurde mit der Familie

BFIS29 die erste Familie beschrieben, in der alle Familienmitglieder ein beständiges spätes Auftreten der Anfälle zeigte.

Das Verschwinden der Anfälle im späteren Lebensalter, ein weiteres Kriterium der BFIS, wurde in beiden Familien beobachtet. In der Familie BFIS35 war dies nur bei einer Patientin, bei der im späteren Leben einfach fokale Anfälle auftraten, nicht der Fall und in der Familie BFIS29 hatten zwei Betroffenen auch im Alter von 15 Jahren noch epilepsietypische Potentiale im EEG.

Weiterhin kennzeichnend für BFIS sind der Anfallstyp und das Auftreten der Anfälle in Form von Clustern. Mit Ausnahme einer Patientin, die einen einmaligen atonischen Anfall erlitt, hatten alle Betroffenen der Familie BFIS35, bei denen eine klare Aussage zum Anfallstyp möglich war, generalisierte tonisch-klonische Anfälle. Dies entspricht einer Prozentzahl von 94%, was deutlich höher liegt als in allen bisher beschriebenen Familien, in denen GTKA 34% der Anfallstypen bei BFIS ausmachen (siehe Tabelle 14). Häufiger werden komplex-partiale Anfälle (54%) in der Literatur beschrieben (Weber et al. 2008). So war es auch bei der Familie BFIS29.

Der Anteil an Clustern in der Familie BFIS29 (38%) war geringer als erwartet, da in der ursprünglichen Arbeit von Vigevano et al. (1992) die Anfälle ausschließlich in Form von Clustern auftraten. Allerdings war der Prozentsatz an Patienten mit Clustern mit dem Prozentsatz weiterer publizierter Familien die eine Kopplung zu chr16 zeigten, vergleichbar (34%) (Siehe Tabelle 16). Diese Zahlen sind auch mit dem Anteil an Clustern in der Familie BFIS35 vergleichbar, in der die GTKA bei 25% der Patienten in Form von Clustern auftraten.

Sehr interessant ist außerdem der Anteil an Fieberkrämpfen in der Familie BFIS29, der mit 75% deutlich höher lag als bisher in der Literatur beschrieben. Der Anteil an Fieberkrämpfen in anderen BFIS-Familien liegt mit 1% in der Größenordnung der Häufigkeit von Fieberkrämpfen in der Allgemeinbevölkerung (2-5%) (Shinnar et Glauser, 2002).

Weiterhin konnten in allen erhältlichen interiktalen EEG-Aufzeichnungen aus der frühen Kindheit der BFIS29-Familiemitglieder multifokale oder generalisierte epileptiforme Potentiale nachgewiesen werden, im Vergleich zu 63% bis 100% normalen interiktalen EEGs bei BFIS Familien in der Literatur. Zuletzt sei noch auf die kognitiven Defizite bei zwei Patienten in der beschriebenen Familie BFIS29 eingegangen, was für BFIS bislang noch nicht beschrieben wurde.

Die Unterschiede zwischen den hier und den in der Literatur beschriebenen Familien können einerseits durch verschiedene genetische Defekte, die für die Familien die zu diesem Locus gekoppelt sind immer noch unbekannt sind, andererseits durch unterschiedliche genetische Hintergründe der Familien mit BFIS erklärt werden. Die Familie BFIS35 entspricht klinisch einer klassischen BFIS Familie mit häufigen GTKA. Der Phänotyp der Familie BFIS29 hat allerdings Ähnlichkeiten mit dem Phänotyp in GEFS+; Der homogene Beginn der Anfälle, die Anfallscluster und die Kopplungsergebnisse in dieser Familie sprechen aber alle gegen dieses Syndrom. Obwohl es unwahrscheinlich erscheint, könnte die Kombination von febrilen und afebrilen Anfällen innerhalb der Familie BFIS29 auch auf verschiedenen genetischen Defekten beruhen.

Die klinische Symptomatik der Familie BFIS29 erweitert somit das klassische Bild der BFIS mit der Konsequenz, dass auch an BFIS gedacht werden muss, wenn die epileptischen Anfälle nach dem 1. Lebensjahr beginnen und ggf. zusätzlich Fieberkrämpfe vorliegen (Weber et al. 2008).

Tabelle 14 Klinische Daten von Familien, die eine Kopplung zu der BFIS2 Region auf chr16 haben. Vergleich der Familien BFIS29 und BFIS35 mit anderen publizierten Daten (Verändert nach: Weber et al. 2008). In den Klammern ( ) befinden sich die Prozentangaben.

Referenz	# Familien	# Betroffene Probanden	# Probanden mit normalem interiktalen EEG (%)	# Probanden mit oder ohne Cluster			Beginn (Monate)	Anfallstyp (%)				# Probanden mit ICCA (%)
				mit	ohne	uk		FS	KPA	GTKA	uk	
1	7	24	15 (63)	11	5	8	2-10	0	12	7	5	1
2	16	70	62 (87)	26	28	16	3-7	2	23	40	7	0
3	4	30	meistens	15	15	0	3-10	0	30	0	0	1
4	4	24	24 (100)	0	0	24	3-12	0	20	0	4	12
5	9	9	8 (89)	2	0	7	4-5	0	0	7	2	6
alle	40	157	-	54 (34)	48 (31)	55 (35)	2-12	2 (1)	85 (54)	54 (34)	18 (12)	20 (13)
BFIS 35	1	16	uk	4 (25)	7 (44)	5 (31)	3-7 [36*]	0	0	15 (94)	0	0
BFIS 29	1	8	0 (0)	3 (38)	4 (50)	1 (12)	14-20	6 (75)	4 (50)	3 (38)	0 (0)	0

= Anzahl, BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle, EEG = Elektorenzephalogramm, FS = Fieberkrämpfe, GTKA = generalisierte tonisch-klonische Anfälle, ICCA = infantile Konvulsionen mit paroxysmaler Choreoathetose, KPA = komplex-partiale Anfälle, uk = unbekannt
[*] Ein Patient bei Beginn der Anfälle im dritten Lebensjahr.

Referenzen: (1) Caraballo et al. 2001, (2) Weber et al. 2004, (3) Callenbach et al. 2005, (4) Szepetowski et al. 1997, (5) Lee et al. 1998

4.2.2.2 Molekulargenetische Aspekte

Die BFIS2 Region auf chr16p12-q12 ist bereits durch viele Arbeitsgruppen untersucht worden, jedoch konnte bisher keine zugrunde liegende Mutation nachgewiesen werden (siehe Abbildung 11). Besonders interessant ist, dass in der Haplotypenanalyse der Familie BFIS35 für den in dieser Region liegenden Marker D16S3080 bei allen Betroffenen ein Allelverlust festgestellt wurde. Es könnte sich dabei um eine Deletion oder einen *loss of heterozygocity* (LOH) in dem *ZNF423*-Gen, einem Zinkfingerprotein-Gen in dem der Marker D16S3080 liegt, handeln. Mittels Sequenzierung werden die neun Exons dieses Gens zurzeit auf Polymorphismen in der DNA-Sequenz analysiert. In verschiedenen Arbeitsgruppen wurden insgesamt mehr als 160 Gene in der BFIS2-Region sequenziert und bislang konnte noch keine Mutation identifiziert werden. Dies liegt zum einen daran, dass sich mitten in der BFIS2 Region ein ca. 10 Mbp großes Gebiet befindet, das in den gängigen Datenbanken als „Gap“ bezeichnet wird. Ein Gap ist ein Sequenzbereich, über den bisher keine Sequenzinformation existiert. Die humane DNA-Sequenz wurde im Rahmen des Humangenomprojektes nahezu vollständig sequenziert. Es verblieben allerdings 341 Gaps und 33 davon sind heterochromatine Gaps (International Human Genome Consortium, 2004). Unter Heterochromatin versteht man hochspiralisierte, nicht ablesbare DNA Bereiche. Es handelt sich bei dem Gap in der BFIS2 Region ebenfalls um Heterochromatin, so dass entweder davon auszugehen ist, dass es sich um eine nicht kodierende Region handelt oder dass es sich um kodierende Sequenzbereiche handelt, die aber mit den aktuellen Methoden nicht zu lesen sind. Im Jahre 2004 waren bereits Strategien diskutiert worden, um dieses Problem zu umgehen (Herstellung von Gap überspannenden Klonen oder „primer walk“ unter Verwendung von zufällig mehrfach bindenden Primern), allerdings sind seitdem für die Region BFIS2 keine weiteren Erfolge publiziert worden. Für die weitere Untersuchung ist zu berücksichtigen, dass alle beschriebenen klinischen Syndrome auch auf Defekten in unterschiedlichen Genen beruhen können oder aber nur ein Hauptgen betreffen. In letzterem Fall müsste die klinische Ausprägung durch Veränderungen in anderen Genen modifiziert werden. Sicher sollte eine konsequente Sequenzierung aller Gene der BFIS2 Region weiterhin in allen BFIS Familien durchgeführt werden. Wie oben schon erwähnt wurden allerdings die meisten Gene bereits ohne positives Ergebnis sequenziert (nicht publizierte Daten von verschiedenen Arbeitsgruppen).

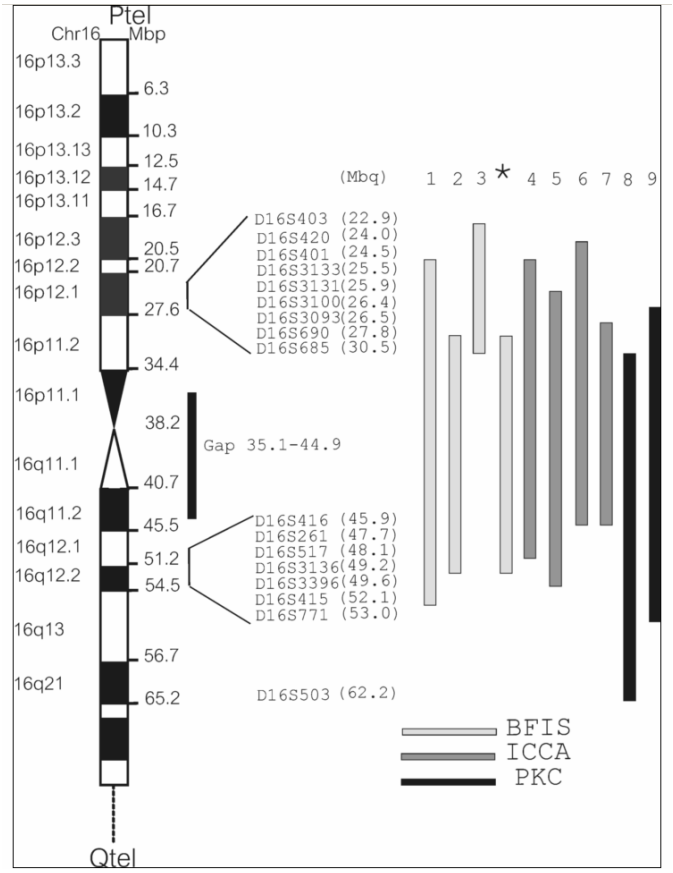
Es ist zu diskutieren, dass mehrere DNA-Abschnitte der BFIS2 Region auch mindestens verdoppelt vorliegen können. Dies könnte erklären, warum mögliche Mutationen übersehen wurden. Eine denkbare Lösung des Problems wäre die konsequente Klonierung und

anschließende Sequenzierung der klonierten DNA-Abschnitte einzelner Patienten unter Verwendung der vom Humangenomprojekt vorgeschlagenen Methoden (s.o.) (Weber YG. 2008/Habilitation).

Eine weitere Möglichkeit als fortführende Alternative zu Sequenzierungsvorgängen und in dem Fall der Familie BFIS35 ein möglicher Nachweis der Deletion könnte die Durchführung einer Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) sein. Mittels FISH wird die chromosomale Lokalisation der Marker determiniert und bestätigt, wobei dieses Verfahren einen Querverweis zwischen der DNA-basierten genetischen Karte und der physikalischen Karte herstellt. Somit könnten strukturelle Aberrationen wie zum Beispiel die vermutete Mikrodeletion mit FISH-Sonden eindeutig abgeklärt werden.

Künftig ist ebenfalls eine Untersuchung der Ribonukleinsäure (RNA) betroffener Patienten erstrebenswert, um mittels Reverser-Transkriptase Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) Informationen darüber zu bekommen, ob die *messenger*-RNA (mRNA) aufgrund von Sequenzveränderungen alternativ gespleißt wurde und deshalb Gen-Mutationen mit sich bringt.

Ein weiteres Verfahren, welches die molekulargenetische Analyse bei BFIS vertiefen könnte, ist die locus-spezifische Chip-Analyse (d.h., dass sowohl Exons wie auch Introns der Region analysiert werden), die durch den Vergleich einer Patientenprobe und einer Kontrollprobe Informationen über Unterschiede in der Expression der Gene zwischen den beiden Proben liefert. Die Analyse von Deletionen oder Duplikationen von Genen und von nicht-kodierenden Regionen unter Zuhilfenahme einer Chip-Analyse wäre sinnvoll, da dies auch eine zugrunde liegende Ursache der BFIS sein könnte.



1 = Carballo et al. 2001
2 = Weber et al. 2004
3 = Callenbach et al. 2005
4 = Szepetowski et al. 1997
5 = Swoboda et al. 2000
6 = Lee et al. 1998
7 = Tomita et al. 1999
8 = Valente et al. 2000
9 = Bennett et al. 2000
* = Weber et al. 2008

Abbildung 11 Vergleich der Suszeptibilitätsregionen auf chr16 für verschiedene Studien mit Kopplungsanalyse. Die Abbildung basiert auf der physikalischen Karte von Chromosom 16 des UCSC Genomprojektes (http://genome.ucsc.edu) und zeigt die Grenzmarker der dargestellten Region (Aus: Weber et al. 2008)

BFIS = benigne familiäre infantile Anfälle, chr = Chromosom, ICCA = infantile Konvulsionen mit paroxysmaler Choreoathetose, Mbp = Mega-Basenpaare, P = langer Arm des Chromosoms, PKC = paroxysmale kinesiogene Choreoathetose, Q = kurzer Arm des Chromosoms

4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Erhebliche Unterschiede zwischen den Ergebnissen verschiedener epidemiologischer Studien zu idiopathischen Epilepsien weisen auf die Komplexität der Diagnostik von Epilepsien hin. Es gibt bisher nur wenige epidemiologische Studien zu den idiopathischen Epilepsien; Diese Arbeit trug zur Vertiefung der klinischen Analyse und zur Erweiterung der epidemiologischen Daten über idiopathische Epilepsien bei. Am Beispiel dieser Arbeit konnte zudem die Notwendigkeit gezeigt werden, klinische und genetische Analysen im

Rahmen von großen Kohorten durchzuführen, mit dem Ziel, eine möglichst hohe phänotypische Homogenität zu erzeugen.
Verschiedene genetische Forschungsansätze, seien es populations- und familienbasierte Kandidatengenanalysen oder genomweite Kopplungsuntersuchungen, haben zu einem enormen Fortschritt im Bereich der Genetik und der Pathophysiologie idiopathischer Epilepsien geführt. So wurden genetische Ursachen zunächst bei seltenen monogen vererbten Syndromen aufgeklärt und positive Ergebnisse werden nun auch für die häufigen Formen der idiopathischen Epilepsien mit komplexer genetischer Disposition gefunden. Diesbezüglich erhofft man sich auch neue Aufschlüsse von genomweiten Assoziationsstudien, die derzeit durchgeführt werden.
Für die seltenen benignen familiären infantilen Anfälle (BFIS) wurden bisher Kopplungen zu verschiedenen chromosomalen Loci gefunden, ohne dass ein für diese Erkrankung verantwortliches Gen identifiziert wurde. Weitere Rekrutierungen von Familien mit dieser seltenen Erkrankung und weitere molekulargenetische Untersuchungen sind erforderlich, um dem Ziel einer Identifizierung verantwortlicher Gene näher zu kommen.

Über die genaue Analyse der klinischen Charakteristika und die Aufdeckung von Gendefekten kann die Pathophysiologie erblicher Epilepsiesyndrome bis auf die molekulare Ebene aufgeklärt und mit klinischen Daten korreliert werden. Deshalb ist zu hoffen, dass über solche Erkrankungen wie BFIS, Mechanismen der Epileptogenese verstanden werden und anschließend gezielt neuartige Antiepileptika entwickelt werden können. Das Beispiel von Retigabin geht in diese Richtung, denn die Aufklärung des Wirkmechanismus von Retigabin wurde durch die Entdeckung des Gendefektes bei benignen familiären neonatalen Krämpfen (BFNS) erst möglich. Es ist voraussehbar, dass die molekulargenetische Forschung in den nächsten Jahren einen bedeutenden Beitrag zum Verständnis der Epileptogenese und der epileptologischen Therapie leisten wird.

5. Zusammenfassung

Epilepsien gehören zu den häufigsten neurologischen Erkrankungen. Idiopathische Epilepsien sind hauptsächlich genetisch bedingt. Die bisher bekannten Ursachen sind überwiegend Mutationen in Ionenkanalgenen, wie es vor allem für die seltenen monogen vererbten idiopathischen Epilepsien in großen Familien gezeigt werden konnte. Multiple Genloci, auf denen Krankheitsgene für idiopathische Epilepsiesyndrome liegen können, wurden zudem in genomweiten Kopplungsanalysen zum einen für seltene monogene Epilepsien, aber auch für die häufigen generalisierten idiopathischen Epilepsien, in den letzten Jahren identifiziert. In der vorliegenden Arbeit sollte das Vorkommen von idiopathischen Epilepsien in zwei Schwerpunktambulanzen analysiert werden. Zudem sollten die genetischen Ursachen von einzelnen idiopathischen Epilepsien weiter erforscht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 166 Familien mit insgesamt 438 Mitgliedern und davon 226 Betroffenen mit idiopathischer Epilepsie in zwei Einrichtungen rekrutiert (Epilepsiezentrum Ulm und Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie Duisburg) und klinisch untersucht. Die Desoxyribonukleinsäure (DNA) wurde aus Blutproben von jedem rekrutierten Patienten extrahiert. Mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden bestimmte DNA-Fragmente amplifiziert. Verschiedene Elektrophoresevorgänge wurden zur Auftrennung der DNA-Fragmente herangezogen. Zur Identifizierung von Genloci wurden für zwei Familien mit benignen familiären infantilen Anfällen (BFIS) Kopplungsanalysen durchgeführt.

Idiopathische generalisierte Epilepsien (IGE) machten in dieser Studie 58% aller idiopathischen Epilepsien aus. Bei 30% der Familien mit IGE war die Familienanamnese für idiopathische Epilepsien positiv, wobei 11% der Familien als Multiplexfamilien rekrutiert wurden. Die altersabhängige Verteilung des Auftretens idiopathischer Epilepsien wurde belegt: In der Ambulanz für Erwachsene in Ulm machten die idiopathischen Epilepsien 27%, in der Neuropädiatrie in Duisburg 60% aller Epilepsien aus. Beim Vergleich mit der Literatur ergaben sich ähnliche Ergebnisse hinsichtlich der Verteilung idiopathischer, symptomatischer und kryptogener Epilepsien und deren Altersabhängigkeit mit einem Überwiegen des Auftretens von IGE im Kindesalter. Ebenso vergleichbar waren die Ergebnisse hinsichtlich des IGE-Anteils an den idiopathischen Epilepsien, sowie die Daten hinsichtlich der Verteilung der häufigen IGE. Bei Letzteren traten die juvenilen

myoklonischen Epilepsien am häufigsten auf, gefolgt von den kindlichen und juvenilen Absenceepilepsien und schließlich den weitaus weniger häufigen Epilepsien mit Aufwach-Grand-Mal. Durch die Analyse der rekrutierten Patienten mit idiopathischen Epilepsien wurde die klinische Variabilität der IGE belegt.

Die Kopplungsanalysen bei BFIS ergaben in der Familie BFIS35, die die klassischen klinischen Charakteristika für BFIS mit überwiegend generalisierten tonisch-klonischen Anfällen im ersten Lebensjahr aufwies, einen Allelverlust in der bekannten BFIS-Kandidatengenregion auf Chromosom 16, der bei signifikanter Kopplung ein Hinweis auf eine Deletion in dieser Familie sein könnte. In der Familie BFIS29 wichen die klinischen Charakteristika von den bisher beschriebenen BFIS-Familien ab, da der Beginn bei allen Mitgliedern deutlich später um den 14. Lebensmonat lag (sonst typischerweise um den 6. Lebensmonat), sehr häufig Fieberkrämpfe und auch interiktale epilepsietypische Potentiale auftraten. Eine suggestive Kopplung zu Chromosom 16 wurde auch hier gefunden, die einen Defekt im gleichen Gen, wie bei BFIS nahelegt. Weitere genetische Untersuchungen, für die in dieser Arbeit die Voraussetzungen geschaffen wurden, werden aktuell durchgeführt, um den bisher nicht bekannten Gendefekt bei BFIS zu identifizieren.

Die rekrutierten IGE Patienten flossen in verschiedene genetische Studien ein, die im Rahmen von Kooperationen in anderen Arbeitsgruppen durchgeführt wurden, und erweiterten so die genetischen Kenntnisse zu idiopathischen Epilepsien. In der Familie IGE92 wurde eine Mutation in dem Chloridkanalgen *CLCN2* und eine *de novo* heterozygote Deletion in dem Natriumkanalgen *SCN1A* identifiziert. In einer genomweiten Kopplungsanalyse mit vielen kaukasischen Familien wurden neue Loci für idiopathische generalisierte Epilepsien entdeckt. Schließlich wurde eine Mikrodeletion auf dem Chromosom 15 mit einer Frequenz von 1% bei IGE-Patienten als der bisher größte Risikofaktor bei IGE identifiziert.

6. Literaturverzeichnis

1. Annegers JF, Hauser WA, Anderson VE, Kurland LT: The risks of seizure disorders among relatives of patients with childhood onset epilepsy. Neurology. 32: 174-179 (1982)

2. Audenaert D, Claes L, Claeys KG, Deprez L, Van Dyck T, Goossens D, Del-Favero J, Van Paesschen W, Van Broeckhoven C, De Jonghe P: A novel susceptibility locus at 2p24 for generalised epilepsy with febrile seizures plus. J Med Genet. 42: 947-952 (2005)

3. Bai D, Alonso ME, Medina MT, Bailey JN, Morita R, Cordova S, Rasmussen A, Ramos-Peek J, Ochoa A, Jara A, Donnadieu FR, Cadena G, Yamakawa K, Delgado-Escueta AV: Juvenile myoclonic epilepsy: linkage to chromosome 6p12 in Mexico families. Am J Med Genet. 113: 268-274 (2002)

4. Baulac S, Huberfeld G, Gourfinkel-An I, Mitropoulou G, Beranger A, Prud'homme JF, Baulac M, Brice A, Bruzzone R, LeGuern E: First genetic evidence of GABA(A) receptor dysfunction in epilepsy: a mutation in the gamma2-subunit gene. Nat Genet. 28: 46-48 (2001)

5. Baykan B, Madia F, Bebek N, Gianotti S, Guney A I, Cine N, Bianchi A, Gokyigit A, Zara F : Autosomal recessive idiopathic epilepsy in an inbred family from Turkey: identification of a putative locus on chromosome 9q32-33. Epilepsia. 45: 479-487 (2004)

6. Bennett LB, Roach ES, Bowcock AM. A locus for paroxysmal kinesigenic dyskinesia maps to human chromosome 16. Neurology. 54: 125-130 (2000)

7. Berg AT, Levy SR, Testa FM, Shinnar S. Classification of childhood epilepsy syndromes in newly diagnosed epilepsy: interrater agreement and reasons for disagreement. Epilepsia. 40: 439-444 (1999)

8. Berg AT, Shinnar S, Hauser WA, Alemany M, Shapiro ED, Salomon ME, Crain EF. A prospective study of recurrent febrile seizures. N Engl J Med. 327: 1122-1127 (1992)

9. Berg AT, Shinnar S, Levy SR, Testa FM: Newly diagnosed epilepsy in children: presentation at diagnosis. Epilepsia. 40: 445–452 (1999)

10. Berkovic SF, Howell RA, Hay DA, Hopper JL: Epilepsies in twins: genetics of the major epilepsy syndromes. Ann Neurol. 43: 435-445 (1998)

11. Berkovic SF, Heron SE, Giordano L, Marini C, Guerrini R, Kaplan RE, Gambardella A, Steinlein OK, Grinton BE, Dean JT, Bordo L, Hodgson BL, Yamamoto T, Mulley JC, Zara F, Scheffer IE: Benign familial neonatal-infantile seizures: characterization of a new sodium channelopathy. Ann Neurol. 55: 550-557 (2004)

12. Braathen G, Theorell K: A general hospital population of childhood epilepsy. Acta Paediatr. 84: 1143-1146 (1995)

13. Callenbach PM, van den Boogerd EH, de Coo RF, ten Houten R, Oosterwijk J, Hageman G, Frants RR, Brouwer OF, van den Maagdenberg AM. Refinement of the chromosome 16 locus for benign familial infantile convulsions. Clin Genet. 67: 517-525 (2005)

14. Callenbach PM, Geerts AT, Arts WF, van Donselaar CA, Peters AC, Stroink H, Brouwer OF: Familial occurrence of epilepsy in children with newly diagnosed multiple seizures: Dutch Study of Epilepsy in Childhood. Epilepsia. 39: 331-336 (1998)

15. Caraballo R, Pavek S, Lemainque A, Gastaldi M, Echenne B, Motte J, Genton P, Cersósimo R, Humbertclaude V, Fejerman N, Monaco A, Lathrop M, Rochette J, Szepetowski P: Linkage of benign Familial Infantile Convulsions to Chromosome 16p12-q12 Suggests Allelism to the infantile Convulsions and Choreathetosis Syndrom. Am. J. Hum. Genet. 68: 788-794 (2001)

16. Chen Y, Lu J, Pan H, Zhang Y, Wu H, Xu K, Liu X, Jiang Y, Bao X, Yao Z, Ding K, Lo W H Y, Qiang B, Chan P, Shen Y, Wu X: Association between genetic variation of CACNA1H and childhood absence epilepsy. Ann Neurol. 54: 239-243 (2003)

17. Claes L, Del-Favero J, Ceulemans B, Lagae L, Van Broeckhoven C, De Jonghe P: De novo mutations in the sodium-channel gene SCN1A cause severe myoclonic epilepsy of infancy. Am J Hum Genet. 68:1327-1332 (2001)

18. Commission on Classification and Terminology of the International Leaque against Epilepsy (1981 und 1989)

19. Cossette P, Liu L, Brisebois K, Dong H, Lortie A, Vanasse M, Saint-Hilaire J-M, Carmant L, Verner A, Lu W-Y, Wang YT, Rouleau GA: Mutation of GABRA1 in an autosomal dominant form of juvenile myoclonic epilepsy. Nature Genet. 31: 184-189 (2002)

20. D'Agostino D, Bertelli M, Gallo S, Cecchin S, Albiero E, Garofalo PG, Gambardella A, St Hilaire JM, Kwiecinski H, Andermann E, Pandolfo M: Mutations and polymorphisms of the CLCN2 gene in idiopathic epilepsy. Neurology. 63: 1500-1502 (2004)

21. Deutsches Epilepsiemuseum Kork (Hrsg.): http://www.epilepsiemuseum.de. Stand: 22.05.2009

22. De Fusco M, Marconi R, Silvestri L, Atorino L, Rampoldi L, Morgante L, Ballabio A, Aridon P, Casari G: Haploinsufficiency of ATP1A2 encoding the Na+/K+ pump alpha-2 subunit associated with familial hemiplegic migraine type 2. Nature Genet. 33: 192-196 (2003)

23. Dichgans M, Freilinger T, Eckstein G, Babini E, Lorenz-Depiereux B, Biskup S, Ferrari MD, Herzog J, van den Maagdenberg AM, Pusch M, Strom TM: Mutation in the neuronal voltage-gated sodium channel SCN1A in familial hemiplegic migraine. Lancet 366: 371-377 (2005)

24. Dibbens LM, Feng HJ, Richards MC, Harkin LA, Hodgson BL, Scott D, Jenkins M, Petrou S, Sutherland GR, Scheffer IE, Berkovic SF, Macdonald RL, Mulley JC: GABRD encoding a protein for extra- or peri-synaptic GABA-A receptors is a susceptibility locus for generalized epilepsies. Hum Molec Genet. 13: 1315-1319 (2004)

25. Durá-Travé T, Yoldi-Petri ME, Gallinas-Victoriano F. Epilepsy in children in Navarre, Spain: epileptic seizure types and epileptic syndromes. J Child Neurol. 22: 823-828 (2007)

26. Durner M, Keddache MA, Tomasini L, Shinnar S, Resor SR, Cohen J, Harden C, Moshe SL, Rosenbaum D, Kang H, Ballaban-Gil K, Hertz S, Labar DR, Luciano D, Wallace S, Yohai D, Klotz I, Dicker E, Greenberg DA: Genome scan of idiopathic generalized epilepsy: evidence for major susceptibility gene and modifying genes influencing the seizure type. Ann Neurol. 49: 328-335 (2001)

27. Durner M, Zhou G, Fu D, Abreu P, Shinnar S, Resor SR, Moshe SL, Rosenbaum D, Cohen J, Harden C, Kang H, Wallace S, Luciano D, Ballaban-Gil K, Klotz I, Dicker E, Greenberg DA: Evidence for linkage of adolescent-onset idiopathic generalized epilepsies to chromosome 8 and genetic heterogeneity. Am J Hum Genet. 64: 1411-1419 (1999)

28. Dravet C: Les épilepsies graves de l'enfant. Vie Med. 8: 543-548 (1978)

29. Elmslie FV, Rees M, Williamson MP, Kerr M, Kjeldsen MJ, Pang KA, Sundqvist A, Friis ML, Chadwick D, Richens A, Covanis A, Santos M, Arzimanoglou A, Panayiotopoulos CP, Curtis D, Whitehouse WP, Gardiner RM: Genetic mapping of a major susceptibility locus for juvenile myoclonic epilepsy on chromosome 15q. Hum Molec Genet. 6: 1329-1334 (1997)

30. Engel J: A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and with epilepsy: Report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. Epilepsia. 42: 796-803 (2001)

31. EPICURE (Hrsg.): http://www.epicureproject.eu/. Stand: 22.05.2009

32. Escayg A, MacDonald BT, Meisler MH, Baulac S, Huberfeld G, An-Gourfinkel I, Brice A, LeGuern E, Moulard B, Chaigne D, Buresi C, Malafosse A: Mutations of SCN1A, encoding a neuronal sodium channel, in two families with GEFS+2. Nature Genet. 24: 343-345 (2000)

33. Euripides - 12 Tragödien, Übersetzt von Hans von Arnim, mit einer Einführung von Bernhard Zimmermann, Bibliothek der Antike / dtv / Artemis, München 1990 Euripides - Der Wahnsinn des Herakles, Elektra, Kinder des Herakles, Andromache, Die Bittflehenden Mütter, in: Griechische Tragödien, Band 5 - 8, Übersetzt von Ernst Buschor, Artemis, Zürich / München (1979)

34. Filée P, Delmarcelle M, Thamm I, Joris B. Use of an ALFexpress DNA sequencer to analyze protein-nucleic acid interactions by band shift assay. Biotechniques. 30:1044-1048, 1050-1051 (2001)

35. Fong GC, Shah PU, Gee MN, Serratosa JM, Castroviejo IP, Khan S, Ravat SH, Mani J, Huang Y, Zhao HZ, Medina MT, Treiman LJ, Pineda G, Delgado-Escueta AV: Childhood absence epilepsy with tonic-clonic seizures and electroencephalogram 3-4-Hz spike and multispike-slow wave complexes: linkage to chromosome 8q24. Am J Hum Genet. 63: 1117-1129 (1998)

36. Freitag CM, May TW, Pfäfflin M, König S, Rating D. Incidences of epilepsies and epileptic syndromes in children and adolescents: a population-based prospective study in Germany. Epilepsia. 42: 979-985 (2001)

37. Fukuyama Y. In: Borderland of childhood epilepsy, with special refenreces to febrile convulsions and so-called infantile convulsions (in Japanese). Tokyo: Seishin Igaku. 211-223 (1963)

38. Gardner K, Barmada MM, Ptacek LJ, Hoffman EP: A new locus for hemiplegic migraine maps to chromosome 1q31. Neurology. 49: 1231-1238 (1997)

39. Guerrini R, Bonanni P, Nardocci N, Parmeggiani L, Piccirilli M, De Fuso M, Aridon P, Ballabio A, Carrozzo R, Casari G: Autosomal recessive rolandic epilepsy with paroxysmal exercise-induced dystonia and writer's cramp: delineation of the syndrome and gene mapping to chromosome 16p12-11.2. Ann Neurol. 45: 344-352 (1999)

40. Guipponi M, Rivier F, Vigevano F, Beck C, Crespel A, Echenne B, Lucchini P, Senastiannelli R, Baldy-Moulinier M, Malafosse A. Linkage mapping of benign familial infantile convulsions (BFIC) to chromosom 19q. Hum Molec Genet. 6: 473-477 (1997)

41. Haug K, Warnstedt M, Alekov AK, Sander T, Ramírez A, Poser B, Maljevic S, Hebeisen S, Kubisch C, Rebstock J, Horvath S, Hallmann K, Dullinger JS, Rau B, Haverkamp F, Beyenburg S, Schulz H, Janz D, Giese B, Müller-Newen G, Propping P, Elger CE, Fahlke C, Lerche H, Heils A: Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. Nature Genet. 33: 527-532 (2003)

42. Hauser WA: Seizure disorders: the changes with age. Epilepsia. 33 (supplement 4): S6–14 (1992)

43. Hauser WA, Annegers JF, Rocca WA: Descriptive epidemiology of epilepsy: contributions of population-based studies from Rochester, Minnesota. Mayo Clin Proc. 71: 576-586 (1996)

44. Hauser RG, Hayes DL, Kallinen LM, Cannom DS, Epstein AE, Almquist AK, Song SL, Tyers GF, Vlay SC, Irwin M: Clinical experience with pacemaker pulse generators and transvenous leads: an 8-year prospective multicenter study. Heart Rhythm. 4:154-160 (2007)

45. Helbig I, Mefford HC, Sharp AJ, Guipponi M, Fichera M, Franke A, Muhle H, de Kovel C, Baker C, von Spiczak S, Kron KL, Steinich I, Kleefuss-Lie AA, Leu C, Gaus V, Schmitz B, Klein KM, Reif PS, Rosenow F, Weber Y, Lerche H, Zimprich F, Urak L, Fuchs K, Feucht M, Genton P, Thomas P, Visscher F, de Haan GJ, Møller RS, Hjalgrim H, Luciano D, Wittig M, Nothnagel M, Elger CE, Nürnberg P, Romano C, Malafosse A, Koeleman BP, Lindhout

D, Stephani U, Schreiber S, Eichler EE, Sander T: 15q13.3 microdeletions increase risk of idiopathic generalized epilepsy. Nature Genet. 41: 160-162 (2009)

46. Hempelmann A, Taylor KP, Heils A, Lorenz S, Prud'Homme JF, Nabbout R, Dulac O, Rudolf G, Zara F, Bianchi A, Robinson R, Gardiner RM, Covanis A, Lindhout D, Stephani U, Elger CE, Weber YG, Lerche H, Nürnberg P, Kron KL, Scheffer IE, Mulley JC, Berkovic SF, Sander T: Exploration of the genetic architecture of idiopathic generalized epilepsies. Epilepsia.. 47: 1682-1690 (2006)

47. Heron SE, Crossland KM, Andermann E, Phillips HA, Hall AJ, Bleasel A, Shevell M, Mercho S, Seni MH, Guiot MC, Mulley JC, Berkovic SF, Scheffer IE: Sodium-channel defects in benign familial neonatal-infantile seizures. Lancet. 360: 851-852. Erratum in: Lancet 360 (9344) (2002)

48. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature. 43: 931-945 (2004)

49. Italian League Against Epilepsy Genetic Collaborative Group: Concordance of clinical forms of epilepsy in families with several affected members. Epilepsia. 34: 819-826 (1993)

50. Jacob M, Weber YG, Lerche H: Benigne familiäre Anfälle des Neugeborenen- und Säuglingsalters. Z Epileptol. 21: 142-148 (2008)

51. Janz D: Epilepsy with grand mal on awakening and sleep-waking cycle. Clin. Neurophys. 111: 103-110 (2000)

52. Jallon P, Loiseau P, Loiseau J: Newly diagnosed unprovoked epileptic seizures: presentation at diagnosis in CAROLE study. Coordination Active du Réseau Observatoire Longitudinal de l' Epilepsie. Epilepsia. 42:464-475 (2001)

53. Johnson EW, Dubovsky J, Rich SS, O'Donovan CA, Orr HT, Anderson VE, Gil-Nagel A, Ahmann P, Dokken CG, Schneider DT, Weber JL: Evidence for a novel gene for familial febrile convulsions, FEB2, linked to chromosome 19p in an extended family from the Midwest. Hum Molec Genet. 7: 63-67 (1998)

54. Jurkat-Rott K, Freilinger T, Dreier JP, Herzog J, Göbel H, Petzold GC, Montagna P, Gasser T, Lehmann-Horn F, Dichgans M: Variability of familial hemiplegic migraine with novel A1A2 Na(+)/K(+)-ATPase variants. Neurology. 62: 1857-1861 (2004)

55. Kalachikov S, Evgrafov O, Ross B, Winawer M, Barker-Cummings C, Martinelli Boneschi F, Choi C, Morozov P, Das K, Teplitskaya E, Yu A, Cayanis E, Penchaszadeh G, Kottmann AH, Pedley TA, Hauser WA, Ottman R, Gilliam TC. Mutations in *LGI1* cause autosomal-dominant partial epilepsy with auditory features. Nature Genet. 30: 335–341 (2002)

56. Kapoor A, Ratnapriya R, Kuruttukulam G, Anand A: A novel genetic locus for juvenile myoclonic epilepsy at chromosome 5q12-q14. Hum Genet. 121: 655-662 (2007)

57. Kinirons P, Verlaan DJ, Dubé MP, Poirier J, Deacon C, Lortie A, Clément JF, Desbiens R, Carmant L, Cieuta-Walti C, Shevell M, Rouleau GA, Cossette P: A novel locus for idiopathic generalized epilepsy in French-Canadian families maps to 10p11. Am J Med Genet. 146A: 578-584 (2008)

58. Lander ES, Schork NJ: Genetic dissection of complex traits. Science. 265:2037-2048 (1994). Review: Erratum in: Science. 266: 353 (1994)

59. Lathrop GM, Lalouel JM, Julier C, Ott J.Strategies for multilocus linkage analysis in humans: Proc Natl Acad Sci U S A. 81: 3443-3446 (1984)

60. Lee WL, Tay A, Ong HT, Goh LM, Monaco AP, Szepetowski P: Association of infantile convulsions with paroxysmal dyskinesias (ICCA syndrome): confirmation of linkage to human chromosome 16p12q12 in a Chinese family. Hum Genet. 103: 608-612 (1998)

61. Leppert M, Anderson VE, Quattlebaum T, Stauffer D, O'Connell P, Nakamura Y, Lalouel J-M, White R: Benign familial neonatal convulsions linked to genetic markers on chromosome 20. Nature 337: 647–648 (1989)

62. Lerche H, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F: Ion Channels and Epilepsy. American Journal of Medical Genetics (Semin. Med. Genet.). 106: 146-159 (2001)

63. Lerche H, Mitrovic N, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F: Ionenkanalerkrankungen-Kranheitsbilder. Deutsches Ärzteblatt (Sonderdruck). 27: 1599-1604 (2000)

64. Lerche H, Weber Y, Heils A: Genetik und Pathophysiologie idiopathischer Epilepsien. Nervenheilkunde. 23: 188-196 (2004)

65. Lerche H, Weber YG, Jurkat-Rott K, Lehmann-Horn F: Ion channel defects in idiopathic epilepsies. Current Pharmaceutical Design. 11: 2737-2752 (2005)

66. Lewis TB, Leach RJ, Ward K, O'Connell P, Ryan SG: Genetic heterogeneity in benign familial neonatal convulsions: identification of a new locus on chromosome 8q. Am J Hum Genet. 53: 670–675 (1993)

67. Liu AW, Delgado-Escueta AV, Serratosa JM, Alonso ME, Medina MT, Gee MN, Cordova S, Zhao HZ, Spellman JM, Peek JR, Rubio Donnadieu F, Sparkes RS: Juvenile myoclonic epilepsy locus in chromosome 6p21.2-p11: linkage to convulsions and electroencephalography trait. Am J Hum Genet. 57: 368-381 (1995)

68. Malacarne M, Gennaro E, Madia F, Pozzi S, Vacca D, Barone B, Bernardina B, Bianchi A, Bonanni P, De Marco P, Gambardella A, Giordano L, Lispi ML, Romeo A, Santorum E, Vanadia F, Vecchi M, Veggiotti P, Vigevano F, Viri F, Bricarelli FD, Zara F: Benign Familial Infantile Convulsions: Mapping of a novel locus on chromosome 2q24 and evidence for genetic heterogeneity. Am J Hum Genet. 68: 1521-1526 (2001)

69. Maljevic S, Krampfl K, Cobilanschi J, Tilgen N, Beyer S, Weber YG, Schlesinger F, Ursu D, Melzer W, Cossette P, Bufler J, Lerche H, Heils A: A mutation in the GABA-A receptor alpha-1-subunit is associated with absence epilepsy. Ann Neurol. 59: 983-987 (2006)

70. Maljevic S, Wuttke T, Lerche H: Nervous system KV7 disorders: break down of a subthreshold brake. J Physiol. 586: 1791-1801 (2008)

71. Mantegazza M, Gambardella A, Rusconi R, Schiavon E, Annesi F, Cassulini RR, Labate A, Carrideo S, Chifari R, Canevini MP, Canger R, Franceschetti S, Annesi G, Wanke E, Quattrone A: Identification of an Nav1.1 sodium channel (SCN1A) loss-of-function mutation associated with familial simple febrile seizures. Proc Natl Acad Sci USA. 102: 18177-18182 (2005)

72. Marini C, Scheffer IE, Crossland KM, Grinton BE, Phillips FL, McMahon JM, Turner SJ, Dean JT, Kivity S, Mazarib A, Neufeld MY, Korczyn AD, Harkin LA, Dibbens LM, Wallace RH, Mulley JC, Berkovic SF: Genetic architecture of idiopathic generalized epilepsy: clinical genetic analysis of 55 multiplex families. Epilepsia. 45: 467-478 (2004)

73. Nabbout R, Prud'homme JF, Herman A, Feingold J, Brice A, Dulac O, LeGuern E: A locus for simple pure febrile seizures maps to chromosome 6q22-q24. Brain. 125: 2668-2680 (2002)

74. Nakayama J, Fu YH, Clark AM, Nakahara S, Hamano K, Iwasaki N, Matsui A, Arinami T, Ptácek LJ: A nonsense mutation of the MASS1 gene in a family with febrile and afebrile seizures. Ann Neurol. 52: 654-657 (2002)

75. Nakayama J, Yamamoto N, Hamano K, Iwasaki N, Ohta M, Nakahara S, Matsui A, Noguchi E, Arinami T: Linkage and association of febrile seizures to the IMPA2 gene on human chromosome 18. Neurology. 63: 1803-1807 (2004)

76. Neubauer BA, Fiedler B, Himmelein B, Kämpfer F, Lässker U, Schwabe G, Spanier I, Tams D, Bretscher C, Moldenhauer K, Kurlemann G, Weise S, Tedroff K, Eeg-Olofsson O, Wadelius C, Stephani U: Centrotemporal spikes in families with rolandic epilepsy: linkage to chromosome 15q14. Neurology. 51:1608-1612 (1998)

77. Oka E, Ishida S, Ohtsuka Y, Ohtahara S: Neuroepidemiological study of childhood epilepsy by application of international classification of epilepsies and epileptic syndromes (ILAE, 1989). Epilepsia. 36: 658–661 (1995)

78. Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Lamerdin JE, Mohrenweiser HW, Bulman DE, Ferrari M, Haan J, Lindhout D, van Ommen GJ, Hofker MH, Ferrari MD, Frants RR: Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca(2+) channel gene CACNL1A4. Cell. 87: 543-552 (1996)

79. Puranam RS, Jain S, Kleindienst AM, Saxena S, Kim MK, Kelly Changizi B, Padma MV, Andrews I, Elston RC, Tiwari HK, McNamara JO: A locus for generalized tonic-clonic seizure susceptibility maps to chromosome 10q25-q26. Ann Neurol. 58: 449-458 (2005)

80. Saint-Martin C, Gauvain G, Teodorescu G, Gourfinkel-An I, Fedirko E, Weber YW, Maljevic S, Ernst JP, Garcia-Olivares J, Fahlke C, Nabbout R, LeGuern E, Lerche H, Poncer JC, Depienne C: Two novel CLCN2 mutations accelerating Cl- channel deactivation are associated with idiopathic generalized epilepsy. Hum Mutat. 30: 397-405 (2009)

81. Sander T, Schulz H, Saar K, Gennaro E, Riggio MC, Bianchi A, Zara F, Luna D, Bulteau C, Kaminska A, Ville D, Cieuta C, Picard F, Prud'homme JF, Bate L, Sundquist A, Gardiner RM, Jannsen GAMAJ, de Haan GJ, Kastelenijn-Nolst-Trenité DGA, Bader A, Lindhout D, Riess O, Wienker TF, Janz D, Reis A: Genome search for susceptibility loci of common idiopathic generalised epilepsies. Hum Molec Genet. 9: 1465-1472 (2000)

82. Scalmani P, Rusconi R, Armatura E, Zara F, Avanzini G, Franceschetti S, Mantegazza M: Effects in neocortical neurons of mutations of the Na(v)1.2 Na+ channel causing benign familial neonatal-infantile seizures. J Neurosci. 26: 10100-10109 (2006)

83. Shinnar S, O'Dell C, Berg AT: Distribution of epilepsy syndromes in a cohort of children prospectively monitored from the time of their first unprovoked seizure. Epilepsia. 40: 1378-1383 (1999)

84. Siemes H, Bourgeois BFD: Genetik der Epilepsien. In: Anfälle und Epilepsien bei Kindern und Jugendlichen (Siemes H, Bourgeois BFD). 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York. S. 28-35 (2001)

85. Steinlein OK, Conrad C, Weidner B: Benign familial neonatal convulsions: always benign? Epilepsy Res. 73: 245-249 (2007)

86. Steinlein OK, Mulley JC, Propping P, Wallace RH, Phillips HA, Sutherland GR, Scheffer IE, Berkovic SF: A missense mutation in the neuronal nicotinic acetylcholine receptor alpha4 subunit is associated with autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy. Nature Genet. 11: 201-203 (1995)

87. Stogmann E, Lichtner P, Baumgartner C, Bonelli S, Assem-Hilger E, Leutmezer F, Schmied M, Hotzy C, Strom TM, Meitinger T, Zimprich F, Zimprich A: Idiopathic generalized epilepsy phenotypes associated with different EFHC1 mutations. Neurology. 67: 2029-2031 (2006)

88. Swoboda KJ, Soong B, McKenna C, Brunt ER, Litt M, Bale JF, Ashizawa T, Bennett LB, Bowcock AM, Roach ES, Gerson D, Matsuura T, Heydemann PT, Nespeca MP, Jankovic J, Leppert M, Ptácek LJ: Paroxysmal kinesigenic dyskinesia and infantile convultions: clinical and linkage studies. Neurology. 55: 224-230 (2000)

89. Szepetowski P, Rochette J, Berquin P, Piussan C, Lathrop GM, Monaco A: Familial infantile convulsions and paroxysmal choreoathetosis: A new neurological syndrome linked to the pericentromeric region of human chromosome 16. Am J Hum Genet. 61: 889-898 (1997)

90. Tomita H, Nagamitsu S, Wakui K, Fukushima Y, Yamada K, Sadamatsu M, Masui A, Konishi T, Matsuishi T, Aihara M, Shimizu K, Hashimoto K, Mineta M, Matsuhima M, Tsujita T, Saito M,Tanaka H, Tsuji S, Takagi T, Nakamuraa Y, Nanko S, Kato N, Nakane Y,

Niikawa N: Paoxysmal kinesigenic choreoathetosis locus maps to chromosome 16p11.2-q12.1. Am J Hum Genet. 65: 1688-1697 (1999)

91. Tomita H, Yamada K, Ghadami M, Ogura T, Yanai Y, Nakatomi K, Sadamatsu M, Masui A, Kato N, Niikawa N. Mapping of the wet/dry earwax locus to the pericentromeric region of chromosome 16. Lancet. 359: 2000-2002 (2002)

92. Trinka E, Baumgartner S, Unterberger I, Unterrainer J, Luef G, Haberlandt E, Bauer G: Long-term prognosis for childhood and juvenile absence epilepsy. J Neurol. 251:1235-1241 (2004)

93. Valente EM, Spacey SD, Wali GM, Bhatia KP, Dixon PH, Wood NW, Davis MB: A second paroxysmal kinesigenic choreoathetosis locus (EKD2) mapping on 16q13-q22.1 indicates a family of genes which give rise to paroxysmal disorders on human chromosome 16. Brain. 123: 2040-2045 (2000)

94. Vanmolkot KR, Kors EE, Hottenga JJ, Terwindt GM, Haan J, Hoefnagels WA, Black DF, Sandkuijl LA, Frants RR, Ferrari MD, van den Maagdenberg AM: Novel mutations in the Na+,K+-ATPase pump gene ATP1A2 associated with familial hemiplegic migraine and benign familal infantile convulsions. Ann Neurol. 54: 360-366 (2003)

95. Vigevano F, Fusco L, Di Capua M, Ricci S, Sebastianelli R, Lucchini P: Benign infantile familial convulsions. Eur J Pediatr. 151: 608-612 (1992)

96. Wallace RH, Berkovic SF, Howell RA, Sutherland GR, Mulley JC: Suggestion of a major gene for familial febrile convulsions mapping to 8q13-21. J Med Genet. 33: 308-312 (1996)

97. Wallace RH, Marini C, Petrou S, Harkin LA; Bowser DN, Panchal RG, Williams DA, Sutherland GR, Mulley JC, Scheffer IE, Berkovic SF: Mutant GABA (A) receptor gamma-2-subunit in childhood absence epilepsy and febrile seizures. Nature Genet. 28: 49-52 (2001)

98. Wallace RH, Wang DW, Singh R, Scheffer IE, George AL Jr, Phillips HA, Saar K, Reis A, Johnson EW, Sutherland GR, Berkovic SF, Mulley JC: Febrile seizures and generalized epilepsy associated with a mutation in the Na+-channel beta1 subunit gene SCN1B. Nature Genet. 19: 366-370 (1998)

99. Watanabe K, Negro T, Aso K: Benign partila epilepsy with secondarly generalized seizures in infancy. Epilepsia. 34: 635-638 (1993)

100. Watanabe K, Yamamoto N, Negoro T, Takaesu E, Aso K, Furune S, Takahashi I: Benign complex partial epilepsies in infancy. Pediatr Neurol. 3: 208-211 (1987)

101. Watanabe K, Yamamoto N, Negoro T, Takahashi I, Aso K, Maehara M: Benign infantile epilepsy with complex partial seizures. J. Clin Neurophysiol. 7: 296-300 (1990)

102. Weber YG: Genetische und pathophysiologische Untersuchungen bei idiopathischen Epilepsien und paroxysmalen Dyskinesien. Med. Habilitationsschrift, Universität Ulm (2008)

103. Weber YG, Berger A, Bebek N, Maier S, Karafyllakes S, Meyer N, Fukuyama Y, Halbach A, Hikel C, Kurlemann G, Neubauer B, Osawa M, Püst B, Rating D, Saito K, Stephani U, Tauer U, Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K, Lerche H: Benign Familial Infantil Convulsions: Linkage to Chromosome 16p12-q12 in 14 Families. Epilepsia. 45: 601-609 (2004)

104. Weber YG, Jacob M, Weber G, Lerche H: A BFIS-like syndrome with late onset and febrile seizures: Suggestive linkage to chromosome 16p11.2-16q12.1. Epilepsia. 49: 1959-1564 (2008)

105. Weber YG, Lerche H: Genetic mechanisms in idiopathic epilepsies. Dev Med Child Neurol. 50: 648-654 (2008)

106. Winawer MR, Ottman R, Hauser WA, Pedley TA: Autosomal dominant partial epilepsy with auditory features: defining the phenotype. Neurology. 54: 2173-2176 (2000)

107. Whitehouse WP, Rees M, Curtis D, Sundqvist A, Parker K, Chung E, Baralle D, Gardiner RM: Linkage analysis of idiopathic generalized epilepsy (IGE) and marker loci on chromosome 6p in families of patients with juvenile myoclonic epilepsy: no evidence for an epilepsy locus in the HLA region. Am J Hum Genet. 53: 652-662 (1993)

108. Xiong L, Labuda M, Li DS, Hudson TJ, Desbiens R, Patry G, Verret S, Langevin P, Mercho S, Seni MH, Scheffer I, Dubeau F, Berkovic SF, Andermann F, Andermann E, Pandolfo M: Mapping of a gene determining familial partial epilepsy with variable foci to chromosome 22q11-q12. Am J Hum Genet. 65: 1698-1710 (1999)

109. Xu R, Thomas EA, Jenkins M, Gazina EV, Chiu C, Heron SE, Mulley JC, Scheffer IE, Berkovic SF, Petrou S: A childhood epilepsy mutation reveals a role for developmentally regulated splicing of a sodium channel. Mol Cell Neurosci. 35: 292-301 (2007)

110. Zara F, Bianchi A, Avanzini G, Di Donato S, Castellotti B, Patel PI, Pandolfo M: Mapping of genes predisposing to idiopathic generalized epilepsy. Hum Mol Genet. 4: 1201-1207 (1995)

111. Zarrelli MM, Beghi E, Rocca WA, Hauser WA: Incidence of epilepsic symdromes in Rochester, Minnesota: 1980-1984. Epilespia. 40: 1708-1714 (1999)

7. Anhang

Der Anhang besteht aus zwei Tabellen und 7 Abbildungen.

Tabelle 15 Suszeptilitätsregionen und mutierte Gene, die für verschiedene idiopathische Epilepsiesyndrome bekannt sind (Aus: Weber/Habilitation 2008).

Erkrankung	Abkürzung	OMIM	Chr.	*Gen*	Protein
Benigne familiäre neonatale Konvulsionen	BFNS1/EBN1	121200	20q13.3	*KCNQ2*	K^+ Kanal
	BFNS2/EBN2	121201	8q24	*KCNQ3*	
Benigne familiäre neonatale/infantile Konvulsionen	BFNIS	607745	2q23-24.2	*SCN2A*	Na^+ Kanal
Benigne familiäre infantile Konvulsionen	BFIS1	601764	19q	-	-
	BFIS2	605751	16p12-q12	-	-
BFIS mit hemiplegischer Migräne	BFIS/FHM	182340	1q21-23	*ATP1A2*	Na^+/K^+ATPase
BFIS und Choreoathetose	ICCA	602066	16p12-q12	-	-
Rolando Epilepsie, PED, Schreibkrampf	EPRPDC	608105	16q12-p11.2	-	-
Rolando Epilepsie	BECTS/Rolando	117100	15q24	-	-
Generalisierte Epilepsie mit Fieberkrämpfen (FS) plus Syndrom	GEFS1	604233	19q13.1	*SCN1B*	Na^+ Kanal
	GEFS2	604233	2q24	*SCN1A*	Na^+ Kanal
	GEFS3	604233	5q31.1-33.1	*GABRG2*	GABARezeptor
	GEFS4	609800	2p24	-	
	GEFS5	604233	1p36.3	*GABRD*	GABARezeptor
Myoklonische Epilepsie des Kindesalters (Dravet)	SMEI	607208	2q24	*SCN1A*	Na^+ Kanal
Kindliche Epilepsie mit GTKA	ICEGTC	607208	2q24	*SCN1A*	Na^+ Kanal
Fieberkrämpfe (FS)	FEB1	121210	8q13-21	-	-
	FEB2	602477	19p13.3	-	-
	FEB3	604403	2q24	*SNC1A*	Na^+ Kanal
	FEB4	604352	5q14	*MASS1*	VLGR1
	FEB5	609255	6q22-24	-	-
	FEB6	609253	18p11.2	-	-
Idiopathisch generalisierte Epilepsie (IGE)	IGE1/EIG1	606970	8q24	-	-
	IGE2/EIG2	606972	14q23	-	-
	IGE3/EIG3	608762	9q32-33	-	-
	IGE4/EIG4	609750	10q25-26	-	-
	IGE5/EIG5	611934	10p11.22	-	-
	IGE6/EIG6	611942	16p13.3	*CACNA1H*	Ca^{2+} Kanal
	IGE/EIG/JAE	600570	3q26	*CLCN2*	Cl^- Kanal
Kindliche Absence Epilepsie (CAE)	ECA1	600131	8q24	-	-
	ECA2	607681	5q31.1-33.1	*GABRG2*	GABARezeptor
	ECA3	607682	3q26	*CLCN2*	Cl^- Kanal
	ECA4	611136	5q34-35	*GABRA1*	GABARezeptor
Juvenile myoclonische Epilepsie (JME)	EJM1	254770	6p12-11	*EFHC1*	Ca^{2+} Umsatz
	EJM2	604827	15q14	-	-
	EJM3	608816	6p21	-	-
	EJM4	611364	5q12-14	-	-
	EJM5	601949	2q22-23	*CACNB4*	Ca^{2+} Kanal
	EJM	137160	5q34-35	*GABRA1*	GABARezeptor
Benigne adulte familiäre myoklonische Epilepsie	BAFME1	601068	8q24	-	-
	BAFME2	607876	2p11.1-q12.2	-	-
Autosomal dominante nächtliche Frontallappenepilepsie mit auditorischen Symptomen	ADNFLE/EFNL1	600513	20q13	*CHRNA4*	Acetylcholinrezeptor
	ADNFLE/EFNL2	603204	15q24	-	
	ADNFLE/EFNL3	605375	1q21	*CHRNB2*	
	ADNFLE/EFNL4	610353	8p21	*CHRNA2*	
Laterale Temporallappenepilepsie (ADLTE)	ADPEAF	600512	10q23-26	*LGI1*	Funktion unbekannt
Familiäre partielle Epilepsie mit variablen Foci	FPEVF	604364	22q11-12	-	-
GeneralisierteEpilepsie/ paroxysmaler Dyskinesie	GEPD	609446	10q22.3	*KCNMA1*	K^+ Kanal

Fortsetzung siehe nächste Seite

Abkürzungen zur Tabelle 15: ATP = Adenosintriphosphat, Ca = Kalzium, Chr. = Chromosom, Cl^- = Chlorid, CPS = komplex partieller Anfall, GABA = gamma-aminobuttersäure, GTKA = generalisierter tonisch-klonischer Anfall, JAE = Juvenile Absencenepilepsie, K = Kalium, LGI1 = leucine-rich gene, glioma-inactivated, Na^+ = Natrium, PED = paroxysmale belastungsinduzierte Dyskinesie, VLGR1 = very large G protein-coupled receptor 1. Für weitere Referenzen siehe OMIM (www.ncbi.nlm.nih.gov).

UNIVERSITÄT ULM
Ethikkommission

HL

EINGEGANGEN

Universität Ulm • Ethikkommission • 89069 Ulm

Herrn
Prof. Dr. F. Lehmann-Horn
Abteilung Angewandte Physiologie
Albert-Einstein-Allee 11

89081 Ulm

Vorsitzender: Prof. Dr.U.B.Brückner
Sekretariat Frau A. Straub

Hausadresse:
Albert-Einstein-Allee 7 (Oberer Eselsberg)
D-89081 Ulm
Telefon: (0731) 502-2052
Telefax: (0731) 502-2036
Email: ethik-kommission@rektoramt.uni-ulm.de

Ihr Zeichen	Ihre Nachricht vom	Unser Zeichen	Durchwahl	Datum
		UBB/str	22052	20.09.1999

n/an die Mitglieder der Ethikkommission der Universität Ulm

Antrag-Nr. 60/99 – Genetische Untersuchungen zur Pathogenese von familiär gehäuft auftretenden Epilepsien –

Sehr geehrter Herr Kollege Lehmann-Horn,

am 07.06.1999 wurde Ihr o.g. Antrag direkt nach persönlicher Befragung dazu mündlich verhandelt. Mit Ihren weiteren Ergänzungen vom 02.09.1999 und Erläuterungen vom 07.09.1999 sind unsere Fragen beantwortet.
Es bestehen keine ethisch begründbaren Bedenken gegen die Durchführung der Studie.
Damit wird die Begutachtung durch die Ethikkommission der Universität Ulm mit einem positiven Votum abgeschlossen.
Entsprechend der ausschließlich beratenden Funktion der Ethikkommission betrifft dieses Votum nur die *ethische Beurteilung* der Konzeption, der vorgesehenen Methoden, der Durchführung und Überwachung des betreffenden Projektes sowie der beabsichtigten Patientenaufklärung. ***Die ärztliche und juristische Verantwortung verbleibt jedoch uneingeschränkt beim Projektleiter und seinen Mitarbeitern.***

- Wir gehen davon aus, daß die Patienten an keiner anderen Studie teilnehmen.
- Bitte geben Sie uns jede Änderung in der Protokolldurchführung an. Es muß dann geklärt werden, ob das Votum der Ethikkommission noch Gültigkeit hat.
- Über alle schwerwiegenden oder unerwarteten unerwünschten Ereignisse, die während der Studie auftreten und die Sicherheit der Studienteilnehmer oder die Durchführung der Studie beeinträchtigen könnten, muß der Vorsitzende der Ethikkommission unterrichtet werden.
- Außerdem benötigt die Ethikkommission einen Bericht nach Abschluß der Studie.

Für die Ethikkommission der Universität Ulm

Prof.Dr.med.U.B.Brückner
Vorsitzender

Mitglieder der Kommission:
Prof.Dr.med.U B.Brückner (Vorsitzender), Prof.Dr.phil.W.Gaus, Prof.Dr.rer.nat. Dr.med.A.Grünert, Pfarrer H.Herberg, Prof.Dr.med.P.Kern, Prof.Dr.med.B.Kubanek, Dr.jur.H.-D.Lippert, Frau PD Dr.med.H.Wiedeck

Abbildung 12 Begutachtung der Studie „Genetische Untersuchungen zur Pathogenese von familiär gehäuft auftretenden Epilspien“ durch die Ethikkommission der Universität Ulm mit einem positiven Votum.

Universitätsklinikum Ulm

Poliklinik für Neurologie
Ärztlicher Direktor:
Prof. Dr. A.C. Ludolph

Universitätsklinikum Ulm – Poliklinik für Neurologie, D- 89075 Ulm

Steinhövelstraße 9
89075 Ulm
Tel. (07 31) 5002 -7970, Fax: -7979
RKU, Oberer Eselsberg 45
89081 Ulm
Tel. (07 31) 177-1200, Fax (07 31) 177-1202
e-mail: Albert.Ludolph@medizin.uni-ulm.de
e-mail: albert.ludolph@rku.de

05.05.09

EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG ZUR STUDIE

Genetische Untersuchungen zur Pathogenese von familiär gehäuft auftretenden Epilepsien

Inhalt, Vorgehensweise, Risiken und Ziel des obengenannten Forschungsprojektes hat mir die Ärztin/ der Arzt Dr. _____ ausreichend erklärt. Ich hatte Gelegenheit Fragen zu stellen und habe hierauf Antwort erhalten. Ich hatte ausreichend Zeit, mich für oder gegen die Teilnahme am Projekt zu entscheiden.

Eine Kopie der Patienteninformation habe ich erhalten.

Ich willige in die Teilnahme am Forschungsprojekt ein.

Ich möchte über die Ergebnisse der Studie ☐ informiert / ☐ nicht informiert werden.
(zutreffendes bitte ankreuzen)

……
Name des Patienten

……. ……
Ort, Datum Unterschrift des Patienten
bzw. des gesetzlichen Vertreters

Mit der edv-mäßigen Bearbeitung der bei mir bzw. meines Kindes im Rahmen des obengenannten Forschungsprojektes erhobenen Daten bin ich einverstanden.

……. ……
Ort, Datum Unterschrift des Patienten
bzw. des gesetzlichen Vertreters

Abbildung 13 Einwilligungserklärung zur Studie, die jeder Patient für die Teilnahme an der Studie für sich und/oder für minderjährige Kinder ausfüllen und unterschreiben musste.

Universitätsklinikum Ulm

Universitätsklinikum Ulm – Poliklinik für Neurologie, D- 89075 Ulm

Poliklinik für Neurologie
Ärztlicher Direktor:
Prof. Dr. A.C. Ludolph

Steinhövelstraße 9
89075 Ulm
Tel. (07 31) 5002-7970, Fax: -7979
RKU, Oberer Eselsberg 45
89081 Ulm
Tel. (07 31) 177-1200, Fax (07 31) 177-1202
e-mail: Albert.Ludolph@medizin.uni-ulm.de
e-mail: albert.ludolph@rku.de

ÜBEREIGNUNGSVERTRAG ZUR STUDIE

Genetische Untersuchungen zur Pathogenese von familiär gehäuft auftretenden Epilepsien

Zwischen der **Universität Ulm,** handelnd für die Abteilungen Angewandte Physiologie, Neurologie, die Kinderklinik und das Sozialpädiatarische Zentrum der Kinderklinik, vertreten durch Herrn PD Dr. Holger Lerche

und Frau/Herrn_____

wird folgendes vereinbart:

1. Frau/Herr_____
   wird der Universität Ulm das Eigentum an folgendem Körpermaterial unentgeltlich übertragen: Blut.

2. Die Universität wird das Körpermaterial zu wissenschaftlichen Zwecken, d. h. für molekulargenetische Untersuchungen verwenden.

Das Material wird nur anonym weitergereicht und anschliessend vernichtet.

.....
Ort, Datum

.....
Unterschrift des Arztes

.....
Unterschrift des Patienten
bzw. des gesetzlichen Vertreters

Abbildung 14 Übereigungsvertrag zur Studie, den jeder Patient für sich und/oder sein(e) minderjährigen Kind(er) für die Teilnahme an der Studie unterschreiben musste.

Name:_____ **Vorname:**_____ **Geburtsdatum:**_____

Familiencode:_____ **Individual ID:**_____

1. Diagnose:_____

2. Fieberkrämpfe? Ja/nein **Beginn/Ende:** _____

Semiologie:
_____

_____

3. Erster Anfall:_____ **Letzter Anfall:**_____

4. Semiologie:

Semiologie 1:_____

Semiologie 2:_____

Semiologie 3:_____

5. Anfallsklassifikation:

Anfälle	Bitte ankreuzen	Häufigkeit
Somatosensorische Aura		
Epigastrische Aura		
Auditive/Visuelle Aura		
Unspezifische Aura		
Absencen		
Komplex-fokale Anfälle		
Psychomotorische Anfälle		
Astatische Anfälle		
Myoklonien		
Einfach-fokal		
GTCA		

6. Bildgebung (Datum/Ergebnis):_____

7. EEG:_____

8. Geburt und psychomotorische Entwicklung: _____

9. Sonstige Symptome? (z.B. Dystonie, Migräne) _____

10. Medikamentenanamnese:

Med.	Nebenwirkungen	Wirkungslosigkeit	Max. Wirkspiegel	Max. Dosis
CBZ				
VPA				
LTG				
TPM				
OXC				
LEV				
Pb				
PHT				

11. Hausarzt, sonstige behandelnde Ärzte

12. Bemerkungen

Abbildung 15 Studienanamnesebogen, anhand dessen die klinischen Informationen zu jedem rekrutierten Patienten festgehalten wurden.

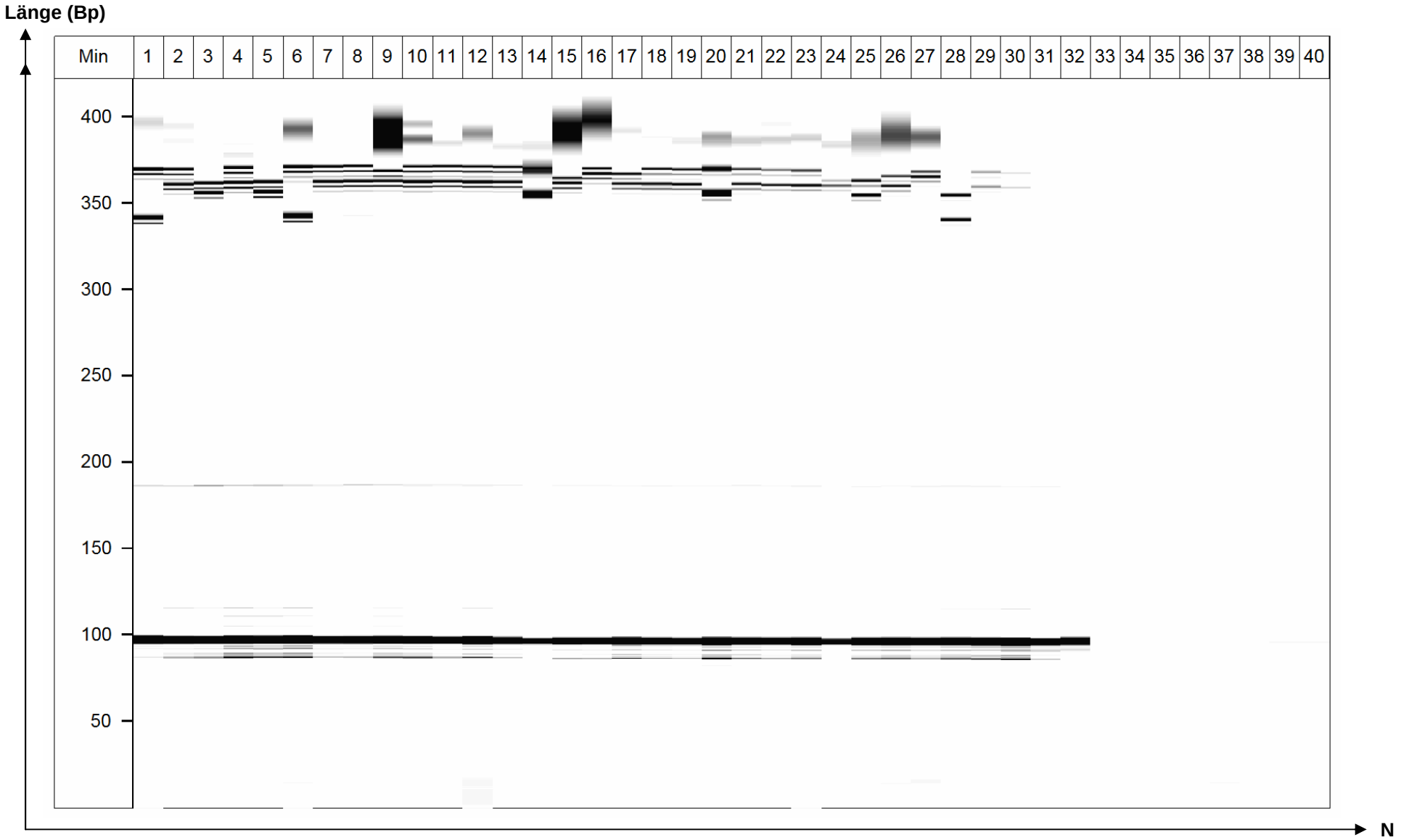


Abbildung 16 Darstellung eines Polyacrylamidgels: Kopplungsanalyse der Familie BFIS35 für den Marker D16S411; Computer-Programm: AlleliX (international test release V2 00.25. Abszisse: N=Nummerierung der gefüllten Geltaschen; Ordinate: Länge der DNA-Fragmente in Basenpaaren (bp). DNA=Desoxyribonukleinsäure

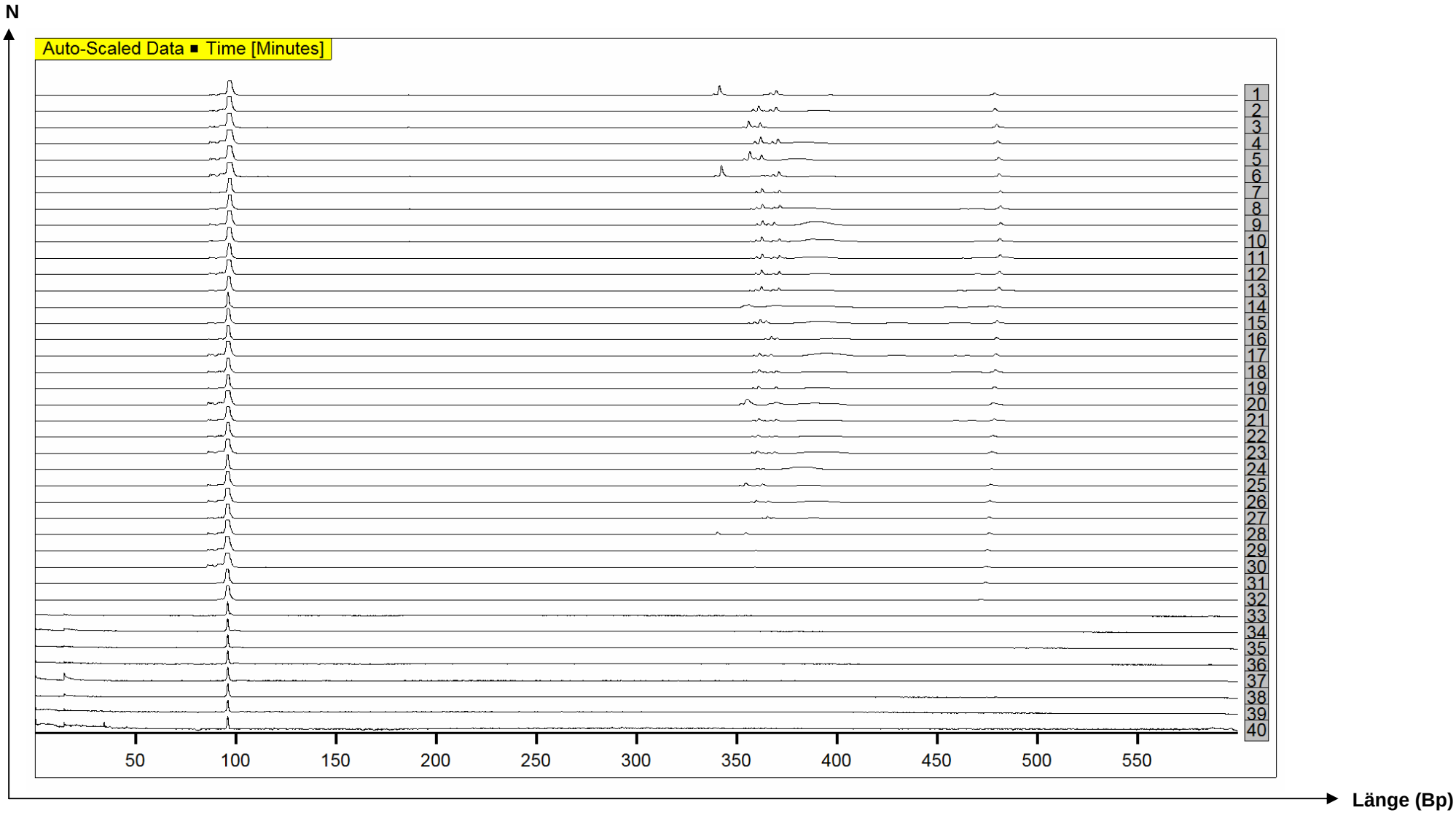


Abbildung 17 Darstellung eines Polyacrylamidgels: Kopplungsanalyse der Familie BFIS35 für den Marker D16S411; Computer-Programm: AlleliX (international test release V2 00.25. Abszisse: Länge der DNA-Fragmente in Basenpaaren (bp); Ordinate: N=Nummerierung der gefüllten Geltaschen. DNA=Desoxyribonukleinsäure

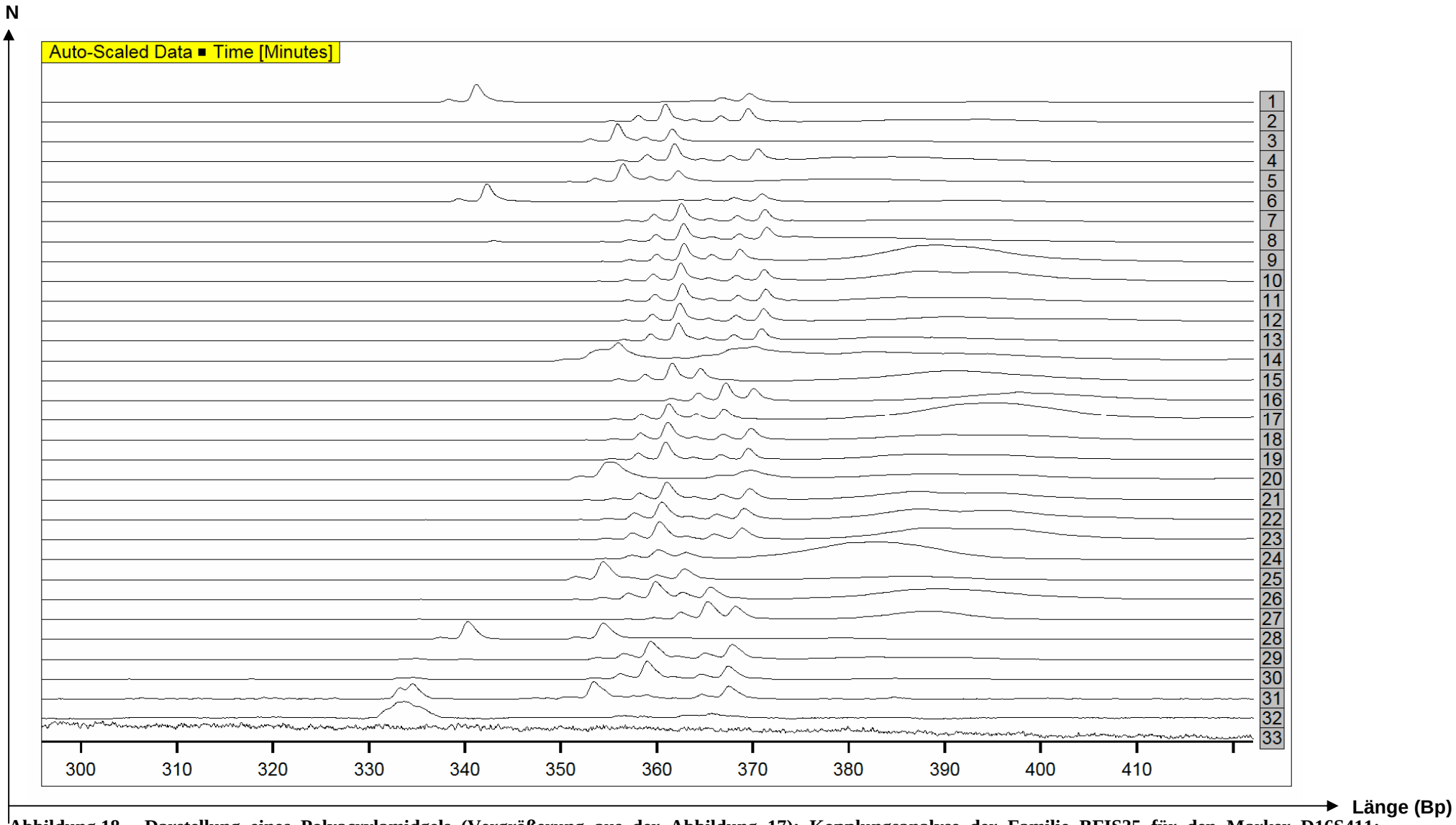


Abbildung 18 Darstellung eines Polyacrylamidgels (Vergrößerung aus der Abbildung 17): Kopplungsanalyse der Familie BFIS35 für den Marker D16S411; Computer-Programm: AlleliX (international test release V2 00.25. Abszisse: Länge der DNA-Fragmente in Basenpaaren (bp); Ordinate: N=Nummerierung der gefüllten Geltaschen. DNA=Desoxyribonukleinsäure

Tabelle 16 Ergebnisse eine Pubmed-Recherche über Familien mit klinisch benignen familiären infantilen Anfällen (BFIS). (Aus: Weber et al. 2008)

Genetisch waren diese Familien (i) zu Chromosom 19 (7) oder zu Chromosom 16 (20) gekoppelt, (ii) mit Mutationen in ATP1A2 (17) oder SCN2A (22,14) assoziiert, oder (iii) Kopplungen waren nicht erfolgt (restliche Refenrenzen). Nur 2,2% der beschriebenen Patienten (496 BFIS-Fälle in 123 Familien) zeigte ein Beginn der Anfälle nach 12 Lebensmonaten. Alle diese waren einzelne Patienten in Familien in denen bei den anderen Betroffenen die Anfälle unter 12 Lebensmonaten begonnen hatten. Es wurde bisher keine Familie beschrieben, in welcher die Familienmitglieder einheitlich einen späten Beginn der Anfälle hatten.Zusätzlich zu den familiären Fällen wurden 22 sporadische Patienten mit infantilen Anfällen und spätem Beginn beschrieben (18, 19).

Publikation	# Familien	Beginn (in Monaten)		# Patienten mit Beginn (in Monaten)	
		< 12	> 12	< 12	> 12
1. Watanabe et al. 1987	5	3-8	20	13	1
2. Vigevano et al. 1992	5	4-7	-	18	0
3. Malafosse et al. 1994	8	4-7	-	52	0
4. Hauser et al. 1994	2	5-7	-	15	0
5. Kurlemann et al. 1995	1	6	-	7	0
6. Berger et al. 1997	4	1-6	15-20	15	2
7. Guipponi et al. 1997	5	3-12	-	25	0
8. Terwindt et al. 1997	1	2-5	-	6	0
9. Gennaro et al. 1999	7	4-11	-	unbekannt	0
10. Gautier et al. 1999	14	1-11	-	34	0
11. Echenne et al. 1999	1	4	-	3	0
12. Giordano et al. 1999	1	3-4	-	18	0
13. Baralle et al. 2000	1	4-6	-	4	0
14. Heron et al. 2002	2	1-9	-	13	0
15. Callenbach et al. 2002	7	2-9	14	51	1
16. Carballo et al. 2002	19	3-9	23	24	1
17. Vanmolkot et al. 2003	1	2-9	-	2	0
18. Franzoni et al. 2005	17	< 12	> 12		
familial				13	4
non-familial				(23)	(18)
19. Kaleyias et al. 2006	4	1-12	13-20		
familial				16	0
non-familial				(0)	(4)
20. Striano et al. 2006	16	3-9	-	69	0
21. Okumura et al. 2006	unbekannt	3-12	-	33	0
22. Herlenius et al. 2007	2	2-6	13	20	1
Total familal	123	1-12	13-20	451	10 (2.2%)
Total non-familial				(23)	(22)

= Anzahl

Literaturverzeichnis der Tabelle 16:

2. Watanabe K, Yamamoto N, Negoro T, Takaesu E, Aso K, Furune S, Takahashi I. Benign complex partial epilepsies in infancy. *Pediatr Neurol* 1987;3:208-11
3. Vigevano F, Fusco L, Di Capua M, Ricci S, Sebastianelli R, Lucchini P. Benign infantile familial convulsions. *Eur J Pediatr* 1992;151:608-12.
4. Malafosse A, Beck C, Bellet H, Di Capua M, Dulac O, Echenne B, Fusco L, Lucchini P, Ricci S, Sebastianelli R, et al. Benign infantile familial convulsions are not an allelic form of the benign familial neonatal convulsions gene. *Ann Neurol* 1994;35:479-82.
5. Hauser E, Seidl R, Tenner W, Bernert G, Lischka A. Benign infantile familial convulsions. *Eur J Pediatr* 1995;154:499-500.
6. Kurlemann G, Vossschulte P, Weglage J, Palm DG. Atosomal dominant cerebral seizures in the 6th month of life with benign outcome. Klein Pediatr 1995;207:17-8.
7. Berger A, Diener W, Stephani E, Schächtele M, Rating D. Benigne frühkindliche Partialepilepsie nach Watanabe. *Epilepsie-Blätter* 1997;10:76-81.
8. Guipponi M, Rivier F, Vigevano F, Beck C, Crespel A, Echenne B, Lucchini P, Senastiannelli R, Baldy-Moulinier M, Malafosse A . Linkage mapping of benign familial infantile convulsions (BFIC) to chromosome 19q. *Hum Mol Genet* 1997;6:473-477.
9. Terwindt GM, Ophoff RA, Lindhout D, Haan J, Halley DJ, Sandkuijl LA, Brouwer OF, Frants RR, Ferrari MD. Partial cosegregation of familial hemiplegic migraine and a benign familial infantile epileptic syndrome. *Epilepsia* 1997;38:915-21.
10. Gennaro E, Malacarne M, Carbone I, Riggio MC, Bianchi A, Bonanni P, Boniver C, Dalla Bernardina B, De Marco P, Giordano L, Guerrini R, Santorum E, Sebastianelli R, Vecchi M, Veggiotti P, Vigevano F, Bricarelli FD, Zara F. No evidence of a major locus for benign familial infantile convulsions on chromosome 19q12-q13.1. *Epilepsia* 1999 ;40:1799-803.
11. Gautier A, Pouplard F, Bednarek N, Motte J, Berquin P, Billard C, Boidein F, Boulloche J, Dulac O, Echenne B, Humbertclaude V. Benign infantile convulsions. French collaborative study. *Arch Pediatr* 1999;6:32-9.
12. Echenne B, Rivier F, Humbertclaude V, Roubertie A, Cheminal R, Malafosse A. Benign familial infantile convulsions. *Arch Pediatr* 1999 ;6:54-8.
13. Giordano L, Accorsi P, Valseriati D, Tiberti A, Menegati E, Zara F, Vignoli A, Vigevano F. Benign infantile familial convulsions: natural history of a case and clinical characteristics of a large Italian family. *Neuropediatrics* 1999;30:99-101.
14. Baralle D, Dearlove AM, Beach R, Ffrench-Constant C, Reid E. Benign familial infantile convulsions: report of a UK family and confirmation of genetic heterogeneity. J Med Genet 2000;37:E31.
15. Heron SE, Crossland KM, Andermann E, Phillips HA, Hall AJ, Bleasel A, Shevell M, Mercho S, Seni MH, Guiot MC, Mulley JC, Berkovic SF, Scheffer IE . Sodium-channel defects in benign familial neonatal-infantile seizures. *Lancet* 2002;360:851-852.
16. Callenbach PM, de Coo RF, Vein AA, Arts WF, Oosterwijk J, Hageman G, ten Houten R, Terwindt GM, Lindhout D, Frants RR, Brouwer OF. Benign familial infantile convulsions: a clinical study of seven Dutch families. *J Pediatr Neurol* 2002;6:269-83.
17. Caraballo RH, Cersosimo RO, Amartino H, Szepetowski P, Fejerman N. Benign familial infantile seizures: further delineation of the syndrome. *J Child Neurol* 2002;17:696-699.
18. Vanmolkot KRJ, Kors EE, Hottenga JJ, Terwindt GM, Haan J, Hoefnagels WA, Black DF, Sandkuijl LA, Frants RR, Ferrari MD, van den Maagdenberg AM . Novel mutations in the Na+,K+-ATPase pump gene ATP1A2 associated with familial hemiplegic migraine and benign familal infantile convulsions. *Ann Neurol* 2003;54:360-366.
19. Franzoni E, Bracceschi R, Colonnelli MC, Errani A, Ucchino V, Malaspina E, Moscano F, Cecconi I, Tzolas V, Marchiani V. Clinical features of benign infantile convulsions: familial and sporadic cases. *Neurology* 2005;65:1098-100.
20. Kaleyias J, Khurana DS, Valencia I, Legido A, Kothare SV. Benign partial epilepsy in infancy: myth or reality? *Epilepsia* 2006;47:1043-9.
21. Striano P, Lispi ML, Gennaro E, Madia F, Traverso M, Bordo L, Aridon P, Boneschi FM, Barone B, dalla Bernardina B, Bianchi A, Capovilla G, De Marco P, Dulac O, Gaggero R, Gambardella A, Nabbout R, Prud'homme JF, Day R, Vanadia F, Vecchi M, Veggiotti P, Vigevano F, Viri M, Minetti C, Zara F. Linkage analysis and disease models in benign familial infantile seizures: a study of 16 families. *Epilepsia* 2006;47:1029-34.
22. Okumura A, Watanabe K, Negoro T, Hayakawa F, Kato T, Natsume J. The clinical characterizations of benign partial epilepsy in infancy. Neuropediatrics 2006;37:359-63.
23. Herlenius E, Heron SE, Grinton BE, Keay D, Scheffer IE, Mulley JC, Berkovic SF. SCN2A mutations and benign familial neonatal-infantile seizures: the phenotypic spectrum. *Epilepsia* 2007;48:1138-42.

8. Danksagung

Mein besonderer Dank geht an Herrn Professor Dr. Holger Lerche für die Anregung zu dieser Arbeit, die ich in der Abteilung Neurologie der Universität Ulm durchführen konnte. Es hat mir viel bedeutet, dank seiner Unterstützung Teile meiner Arbeit in wissenschaftlichen Zeitschriften publizieren und auf einem Kongress vorstellen zu können.

Frau PD Dr. Yvonne Weber danke ich für die sehr gute kontinuierliche Betreuung und dafür, dass sie mich immer mit professionnellem Rat und Anregungen unterstützt hat, sowohl in meinen Tätigkeiten im Labor, als auch während der Rekrutierung der Patienten und der Verarbeitung der Patientendaten. Ich möchte auch die vielen hundert Kilometer erwähnen, die sie mit mir gefahren ist, um Patienten aufzusuchen.

Herrn Professor Dr. Holger Lerche und PD Dr. Karin Jurkat-Rott danke ich für die Durchsicht und Begutachtung dieser Arbeit.

Für seine gute Anleitung und Zusammenarbeit bei den Laborarbeiten bin ich Herrn Achim Riecker dankbar.

Allen wissenschaftlichen Mitarbeitern der Abteilung Neurologie und angewandte Physiologie der Universität Ulm danke ich für die Unterstützung bei den Laborarbeiten und für viele wertvolle Diskussionen.

Mein Dank geht auch an Frau Dr. Gabriele Weber aus der Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Neuropädiatrie/Epileptologie in Duisburg, mit deren Hilfe ich den Kontakt zu den Patienten ihrer Abteilung herstellen konnte.

Meine Eltern Susanne und Jörn Jacob, meine Großeltern Eva und Herbert Kraatz sowie Gundel und Ulrich Jacob, Pierre und meine Brüder David und Mathis sowie meine Freunde haben mir immer zur Seite gestanden.

9. Lebenslauf

Miriam Jacob

Geboren am 18.03.1984 in Braunschweig

Schul- und Hochschulausbildung:

2007-2008	Praktisches Jahr 1. Tertial Wahlfach Pädiatrie Universitätsklinik Ulm 2. Tertial Innere Medizin Universitätsklinik Ulm 3. Tertial Chirurgie Hôpital Cochin, Paris, Frankreich
Seit April 2005	Doktorandin in der Abteilung für Neurologie der Universität Ulm
2004 – 2008	Klinischer Abschnitt des Humanmedizinstudiums an der Universität Ulm
2002 - 2004	Vorklinischer Abschnitt des Humanmedizinstudiums an der Universität Ulm und Erlangung der Ärztlichen Vorprüfung (Physikum) mit der Note „gut“ (2,0)
Juni 2002	Erlangung der französischen Hochschulreife - Baccalauréat - mit naturwissenschaftlichem Schwerpunkt und den Spezialgebieten Physik und Chemie, in Grenoble / Frankreich, mit der Note „gut“ (1,6)
1987 - 2002	Schulzeit in Frankreich

Veröffentlichungen:

Jacob M, Weber YG, Weber G und Lerche H. Erweiterung des Altersspektrums benigner Säuglingsanfälle (BFIC) jenseits des ersten Lebensjahres mit Kopplung zu Chromosom 16q12.1. Congrès de la Ligue Française & de la Ligue Allemande contre l'Epilepsie. 4–6 Mai 2006, Strasbourg, France

Weber YG, Jacob M, Weber G, Lerche H: A BFIS-like syndrome with late onset and febrile seizures: Suggestive linkage to chromosome 16p11.2-16q12.1. Epilepsia. 49: 1959-1564 (2008)

Jacob M, Weber YG, Lerche H: Benigne familiäre Anfälle des Neugeborenen- und Säuglingsalters. Z Epileptol. 21: 142-148 (2008)