

Aus der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin II
(Kommissarischer Direktor: PD Dr. med. Andreas van Baalen)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

EPILEPSIEVERLÄUFE BEI
NEUROKUTANEN SYNDROMEN
UNTER BERÜCKSICHTIGUNG VON
PHÄNOTYP- UND GENOTYP-KORRELATION

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

vorgelegt von
ANNIKA VERENA RADEMACHER
aus Geislingen an der Steige

Kiel (2019)

1. Berichterstatterin: PD Dr. med. Hiltrud Muhle
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Gunnar Wasner

Tag der mündlichen Prüfung: 18.06.2020

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 16.12.2019

gez.: PD Dr. med. Sarah von Spiczak Brzezinski

(Vorsitzende der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	I
2	Tabellenverzeichnis	IV
3	Abbildungsverzeichnis	V
4	Einleitung	1
4.1	Neurokutane Syndrome	1
4.2	Neurofibromatose Typ 1 (NF1)	2
4.2.1	Epidemiologie und Diagnosestellung	2
4.2.2	Genetischer Hintergrund	3
4.2.3	Epilepsie	4
4.2.3.1	Anfallsformen	4
4.2.3.2	Mechanismen der Epilepsieentstehung bei NF1	5
4.2.3.3	Mechanismen der Entstehung Infantiler Spasmen (IS) bei NF1	6
4.2.3.4	Therapie	7
4.2.4	Epilepsie und Genetik als prognostische Faktoren für Entwicklung und Verlauf	7
4.2.4.1	Genetik und Entwicklung	7
4.2.4.2	Epilepsie und Entwicklung	8
4.3	Tuberöse Sklerose Complex (TSC)	8
4.3.1	Epidemiologie und Diagnosestellung	8
4.3.2	Genetischer Hintergrund	11
4.3.3	Epilepsie	13
4.3.3.1	Anfallsformen	13
4.3.3.2	Mechanismen der Epilepsieentstehung beim TSC	14
4.3.3.3	Therapie	15
4.3.4	Epilepsie und Genetik als prognostische Faktoren für Entwicklung und Verlauf	16
4.4	Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit	18
5	Methoden	20

5.1	Patientenkollektiv.....	20
5.1.1	Beschreibung des NF1-Kollektivs.....	20
5.1.2	Beschreibung des TSC-Kollektivs.....	21
5.2	Studienablauf	22
5.3	Datenerfassung.....	22
5.3.1	Fragebogen	22
5.3.2	Erfassung der Diagnosekriterien	23
5.3.3	Erfassung der epilepsiebezogenen Merkmale	23
5.3.4	Erfassung der genetischen Befunde.....	25
5.3.4.1	Trio Whole Exome Sequencing	25
5.3.5	Funktionelle Studien.....	26
5.3.6	Erfassung der Entwicklungs- und Verhaltensvariablen.....	27
5.4	Statistische Auswertungsverfahren	27
6	Ergebnisse	28
6.1	Vorbereitende Prüfung der Daten	28
6.1.1.1	Überprüfung auf fehlende Werte und die Notwendigkeit von Kontrollvariablen beim NF1-Kollektiv	28
6.1.1.2	Überprüfung auf fehlende Werte und die Notwendigkeit von Kontrollvariablen beim TSC-Kollektiv.....	29
6.2	Ergebnisse bei Neurofibromatose Typ 1 (NF1).....	29
6.2.1	Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien	29
6.2.2	Analyse epileptischer Anfälle bei NF1.....	31
6.2.2.1	Prävalenz und Erstmanifestation.....	31
6.2.2.2	Anfallsformen und Epilepsieklassifikation.....	32
6.2.2.3	Bildgebung im Hinblick auf Epilepsie.....	33
6.2.2.4	Therapieansprechen	34
6.2.2.5	West-Syndrom	35
6.2.3	Genetische Befunde des <i>NF1</i> -Gens	35

6.2.4	Analyse des Entwicklungsstandes	39
6.2.5	Zusammenhang von Epilepsie und Genetik bei NF1	42
6.2.5.1	Trio Whole Exome Sequencing bei Infantilen Spasmen und NF1	43
6.2.5.2	Funktionelle Studien mit <i>KCNC2</i>	47
6.2.6	Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung bei NF1	48
6.2.6.1	Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten	48
6.2.6.2	Vergleich der Entwicklung bei NF1 mit und ohne Infantile Spasmen	50
6.3	Ergebnisse beim Tuberöse Sklerose Complex (TSC).....	51
6.3.1	Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien	51
6.3.2	Analyse epileptischer Anfälle beim TSC	52
6.3.2.1	Prävalenz und Erstmanifestation.....	52
6.3.2.2	Anfallsformen und Epilepsieklassifikation.....	53
6.3.2.3	Bildgebung im Hinblick auf Epilepsie.....	54
6.3.2.4	Therapieansprechen	54
6.3.2.5	West-Syndrom	57
6.3.3	Genetische Befunde des <i>TSC1</i> - und <i>TSC2</i> -Gens.....	57
6.3.4	Analyse des Entwicklungsstandes	62
6.3.5	Zusammenhang von Epilepsie und Genetik beim TSC.....	64
6.3.5.1	Vergleich von familiärem TSC mit sporadischem TSC	64
6.3.5.2	Vergleich familiäre Epilepsie mit sporadischer Epilepsie	65
6.3.5.3	Vergleich <i>TSC1</i> - mit <i>TSC2</i> -Mutationen.....	66
6.3.5.4	Vergleich unterschiedlicher <i>TSC2</i> -Mutationstypen.....	66
6.3.5.5	Vergleich genetischer Faktoren beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen	67
6.3.6	Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung beim TSC.....	67
6.3.6.1	Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten	67
6.3.6.2	Vergleich der Entwicklung von anfallsfreien und nicht anfallsfreien Patienten ...	67
6.3.6.3	Vergleich der Entwicklung beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen.....	68

7	Diskussion.....	69
7.1	Neurofibromatose Typ 1 (NF1)	69
7.1.1	Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien	69
7.1.2	Epilepsien bei NF1	70
7.1.2.1	West-Syndrom bei NF1	72
7.1.3	Genetische Befunde des <i>NF1</i> -Gens.....	73
7.1.4	Entwicklung bei NF1	73
7.1.5	Zusammenhang von Epilepsie und Genetik bei NF1	75
7.1.5.1	Trio Whole Exome Sequencing bei IS und NF1	76
7.1.6	Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung bei NF1	79
7.1.6.1	Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten	79
7.1.6.2	Vergleich der Entwicklung bei NF1 mit und ohne Infantile Spasmen	80
7.2	Tuberöse Sklerose Complex (TSC)	81
7.2.1	Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien	81
7.2.2	Epilepsien beim TSC	81
7.2.3	Genetische Befunde des <i>TSC1</i> - und <i>TSC2</i> -Gens.....	84
7.2.4	Entwicklung beim TSC	84
7.2.5	Zusammenhang von Epilepsie und Genetik beim TSC.....	86
7.2.5.1	Vergleich von familiärem mit sporadischem TSC bezüglich Epilepsie	86
7.2.5.2	Vergleich familiäre Epilepsie mit sporadischer Epilepsie	86
7.2.5.3	Vergleich <i>TSC1</i> - mit <i>TSC2</i> -Mutationen.....	87
7.2.5.4	Vergleich unterschiedlicher <i>TSC2</i> -Mutationen.....	87
7.2.5.5	Vergleich genetischer Faktoren beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen	88
7.2.6	Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung beim TSC	89
7.2.6.1	Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten	89
7.2.6.2	Vergleich der Entwicklung von anfallsfreien und nicht anfallsfreien Patienten ...	89
7.2.6.3	Vergleich der Entwicklung beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen.....	91

8	Zusammenfassung.....	91
9	Literaturverzeichnis	93
10	Anhänge	109
10.1	Anhang A: Tabellen	109
10.2	Anhang B: Abbildungen	123
10.3	Anhang C: Fragebögen	125
11	Danksagung.....	137
12	Lebenslauf und Publikationen.....	138

1 Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocortikotropes Hormon
Array-CGH	array-basierte Comparative Genom-Hybridisierung
ARX	Aristaless-Related Homeobox
BNS	Blitz-Nick-Salaam
bzw.	beziehungsweise
CADD	Combined Annotation Dependent Depletion
CDKL5	Cyclin-Dependent Kinase-Like 5
CT	Computertomographie
dbSNP	Single Nucleotide Polymorphism Database
d.h.	das heißt
EEG	Elektroenzephalogramm
ES	Epileptische Spasmen
ExAC	Exome Aggregation Consortium
ESP	Exome Sequencing Project
GABA	γ -Aminobuttersäure
GGE	Genetisch Generalisierte Epilepsie
ggf.	gegebenenfalls
GRIN2A	Glutamate Ionotropic Receptor NMDA type subunit 2A
GTKA	Generalisiert tonisch-klonischer Anfall
GTPase	Guanosintriphosphat-bindendes Protein
IGE	Idiopathisch Generalisierte Epilepsie
ILAE	International League Against Epilepsy
IBM	International Business Machines Corporation
IQ	Intelligenzquotient
IS	Infantile Spasmen

JME	Juvenile Myoklonische Epilepsie
LAM	Lymphangiomeleiomyomatose
LGS	Lennox-Gastaut-Syndrom
MRT	Magnetresonanztomographie
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
NF1	Neurofibromatose Typ 1
NGS	Next Generation Sequencing
NIH	National Institute of Health
Pat.	Patient
PPH	PolyPhen
RVIS	Residual Variation Intolerance Score
SEGA	Subependymales Riesenzellastrozytom
SGB	Sozialgesetzbuch
SIFT	Sorting Intolerant From Tolerant
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
ST3GAL3	ST3 beta-Galactoside alpha-2,3-Sialyltransferase 3
STXBP1	Syntaxin-Binding Protein 1
TAND	TSC-assozierte neuropsychiatrische Störungen, Englisch: TSC-Associated Neuropsychiatric Disorders
TPM	Transcripts Per Million
TS	Tuberöse Sklerose
TSC	Tuberöse Sklerose Complex
u.a.	unter anderem
UBO	Unidentified Bright Object
vgl.	vergleiche
VNS	Vagusnervstimulation

vs.	versus
WS	West-Syndrom
ZNS	Zentrales Nervensystem
z. T.	zum Teil

2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Diagnosekriterien nach Empfehlung der NIH für NF1, 1988. Die Diagnose kann gestellt werden, wenn zwei oder mehr Kriterien erfüllt sind.	2
Tabelle 2: Aktuell überarbeitete klinische und genetische Diagnosekriterien der Konsensuskonferenz von 2012 für den TSC (Serra et al. 2013; Northrup et al. 2013).	10
Tabelle 3: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der International League Against Epilepsy (ILAE) 2010.	24
Tabelle 4: Überblick über den Förderschwerpunkt und die Fördermaßnahmen der sieben Patienten auf der Regelschule mit sonderpädagogischem Förderbedarf.	39
Tabelle 5: Auswahl potentieller epilepsierelevanter Gene der Exomsequenzierung von Trio 3 mit Angabe ihrer Funktion und medizinischen Relevanz sowie Stärke der intrazerebralen Expression.	46
Tabelle 6: Nachgewiesene Varianten in den potentiell epilepsierelevanten Genen der Exomsequenzierung von Trio 3.	47
Tabelle 7: Angaben unterschiedlicher Vorhersageprogramme bezüglich der Pathogenität der nachgewiesenen Varianten in den vier potentiell relevanten Genen von Trio 3.	47
Tabelle 8: Vergleich zwischen NF1 mit Epilepsie und NF1 ohne Epilepsie bezüglich der Schulform mit Beachtung des Vorliegens von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf (FB).	49
Tabelle 9: Anfallshäufigkeit der TSC-Patienten pro Monat bei Beobachtungsende, n = 34. ...	55
Tabelle 10: Anzahl aktueller Medikamente der anfallsfreien Patienten bei Beobachtungsende. Fehlende Daten beziehen sich auf den Patienten mit bisher einmonatiger Anfallsfreiheit, während alle anderen mindestens zwölf Monate anfallsfrei sind. n = 15.	56
Tabelle 11: Anfallshäufigkeit der Patienten unter Everolimus-Therapie bei Beobachtungsende. n = 15.	56
Tabelle 12: Angaben zum Epilepsieverlauf in Abhängigkeit der genetischen TSC2-Variationen. IS = Infantile Spasmen, Pat. = Patient.	67

3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Spezifische, interaktive und ineinander greifende molekulare Signalwege von den neurokutanen Syndromen Neurofibromatose Typ 1, Tuberöse Sklerose und Sturge-Weber-Syndrom (Stafstrom et al. 2017).	1
Abbildung 2: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Beobachtungsende, N = 51.	21
Abbildung 3: Boxplot zum Alter der TSC-Patienten bei Beobachtungsende, N = 35.	21
Abbildung 4: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der NF1-Patienten, N = 51. B: Vergleich von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten (Epilepsiepatienten: n = 7, M = 1 6/12 Jahre, MD = 1 5/12 Jahre. Nicht-Epilepsiepatienten: n = 42, M = 4 7/12 Jahre, MD = 2 7/12 Jahre).	30
Abbildung 5: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der NF1-Patienten, N = 51. B: Vergleich von sporadischer und familiärer NF1 (familiäre NF1: n = 28, M = 3 2/12 Jahre, MD = 1 3/12 Jahre. Sporadische NF1: n = 21, M = 5 4/12 Jahre, MD = 4 4/12 Jahre).	30
Abbildung 6: Prozentuale Häufigkeiten der einzelnen NIH-Diagnosekriterien, N = 51 Patienten.	31
Abbildung 7: Prozentuale Häufigkeiten der einzelnen NIH-Diagnosekriterien mit Unterteilung in NF1 mit Epilepsie (n = 7) und NF1 ohne Epilepsie (n = 44).	31
Abbildung 8: Überlebenszeitrate ohne Epilepsie bei NF1, N = 51. Das Ereignis ist dabei definiert als erster epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Epilepsie.	32
Abbildung 9: Prävalenz von Epilepsien bei NF1 und Klassifikation der Epilepsien mit Unterteilung in GGE/IGE = Genetisch/ Idiopathisch Generalisierte Epilepsie, WS = West-Syndrom und Nicht klassifizierte Epilepsie. N = 51.	32
Abbildung 10: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der ILAE von 2010. Die Summe der verschiedenen Anfallstypen entspricht nicht der Anzahl an Epilepsiepatienten (n = 7), da bei einigen Patienten verschiedene Anfälle beobachtet werden konnten. Einfach-fokal = fokal ohne Bewusstseinsstörung, dyskognitiv = fokal mit Bewusstseinsstörung, sek. generalisiert = sekundär generalisiert. Fokale Anfälle: einfach-fokal, dyskognitiv, sekundär generalisiert. Generalisierte Anfälle: myoklonisch, tonisch, tonisch-klonisch. Unklassifizierte Anfälle: Epileptische Spasmen.	33

Abbildung 11: Individueller Epilepsieverlauf der sieben Patienten von Geburt bis Beobachtungsende.....	34
Abbildung 12: Überlebenszeitrate mit der Wahrscheinlichkeit, anhaltend anfallsfrei zu werden, bei NF1. Das Ereignis ist dabei definiert als letzter epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Anfallsfreiheit.....	34
Abbildung 13: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 3 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des <i>NF1</i> -Gens. Die zwei großen Deletionen (alle Exone des <i>NF1</i> -Gens und Deletion Exon 12-58) sowie die 1,4 Mb Mikrodeletion sind in der Abbildung nicht dargestellt.	37
Abbildung 14: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Neurofibromin mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGS-Nomenklatur auf Proteinebene.....	38
Abbildung 15: Relative Häufigkeiten der besuchten Schulformen unabhängig von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf. Andere: Dänische Schule, Walddorfschule. N = 51.	40
Abbildung 16: Absolute Häufigkeiten der einzelnen Förderschwerpunkte unabhängig vom besuchten Schultyp. Die Summe aller Förderschwerpunkte entspricht nicht der Anzahl an betroffenen Patienten, da teilweise mehrere Förderschwerpunkte bei einem Patienten bestanden.	40
Abbildung 17: Relative Häufigkeiten neuropsychologischer und motorischer Defizite aus Arztbriefen und Fragebogen ermittelt. LRS: Lese-Rechtschreib-Schwäche, Konzentrationsschw.: Konzentrationsschwierigkeiten, Str.: Störung, Impulsk.: Impulskontrolle, ADHS: Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom. n zwischen 23 und 28, abhängig von vorhanden Angaben durch die Eltern bzw. Patienten.....	42
Abbildung 18: HPA (Human Protein Atlas) Daten der RNA-Expression in gesundem Gewebe. Graphik wurde am 07.01.2019 unter https://www.proteinatlas.org/ENSG00000166006-KCNC2/tissue abgerufen.....	44
Abbildung 19: Graphische Darstellung der beiden nachgewiesenen Varianten p.D167Y (de novo) und p.A455V (maternal vererbt) im <i>KCNC2</i> -Gen. (Erstellung der Graphik über Protter - visualize proteoforms Omasits et al., Bioinformatics. 2013 Nov 21).	45
Abbildung 20: A) Kaliumionenströme in Oozyten mit Expression wildtypischer (schwarz) oder mutierter (rot) Kv3.2 Ionenkanäle. B) Hoch konservierte Region bzw. Aminosäure über	

verschiedene Spezies hinweg bezüglich der Lokalisation der Mutation. C) Mittlere Spannungsabhängigkeit der Kv3.2- Kanal-Aktivierung des Wildtyps (n=18, schwarz) und des Mutanten (n=10, rot). Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM. D) Mittlere Stromamplitude der mit Wildtyp (weiß), D167Y (rot) oder Wasser (blau) injizierten Oozyten. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen Wildtyp- und D167Y-mutierten Ionenkanälen ((ANOVA on ranks, $p < 0,001$) mit post-hoc Dunn's Methode ($p < 0,05$) (mit Sternchen gekennzeichnet)). E) Ruhemembranpotentiale von Oozyten mit injiziertem Wildtyp (weiß), D167Y-Mutant (rot) oder Wasser (blau). Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM..... 48

Abbildung 21: Relative Häufigkeiten des Besuchs einer Regelschule (RS) oder eines Förderzentrums mit Unterscheidung zwischen Regelschule ohne bzw. mit sonderpädagogischem Förderbedarf (FB) im Vergleich von Epilepsie- (n = 7) und Nicht-Epilepsiepatienten (n = 44). Unb.: Unbekannt. Andere: Dänische Schule, Walddorfschule... 49

Abbildung 22: Boxplot zum Alter der TSC-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der TSC-Patienten, N = 35. B: Vergleich von sporadischem und familiärem TSC. Familiärer TSC: n = 8, M = 1 8/12 Jahre; MD = 1 6/12 Jahre. Sporadischer TSC: n = 25, M = 1 1/12 Jahre, MD = 6/12 Jahre. 51

Abbildung 23: Prozentuale Häufigkeiten der überarbeiteten TSC-Major-Diagnosekriterien, N = 35. Kort.: Kortikal, subepend.: subependmal, hypom.: hypomelanotisch, faz.: fazial, kard.: kardial, ret.: retinal, SEGA: subependymales Riesenzellastrozytom, fib.: fibrös, LAM: Lymphangioliomyomatose, hypomelanotische Flecken: ≥ 3 mit einem Durchmesser von mindestens 5 mm; ≥ 3 faziale Angiofibrome; ≥ 2 unguale Fibrome; ≥ 2 Angiomyolipome... 52

Abbildung 24: Prozentuale Häufigkeiten der überarbeiteten TSC-Minor-Diagnosekriterien, N = 35. Nichtren.: nichtrenal, ren.: renal, konf. Depigm.: konfettiartige Depigmentierung der Haut, ret. achromat.: retinal achromatisch. ≥ 3 Zahnschmelzdefekte; ≥ 2 intraorale Fibrome. 52

Abbildung 25: Überlebenszeitrate ohne Epilepsie beim TSC, N = 35. Das Ereignis ist dabei definiert als erster epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Epilepsie..... 53

Abbildung 26: Differenzierung der Epilepsiepatienten in mit und ohne epileptische Spasmen (ES) (links). Rechts sind die Patienten mit epileptischen Spasmen aufgeteilt in Patienten, die nur ES aufwiesen (6 %, entspricht einem Patienten) und Patienten mit ES zu Beginn und nachfolgenden weiteren Anfallstypen (94 %, entspricht 16 Patienten); n = 34..... 53

Abbildung 27: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der ILAE von 2010. Die Summe der verschiedenen Anfallstypen entspricht nicht der Anzahl an Epilepsiepatienten, da bei einigen Patienten verschiedene Anfälle beobachtet werden konnten. Einfach-fokal = fokal ohne Bewusstseinsstörung, dyskognitiv = fokal mit Bewusstseinsstörung, sek. generalisiert = sekundär generalisiert. Fokale Anfälle: einfach-fokal, dyskognitiv, sekundär generalisiert. Generalisierte Anfälle: myoklonisch, tonisch, tonisch-klonisch. Unklassifizierte Anfälle: Epileptische Spasmen.....	54
Abbildung 28: Überlebenszeitraten mit der Wahrscheinlichkeit, anhaltend anfallsfrei zu werden, beim TSC. Das Ereignis ist dabei definiert als letzter epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Anfallsfreiheit.....	55
Abbildung 29: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 9 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des <i>TSC1</i> -Gens.	59
Abbildung 30: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 9 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des <i>TSC2</i> -Gens. Die große Deletion (Exon 16-29) ist in der Abbildung nicht dargestellt.....	59
Abbildung 31: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Hamartin (<i>TSC1</i> -Gen) mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGS-Nomenklatur auf Proteinebene.	60
Abbildung 32: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Tuberin (<i>TSC2</i> -Gen) mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGS-Nomenklatur auf Proteinebene.	61
Abbildung 33: Relative Häufigkeiten der besuchten Schulformen unabhängig von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf. Andere: Gesamtschule, N = 35.	62
Abbildung 34: Absolute Häufigkeiten der einzelnen Förderschwerpunkte unabhängig vom besuchten Schultyp. Die Summe aller Förderschwerpunkte entspricht nicht der Anzahl an betroffenen Patienten, da teilweise mehrere Förderschwerpunkte bei einem Patienten bestanden. G: geistige Entwicklung, M & K: motorische und körperliche Entwicklung, L: Lernen, S: Sprache, E & S: emotionale und soziale Entwicklung, A: Autismus. $n_{\text{gesamt}} = 31$, $n_{\text{betroffene Patienten}} = 23$	63
Abbildung 35: Relative Häufigkeiten neuropsychologischer und motorischer Defizite aus Arztberichten und Fragebogen ermittelt. Konzentrationsschw.: Konzentrationsschwierigkeiten,	

LRS: Lese-Rechtschreib-Schwäche Str.: Störung, Impulsk.: Impulskontrolle, ADHS: Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom. n zwischen 15 und 21, abhängig von vorhanden Angaben durch die Eltern bzw. Patienten. 64

4 Einleitung

4.1 Neurokutane Syndrome

Unter den neurokutanen Syndromen wird eine Vielzahl von klinisch sehr heterogenen Erkrankungen zusammengefasst, deren Gemeinsamkeit in dominierenden neurologischen sowie kutanen Pathologien liegt. Zu den häufigsten neurokutanen Syndromen gehören die Neurofibromatose Typ 1 (NF1) und der Tuberöse Sklerose Complex (TSC).

Im Allgemeinen handelt es sich um hereditäre Krankheiten, wobei in bis zu 50% der Fälle sporadisch auftretende Formen beobachtet werden. Die intra- sowie interindividuelle Variabilität der vorliegenden klinischen Merkmale erschweren die Formulierung eines gemeinsamen Pathomechanismus der neurokutanen Syndrome. Heute ist es überwiegend das Verständnis auf molekulargenetischer und funktioneller Ebene, das neue Erklärungsansätze liefert. Dabei spielen auch die unterschiedlichen genetischen Grundlagen der einzelnen Syndrome eine Rolle (vgl. *Abbildung 1*).

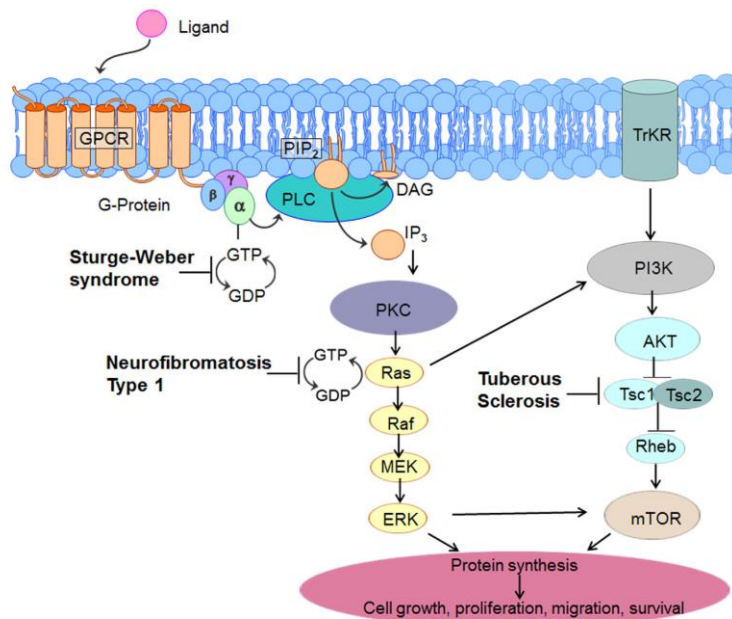


Abbildung 1: Spezifische, interaktive und ineinander greifende molekulare Signalwege von den neurokutanen Syndromen Neurofibromatose Typ 1, Tuberöse Sklerose und Sturge-Weber-Syndrom (Stafstrom et al. 2017).

Die vorliegende Dissertation beschäftigt sich mit den beiden häufigsten neurokutanen Syndromen, der NF 1 und dem TSC, die jeweils in separaten Kapiteln besprochen werden. Der Hauptfokus ist unter Berücksichtigung der genetischen Befunde auf den Epilepsieverlauf und die Entwicklung gerichtet.

4.2 Neurofibromatose Typ 1 (NF1)

4.2.1 Epidemiologie und Diagnosestellung

Mit einer weltweiten Prävalenz von 1:2500-3000 ist die Neurofibromatose Typ 1 (NF1) das meistverbreitete neurokutane Syndrom. Sowohl Männer und Frauen als auch verschiedene Ethnien sind gleichermaßen betroffen. Gleichzeitig ist die interindividuelle Expressivität bei altersabhängiger und hundertprozentiger Penetranz stark variabel (Yap et al. 2014; Pasmant et al. 2010). Nach ihrem Erstbeschreiber wird die NF1 auch als Morbus von Recklinghausen bezeichnet (Gromova und Gerinec 2008; Antonio et al. 2013).

Zur Diagnosestellung werden die seit 1988 etablierten und rein auf klinischen Befunden basierenden NF1-Diagnosekriterien nach der Empfehlung der „National Institutes of Health Consensus Conference“ eingesetzt. Die Diagnose wird klinisch gestellt, wenn mindestens zwei der in *Tabelle 1* aufgeführten Kriterien erfüllt sind (NIH 1988). Insbesondere bei jüngeren Kindern kann aufgrund der noch unzureichenden klinischen Merkmale ein genetischer Nachweis im *NF1*-Gen zur Diagnosesicherung beitragen (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009).

Tabelle 1: Diagnosekriterien nach Empfehlung der NIH für NF1, 1988. Die Diagnose kann gestellt werden, wenn zwei oder mehr Kriterien erfüllt sind.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">▪ ≥ 6 Café-au-lait-Flecken (präpubertal ≥ 5mm, postpubertal ≥ 15mm)▪ Axilläres oder inguinales freckling (sommersprossenartige Pigmentierungen)▪ ≥ 2 Neurofibrome jeden Typs oder ein plexiformes Neurofibrom▪ ≥ 2 Lisch-Knötchen (Iris-Knötchen)▪ Knochenveränderungen (Keilbeinflügeldysplasie, Verkrümmung der langen Röhrenknochen)▪ Optikusgliom (Tumor am Sehnerv)▪ Verwandter I° mit NF1 |
|---|

Viele der betroffenen Kinder fallen primär durch eine Entwicklungsverzögerung auf. Motorische Schwierigkeiten und neuropsychologische Defizite, wie Aufmerksamkeitsstörungen oder Verhaltensauffälligkeiten, manifestieren sich häufig im Verlauf. Diese können wiederum erhebliche Schulprobleme mit sich bringen (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009). NF1-Kinder besuchen im Vergleich zur Normalbevölkerung viermal häufiger ein Förderzentrum und benötigen sechsmal häufiger Förderunterricht (Krab et al. 2008). Etwa 60 % der Kinder sind lernbehindert, während eine mentale Retardierung nur in 4-8 % der Fälle auftritt (Kehrer-Sawatzki

und Mautner 2009). Epilepsie als weitere neurologische Manifestation einer NF1 wird in Abschnitt 4.2.3 ausführlich beschrieben.

4.2.2 Genetischer Hintergrund

Die NF1 gehört zu den hereditären, monogenetischen Erkrankungen mit autosomal-dominantem Vererbungsmuster. Ursächlich sind Veränderungen im *NF1*-Gen, einem Tumorsuppressorgen, wobei heterozygote Keimbahnmutationen die klassische Form der Erkrankung kennzeichnen. Das *NF1*-Gen ist auf Chromosom 17q11.2 lokalisiert und stellt mit seinen ungefähr 350 Kilobasen eines der größten Gene des humanen Genoms dar (Griffiths et al. 2007). Das Gen umfasst insgesamt 58 Exone, wobei alternatives Spleißen zur Bildung verschiedener Transkripte und damit zu unterschiedlichen Proteinisoformen führt (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4763>, zuletzt abgerufen am 04.03.2019). Das *NF1*-Gen kodiert für das Protein Neurofibromin, welches aus 2818 Aminosäuren besteht und eine Masse von ungefähr 327 Kilodalton aufweist (Marchuk et al. 1991). Das Expressionsmuster dieses rein intrazellulär liegenden Makromoleküls weist eine ubiquitäre Verteilung auf, zeigt allerdings eine besonders starke Ausprägung im ZNS (Yap et al. 2014). Neurofibromin beeinflusst durch Stimulation der intrazellulären GTPase-Aktivität verschiedene proliferations- und zellwachstumsfördernde Signalwege, u.a. auch den mTOR-Signalweg (Dilworth et al. 2006). Das *NF1*-Gen weist eine der höchsten Mutationsraten im gesamten humanen Genom auf (Ars et al. 2000; Xu et al. 2014). Bis heute wurden etwa 1500 verschiedene Mutationen/Variationen einschließlich komplexer Rearrangements beschrieben (Ben-Salem et al. 2014). Neumutationen fanden sich bei etwa 50 % aller Betroffenen. Überwiegend handelt es sich um kleine, heterozygot vorliegende intragenische Veränderungen im *NF1*-Gen (Nemethova et al. 2013). Einerseits gelang dabei häufig der Nachweis von frameshift-Varianten, welche zumeist durch kleine Deletionen und Insertionen verursacht wurden. Andererseits stellte auch die Entschlüsselung von Missense-, Nonsense- und Spleißmutationen keine Seltenheit dar (Ben-Salem et al. 2014; Fahsold et al. 2000). Ungefähr 80 % aller Varianten führten letztendlich zu einem vorzeitigen Abbruch der Proteinbiosynthese (Griffiths et al. 2007; Ars et al. 2000; Fahsold et al. 2000). Die Identifizierung spezifischer Hotspots blieb erfolglos, vielmehr erwies sich eine gleichmäßige Verteilung der Veränderungen über das gesamte Gen hinweg als typisch (Nemethova et al. 2013; Fahsold et al. 2000). Das Fehlen charakteristischer Mutationscluster und die enorme Mutationsvielfalt, sowie die riesige Angriffsfläche und Komplexität des *NF1*-Gens gestalten die Identifikation individueller Gendefekte daher gleichsam anspruchsvoll und schwierig (Fahsold

et al. 2000; Griffiths et al. 2007; Nemethova et al. 2013). Zudem sollte bei der Auswahl entsprechender Untersuchungsmethoden bedacht werden, dass neben diesen kleinen Mutationen in seltenen Fällen auch große Deletionen und Duplikationen, die ein oder mehrere Exone umfassen, eine NF1 verursachen (Imbard et al. 2015). Von besonderer Bedeutung sind die bei einigen Patienten auftretenden Mikrodeletionen, welche von prognostischer Relevanz sind. Diese führen nicht nur zum Verlust des gesamten *NF1*-Gens, sondern es gehen auch weitere, benachbart liegende Gene verloren. Mikrodeletionen wurden bei etwa 5-10 % aller NF1-Fälle nachgewiesen (Kluwe et al. 2004; Pasmant et al. 2010).

4.2.3 Epilepsie

Patienten mit NF1 weisen gegenüber der Normalbevölkerung ein erhöhtes Risiko hinsichtlich der Entwicklung einer Epilepsie auf (Ostendorf et al. 2013). Mit einer in der Literatur angegebenen Prävalenz zwischen vier und 14 % stellt die Manifestation wiederholter unprovoked epileptischer Anfälle eine ernst zu nehmende Komplikation der NF1 dar (Korf et al. 1993; Vivarelli et al. 2003; Pecoraro et al. 2017).

4.2.3.1 Anfallsformen

Inzwischen liegen mehrere Studien zur Charakterisierung epileptischer Anfälle bei NF1 vor. Dabei zeigten die Betroffenen kein typisches Anfallsmuster. Ostendorf et al. (2013) und Pecoraro et al. (2017) beschrieben bei mehr als der Hälfte der Patienten fokale Anfälle, wobei dyskognitive Anfälle überwogen, teilweise kam es zur sekundären Generalisierung (Ostendorf et al. 2013; Vivarelli et al. 2003). Primär generalisierte Anfälle nahmen einen Anteil von knapp 20 % ein, epileptische Spasmen traten in 4-6 % auf (Ostendorf et al. 2013; Pecoraro et al. 2017). Dahingegen fanden sich in einer Studie von Hsieh et al. (2011) im Vergleich zu dyskognitiven Anfällen nur geringfügig seltener primär generalisierte Anfälle (40,5 % primär generalisiert vs. 46 % dyskognitiv). Die Verteilung auf die verschiedenen Anfallstypen im Kindesalter wich nicht von derjenigen der Gesamtkohorte ab (Ostendorf et al. 2013). Zudem konnte der Übergang einer generalisierten in eine fokale Epilepsie nicht beobachtet werden (Kulkantrakorn und Geller 1998).

Die Assoziation von Infantilen Spasmen (IS)/Blitz-Nick-Salaam (BNS)-Anfällen bzw. dem sogenannten West-Syndrom (WS) mit NF1 ist nicht zu vernachlässigen. Mit einer Inzidenzrate von 2-5:10000 Lebendgeburten belegen IS die Spitzenposition unter den Ursachen frühkindlicher Epilepsien (Ruggieri et al. 2009). Das Risiko für ein Kind mit NF1 ist dabei im Vergleich zur Gesamtbevölkerung bis um das 20-fache erhöht (Ruggieri et al. 2009). Trotzdem gehört

diese Epilepsieform mit ihrer Prävalenz von bis zu einem Prozent bei NF1 zu den seltenen zu beobachtenden Symptomen. IS treten typischerweise innerhalb des ersten Lebensjahres auf. Sie werden teilweise auch als „Epileptische Spasmen“ (ES) bezeichnet, wobei der letztgenannte Begriff nicht altersgebunden ist. Das WS ist gekennzeichnet durch die Trias IS, Hypsarrhythmie und psychomotorische Retardierung. Bemerkenswert ist, dass NF1-assoziierte IS große Ähnlichkeiten zur seltenen idiopathischen Form aufwiesen, die nur etwa 10 % der IS-Fälle ausmacht (Dulac et al. 1993; Kalra et al. 2002). NF1-Kinder mit IS zeigten in der Regel ein gutes Ansprechen auf Steroidtherapie, über 50 % wurden anfallsfrei (Motte et al. 1993). Motte et al. (1993) betonten zudem das gute Langzeit-Outcome, da im Verlauf häufig keine weiteren Anfallstypen auftraten.

4.2.3.2 Mechanismen der Epilepsieentstehung bei NF1

Entsprechend der Verteilung der Anfallstypen zeigten EEG-Verläufe hauptsächlich fokale Herdbefunde. Bei einigen Patienten gelang zusätzlich der Nachweis passender bildgebender Korrelate in Form von Tumoren, Hippokampussklerose oder Hirnfehlbildungen, wie z.B. einer fokalen kortikalen Dysplasie, sodass eine strukturelle Ursache der Epilepsie bestätigt werden konnte (Pecoraro et al. 2017; Gales und Prayson 2017). Im Gegensatz dazu konnten die in der MRT zahlreich dargestellten T2-Hyperintensitäten bzw. Unidentified Bright Objects (UBOS) bisher nicht in Zusammenhang mit den lokalen Pathologien im EEG gebracht werden (Vivarelli et al. 2003; Kulkantrakorn und Geller 1998; Hsieh et al. 2011; Pecoraro et al. 2017). Die pathologische wie pathognomonische Bedeutung dieser Läsionen ist unklar, und kann bezüglich der Pathogenese epileptischer Anfälle nicht abschließend beurteilt werden (Ostendorf et al. 2013). Korrelationen zwischen Epilepsie und spezifischen *NF1*-Mutationen wurden bisher in Studien, welche die Phänotyp-Genotyp-Korrelation untersuchten, nicht berichtet. Ob eine familiäre Epilepsiebelastung das Auftreten epileptischer Anfälle bei Patienten mit NF1 begünstigt, kann nicht sicher beurteilt werden. Während Hsieh et al. (2011) und Vivarelli et al. (2003) keine familiäre Disposition vorfanden, beschrieben Ostendorf et al. (2013) diese bei 28 % der Patienten. Dabei litten die betroffenen Familienmitglieder zumeist parallel an NF1 und Epilepsie. Zudem zeigten Studien, dass das männliche Geschlecht etwas häufiger von epileptischen Anfällen betroffen war (Hsieh et al. 2011; Ostendorf et al. 2013). Gleichzeitig fanden Ostendorf et al. (2013) Hinweise für ein erhöhtes maternales Vererbungsmuster der NF1 bei NF1-Patienten mit Epilepsie. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu einer früheren Analyse, in welcher bei NF1-Patienten mit betroffenen Müttern seltener epileptische Anfälle beobachtet wurden (Riccardi und Wald 1987).

Gesetzmäßigkeiten für Epilepsie bei NF1 lassen sich aktuell nicht ableiten, die Prädisposition für epileptische Anfälle bei NF1 bleibt folglich weiterhin ungeklärt (Stafstrom et al. 2017).

Durch zahlreiche Studien ließ sich inzwischen nachweisen, dass die fehlende Inhibition des mTOR-Signalwegs u.a. auch zu einer neuronalen Hyperexzitabilität führt und hierdurch, nicht nur aufgrund der Tumorgenese, die Entstehung von Epilepsien begünstigt (Russo et al. 2012). Inwieweit eine fehlerhafte Funktion des Neurofibromins, welches ebenfalls in den mTOR-Signalweg eingreift, eine neuronale Hyperexzitabilität hervorruft, konnte bisher nicht geklärt werden.

Weiterhin wird eine erhöhte Wirkung von GABA diskutiert, da sich eine erhöhte synaptische Konzentration von GABA in NF1^{+/-}-Mausmutanten nachweisen ließ (Stafstrom et al. 2017). GABA spielt als depolarisierender Faktor im unreifen Gehirn für die weitere Hirnentwicklung eine wichtige Rolle und bildet erst im Verlauf seine typische hyperpolarisierende und damit inhibitorische intrazerebrale Wirkung aus (Ben-Ari et al. 1989; Wang und Kriegstein 2009).

Der Einfluss von Ionenkanälen als weiterer Mechanismus der Epileptogenese bei NF1-Patienten ist denkbar, wobei die Dysfunktion unterschiedlicher intrazerebraler Ionenkanäle, wie von Kalium-, Natrium- und Calciumkanälen, in NF1-Modellen beschrieben wurde (Stafstrom et al. 2017). Ob zusätzliche genetische Ursachen, wie Mutationen in weiteren Genen (neben der Mutation im *NF1*-Gen), eine Relevanz bezüglich des Auftretens epileptischer Anfälle bei NF1-Patienten darstellen, wurde nach aktuellem Kenntnisstand bisher nicht untersucht oder diskutiert.

4.2.3.3 Mechanismen der Entstehung Infantiler Spasmen (IS) bei NF1

Ursächliche Faktoren für NF1 assoziierte IS wurden bisher nicht beschrieben. Auch ein zugrunde liegender spezifischer Genotyp des *NF1*-Gens wurde nicht nachgewiesen (Ruggieri et al. 2009). Eine genetische Prädisposition oder Störungen metabolischer Reifeprozesse im Gehirn wurden diskutiert (Motte et al. 1993).

Wie bereits beschrieben, weisen IS im Rahmen einer NF1 viele Ähnlichkeiten mit dem idiopathischen WS auf. Mutationen in unterschiedlichen Genen im Zusammenhang mit dem idiopathischen WS wurden beschrieben. Hierzu zählen die Gene *ARX* (Aristaless-Related Homeobox), *CDKL5* (Cyclin-Dependent Kinase-Like 5), *STXBPI* (Syntaxin-Binding Protein 1), *GRIN2A* (Glutamate Ionotropic Receptor NMDA type subunit 2A) und *ST3GAL3* (ST3 beta-Galactoside alpha-2,3-Sialyltransferase 3) (Jdila et al. 2017). Ob Mutationen in diesen Genen auch gehäuft bei NF1-Patienten auftreten, ist aktuell nicht bekannt.

4.2.3.4 Therapie

Im Hinblick auf das therapeutische Ansprechen der Epilepsien bei NF1 variieren die Angaben. In kleineren Studien wurde ein Erfolg mit antiepileptischer Monotherapie bei 64 % (Korf et al. 1993) bzw. 76 % (Kulkantrakorn und Geller 1998) beschrieben. Bei diesen beiden Studien wurden auch antiepileptisch behandelte Patienten mit einmaligem unprovokeden Anfall eingeschlossen. Bei Korf et al. (1993) zeigten sogar 27 % der Patienten lediglich Fieberkrämpfe, die eine erfolgreiche Monotherapie nach sich zogen. Fieberkrämpfe stellen keine Epilepsie dar und nach heutigem Kenntnisstand wird nach einmaligem Fieberkrampf in der Regel keine antikonvulsive Dauertherapie empfohlen (Whelan et al. 2017). Diese unterschiedlichen Einschlusskriterien zeigen, dass ein Vergleich bzgl. des Therapieansprechens älterer Studien (Korf et al. 1993; Kulkantrakorn und Geller 1998) und neuerer Studien nicht möglich ist. Die Ergebnisse von Ostendorf et al. (2013) beziehen sich auf Patienten mit wiederholten unprovokeden Anfällen. Ein entsprechender Erfolg der antikonvulsiven Therapie ließ sich bei einem Drittel der Patienten nachweisen. Vergleichbare Resultate lieferte die Analyse von Vivarelli et al. (2003).

4.2.4 Epilepsie und Genetik als prognostische Faktoren für Entwicklung und Verlauf

4.2.4.1 Genetik und Entwicklung

Der genetische Befund hat in den meisten Fällen als prognostischer Faktor für die Schwere der Erkrankung sowie für die weitere Entwicklung nur eingeschränkte Relevanz (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009). Davon abzugrenzen sind ausgewählte Mutationen, bei denen die Beschreibung einer Phänotyp-Genotyp-Korrelation erfolgreich war. Erst kürzlich wurden in einer Studie mehrere Patienten mit der heterozygoten Missense-Mutation c.5425C>T (p.Arg1809Cys) identifiziert, welche mit einem relativ milden Phänotyp zu korrelieren scheint (Pinna et al. 2014). Im Gegensatz dazu fand sich bei Patienten mit Spleißmutationen u.a. eine signifikante positive Korrelation mit Lernschwierigkeiten sowie ein signifikant erhöhtes Tumorrisiko (ZNS-Gliome und maligne periphere Nervenscheidentumore) (Alkindy et al. 2012). Bei Mikrodeletionen ist ebenfalls mit einer schweren phänotypischen Ausprägung zu rechnen. Klassische klinische Merkmale werden in diesen Fällen von fazialen Dysmorphien und mentaler Retardierung begleitet (Descheemaeker et al. 2004). Außerdem besteht ein erhöhtes Lebenszeitrisiko für maligne Tumore (Kluwe et al. 2004).

Bei den oben beschriebenen Phänotyp-Genotyp-Korrelationen wurde ein Zusammenhang mit Epilepsie nicht erwähnt bzw. nicht untersucht. Weitere Studien bezüglich einer Korrelation

zwischen spezifischen Mutationen im *NF1*-Gen und einem erhöhten Epilepsierisiko liegen bisher nicht vor.

4.2.4.2 Epilepsie und Entwicklung

Neurokognitive Defizite sind als wesentliche Komorbiditäten bei NF1-Patienten, unabhängig vom Vorliegen einer Epilepsie, anzuführen. Lernschwierigkeiten ließen sich bei bis zu 60 % der an NF1 Erkrankten beobachten (Ferner et al. 2007). Schwere mentale Retardierungen zeigten sich hingegen nur bei wenigen Patienten (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009).

Epilepsie stellt unabhängig von NF1 einen Risikofaktor für Entwicklungsverzögerungen und neurokognitive Defizite dar (Kellermann et al. 2015). Dabei können sich vor allem ein geringes Alter bei Epilepsiebeginn, eine hohe Anzahl an epileptischen Anfällen sowie die lange Dauer einer Epilepsie bei Therapieresistenz negativ auf die weitere Entwicklung der Kinder auswirken (Freitag 2007). Somit erhöht sich bei NF1 und gleichzeitiger therapieresistenter Epilepsie das Risiko für neurokognitive Defizite und mentale Retardierung. Teilweise lagen den therapieresistenten Epilepsien strukturelle Auffälligkeiten im Gehirn zugrunde (Vivarelli et al. 2003).

Ergebnisse zu Lernschwierigkeiten und mentaler Retardierung von NF1-Patienten fielen je nach Studie sehr unterschiedlich aus. Während 81 % der Epilepsiepatienten von Kulkantrakorn und Geller (1998) neurokognitive Defizite aufwiesen, ergaben die Auswertungen von Vivarelli et al. (2003) zumeist eine normale Entwicklung der NF1-Kinder mit Epilepsie. Mentale Retardierung war dabei in letztgenannter Studie stets mit einer therapieresistenten Epilepsie assoziiert. Bezüglich der Entwicklung bei NF1 und IS liegen kaum Daten vor. Die psychomotorische Entwicklung vor dem Auftreten der IS gestaltete sich bei den meisten Kindern unauffällig. Zudem ergab sich auch im Schulalter im Vergleich zur NF1-Gesamtkohorte kein Anhalt für ein erhöhtes intellektuelles Defizit für NF1-Patienten mit IS, wobei diesbezüglich auch das gute Ansprechen auf die Steroidtherapie zu beachten ist (Motte et al. 1993).

4.3 Tuberöse Sklerose Complex (TSC)

4.3.1 Epidemiologie und Diagnosestellung

Die Tuberöse Sklerose (TS) wird nach den beiden Erstbeschreibern aus dem Ende des 19. Jahrhunderts auch Morbus Bourneville-Pringle genannt. Die Prävalenz liegt bei 1:6000-8000, sodass die TS nach der NF1 das zweithäufigste neurokutane Syndrom darstellt (Kurlemann und

Fiedler 2013). Allerdings wird eine Dunkelziffer aufgrund der z.T. leichten phänotypischen Krankheitsausprägung angenommen (Chu-Shore et al. 2010). Die TS kommt bei beiden Geschlechtern gleich häufig vor. Ethnien- oder regionenspezifische Häufungen der Erkrankung ließen sich nicht beobachten (Curatolo 2003). Das charakteristische Symptom sind die zerebralen Tubera, welche der Erkrankung auch ihren Namen gaben. Sie gehören zu den angeborenen Merkmalen der TS, zeigen jedoch ein mehr oder weniger starkes Größenwachstum im Verlauf. Bei etwa 90 % aller TS-Patienten sind diese Pathologien in der Bildgebung zu finden. Dabei stellen sie sich als runde, z.T. verkalkte Veränderungen im Sinne einer kortikalen Dysplasie dar und sind kortikal oder auch subkortikal lokalisiert. Liegt das entsprechende Merkmal in Ventrikelnähe, wird von subependymalen Knoten gesprochen (Kurlemann und Fiedler 2013). Derartige tumoröse Veränderungen können aber auch in vielen anderen Organen auftreten. In Zusammenhang mit vielerlei anderen Symptomen handelt es sich bei der TS folglich um eine Multisystemerkrankung. Die enorme inter- wie intrafamiliäre Variabilität klinischer Manifestationen bringt eine hohe Komplexität mit sich. Aufgrund dessen entwickelte sich im Laufe der Zeit der international anerkannte Begriff des Tuberöse Sklerose Complex (TSC). Fortführend wird daher in dieser Arbeit TSC als Krankheitsbegriff verwendet (Kurlemann und Fiedler 2013).

Im Jahre 1998 fand die erste internationale Tuberöse Sklerose Komplex Konsensuskonferenz zur Festlegung diagnostischer Kriterien des TSC statt. Dabei wurden zahlreiche klinische Symptome als Haupt- oder Nebenkriterien klassifiziert. 2012 erfolgte deren Überarbeitung im Rahmen einer zweiten Konferenz. Die aktuellen Diagnosekriterien sind in *Tabelle 2* dargestellt. Ein TSC liegt klinisch vor, wenn entweder zwei Hauptkriterien (Major-Kriterien) oder ein Haupt- und zwei Nebenkriterien (Minor-Kriterien) erfüllt sind. Kommt es lediglich zur Ausprägung von einem Hauptkriterium oder von zwei Nebenkriterien, sollte die Möglichkeit eines TSC in Betracht gezogen werden. Des Weiteren kann durch die Identifikation einer sicher pathogenen Mutation im *TSC1*- oder *TSC2*-Gen ebenfalls eine definitive Diagnose gestellt werden (Northrup et al. 2013). Daher weist die genetische Testung bei kleinen Kindern oder bei Fällen mit unklaren klinischen Merkmalen einen besonders hohen Stellenwert auf. Mit ihrer Hilfe wird eine zeitnahe Diagnosestellung erleichtert und ermöglicht eine frühzeitige interdisziplinäre Betreuung, wodurch wiederum das Outcome der Patienten positiv beeinflusst werden kann (Northrup et al. 2013).

Tabelle 2: Aktuell überarbeitete klinische und genetische Diagnosekriterien der Konsensuskonferenz von 2012 für den TSC (Serra et al. 2013; Northrup et al. 2013).

Klinische Diagnosekriterien	
Hauptkriterien	Nebenkriterien
Hypomelanotische Flecken (≥ 3 mit einem Durchmesser von mindestens 5 mm)	Konfettiartige Hautläsionen
Angiofibrome (≥ 3) oder fibröser Stirnplaque	Zahnschmelzdefekte (≥ 3) (enamel pits)
Unguale Fibrome (≥ 2)	Intraorale Fibrome (≥ 2)
Shagreen Patch (Bindegewebsnävi)	Retinaler achromatischer Fleck
Multiple retinale Hamartome	Multiple renale Zysten
Kortikale Dysplasie*	Nichtrenale Hamartome
Subependymale Knoten	
Subependymales Riesenzellastrozytom	
Kardiales Rhabdomyom	
Lymphangiomiomatose (LAM) [†]	
Angiomyolipome (≥ 2) [†]	
<p>* einschließlich Tubera und radiärer Streifung der weißen Hirnsubstanz</p> <p>[†] eine Kombination von LAM und Angiomyolipomen ohne andere Merkmale stellt keine definitive Diagnose eines TSC dar</p> <p>Eindeutige Diagnose: 2 Haupt- oder ein Haupt- und 2 Nebenkriterien</p> <p>Mögliche Diagnose: 1 Haupt- oder ≥ 2 Nebenkriterien</p>	
Genetische Untersuchung	
<p>Eine pathogene Mutation in <i>TSC1</i> oder <i>TSC2</i> genügt für die definitive Diagnose einer tuberösen Sklerose. Als pathogene Mutation wird eine Sequenzvariante definiert, welche die TSC1- oder TSC2-Proteinproduktion eindeutig verhindert. Zusätzlich haben sich einige, mit einer Proteinproduktion kompatible Mutationen (z.B. Missense-Veränderungen) als krankheitsverursachend und ausreichend für eine definitive Diagnose etabliert. Andere Varianten sollten vorsichtig beurteilt werden.</p>	

Ein Problem besteht darin, dass sich viele der in *Tabelle 2* beschriebenen Symptome erst bei gezielter Untersuchung zeigen. Hinzu kommt, dass die meisten klinischen Diagnosekriterien altersgebunden auftreten und somit im Säuglings- und Kleinkindalter noch nicht vorhanden sind. Eine ärztliche Vorstellung erfolgt daher initial viel häufiger aufgrund erster epileptischer Anfälle und/oder einer Entwicklungsverzögerung (Kurlemann und Fiedler 2013).

Bezüglich mentaler Retardierung und intellektueller Fähigkeiten zeigte sich in einigen Studien ein bimodales Verteilungsmuster (Joinson et al. 2003). Während sich bei etwa der Hälfte der Patienten eine normale oder lediglich leicht verminderte geistige Entwicklung nachweisen ließ, lag bei knapp einem Drittel eine schwere bis schwerste geistige Entwicklungsstörung vor (Prather und Vries 2004). Außerdem gewinnt das klinische Erscheinungsbild durch gleichzeitig vorhandene psychiatrische Komorbiditäten zusätzlich an Komplexität. Obwohl diese in unterschiedlich stark ausgeprägter Form fast alle TSC-Patienten, unabhängig vom Vorliegen einer mentalen Retardierung, betreffen (Vries et al. 2005), werden sie auch heute noch unzureichend diagnostiziert und behandelt. Aufgrund dessen wurde der Begriff der TSC-assoziierten neuropsychiatrischen Erkrankungen (TAND) geprägt. Hierzu zählen sowohl psychiatrische, intellektuelle, neuropsychologische und psychosoziale Störungen, als auch Verhaltens- und spezifische Lernstörungen. Die TAND-Checkliste soll dazu dienen, das Management dieser, häufig das alltägliche Leben stark einschränkenden Probleme, zu verbessern (Vries et al. 2015; Krueger et al. 2013a). Auf die Thematik der Epilepsie im Rahmen des TSC wird auf den noch folgenden Abschnitt 4.3.3 verwiesen.

4.3.2 Genetischer Hintergrund

Der TSC ist eine monogenetische Erkrankung mit autosomal-dominantem Erbgang. Die Ursache für dieses zweithäufigste neurokutane Syndrom basiert auf Variationen im *TSC1*- oder *TSC2*-Gen. Dabei handelt es sich bei beiden Genen um Tumorsuppressorgene. Das *TSC1*-Gen liegt auf Chromosom 9q34 und besteht aus etwa 54 Kilobasen (Tyburczy et al. 2015). Insgesamt weist das Gen 23 Exons auf, von denen Exon 3 bis 23 für das rein intrazellulär gelegene Protein Hamartin codieren, während das zweite Exon einem alternativen Spleißen unterliegt. Hamartin besteht wiederum aus 1164 Aminosäuren und weist eine Masse von 130 Kilodalton auf (van Slegtenhorst et al. 1997). Das *TSC2*-Gen ist mit seiner Größe von ca. 41 Kilobasen auf Chromosom 16p13.3 lokalisiert. Es besteht aus 42 Exons und codiert für das ebenfalls intrazellulär gelegene Protein Tuberin (Tyburczy et al. 2015). Dieses besteht wiederum aus 1807 Aminosäuren und besitzt eine Masse von 200 Kilodalton (van Slegtenhorst et al. 1998). Hamartin und Tuberin bilden im Zellinneren einen gemeinsamen Komplex, welcher durch Phosphorylierung der S6-Kinase eine hemmende Wirkung auf den mTOR-Signalweg ausübt. Veränderungen in diesem Proteinkomplex münden in einer fehlenden Inhibition des mTOR-Signalweges, wodurch es zu einem überschießenden Zellwachstum und zu einer verstärkten Proliferation kommt (Huang und Manning 2008). Dieser Mechanismus liegt den vielfältigen klinischen Ausprägungen der Erkrankung zugrunde.

Durch die Aufklärung des genetischen Hintergrundes und der Pathophysiologie ist der TSC zu einem Paradebeispiel für die Entwicklung einer zielgerichteten Therapie geworden. So lassen sich durch die medikamentöse Beeinflussung des mTOR-Signalweges sowohl die Tumorgenese (Franz et al. 2013) als auch die Epilepsie bis hin zur Anfallsfreiheit (Wiegand et al. 2013) günstig beeinflussen.

Bis heute (Stand: 03/2019) wurden im TSC1-Gen 928 und im TSC2-Gen 2690 verschiedene Varianten beschrieben (http://chromium.lovd.nl/LOVD2/TSC/home.php?select_db=TSC1; http://chromium.lovd.nl/LOVD2/TSC/home.php?select_db=TSC2), welche nicht alle direkt als pathogen angesehen werden dürfen. In zwei Drittel aller Fälle handelt es sich dabei um Neumutationen. Wie die Zahlen schon andeuten, treten Mutationen in *TSC2* häufiger als in *TSC1* auf. Der Anteil an nachgewiesenen genetischen Veränderungen liegt für *TSC2* je nach Studie zwischen 70 und 85 % (Monteiro et al. 2014; Au et al. 2007; Dabora et al. 2001). In einigen Studien war der Anteil an *TSC1*- und *TSC2*-Mutationen bei der familiären Form der Erkrankung allerdings ausgeglichen. Dies passt gut zu der phänotypisch häufig milderen Ausprägung der Erkrankung bei Ursache in *TSC1*, sodass eine familiäre Vererbung des Gendefektes eher ermöglicht wird (Au et al. 2007; Jones et al. 1997). Im Gegensatz dazu liegen allerdings auch Studien vor, in denen *TSC1*-Mutationen bei familiärer Erkrankung weniger als 20 % ausmachten (Dabora et al. 2001; van Slegtenhorst et al. 1999).

Die Detektionsrate für pathogene Mutationen lag in den meisten Studien zwischen 80-90 % (Curatolo et al. 2015). Ein klarer Mutationshotspot ließ sich für beide Gene nicht nachweisen (Napolioni und Curatolo 2008). Unabhängig davon, ob es sich um *TSC1*- oder *TSC2*-Variationen handelte, überwogen kleine intragenische Veränderungen, wie Nonsense-Mutationen, Deletionen und Insertionen (van Slegtenhorst et al. 1999; Dabora et al. 2001; Kozłowski et al. 2007). Spleißmutationen sowie Missense-Mutationen traten bevorzugt in *TSC2* auf, wobei der letztgenannte Mutationstyp in ungefähr 30 % der *TSC2*-Fälle beobachtet wurde (Au et al. 2007; Curatolo et al. 2015; Dabora et al. 2001; van Slegtenhorst et al. 1999; Kozłowski et al. 2007). Große Deletionen und Duplikationen spiegelten nur einen geringen Teil des gesamten Mutationsspektrums wider und betrafen insbesondere *TSC2* (Curatolo et al. 2015).

Für den nicht unwesentlichen Anteil an Fällen, in denen keine genetische Ursache nachweisbar ist, werden unterschiedliche Erklärungsansätze diskutiert. Denkbar wäre zum Beispiel ein drittes *TSC*-verursachendes Gen, das sich bisher weder bestätigen noch ausschließen lässt. Weiterhin können molekular diagnostische Standardanalysen bisher Veränderungen in Introns und regulatorischen Bereichen nicht zuverlässig erfassen (Nellist et al. 2015). Auch sind Mosaik-

häufig schwer oder gar nicht nachweisbar. Einzelne Studien beschrieben Mosaik vor allem im Zusammenhang mit großen Deletionen im *TSC2*-Gen (Kozlowski et al. 2007; Sampson et al. 1997). Als weiterer Punkt sollten epigenetische Ursachen mit hemmenden Auswirkungen auf die Genfunktion in Betracht gezogen werden (Nellist et al. 2015).

4.3.3 Epilepsie

Seit Anfang des 20. Jahrhunderts ist bekannt, dass der TSC häufig mit Epilepsie assoziiert ist. Vogt beschrieb 1907 die Symptomtrias bestehend aus epileptischen Anfällen, mentaler Retardierung und Angiofibromen, welche lange Zeit als Grundlage zur Diagnosestellung diente (Goodrick 2015). Aus heutiger Sicht ist klar, dass diese Merkmale dieses neurokutane Syndrom keinesfalls spezifisch kennzeichnen. Die Epilepsie bleibt aber mit einer Prävalenz zwischen 60 % (Webb et al., 1991) und über 95 % (Jozwiak et al. 2000; Vignoli et al. 2013; Webb et al. 1991; Cross 2005) das häufigste manifeste neurologische Symptom beim TSC. Zudem sind epileptische Anfälle häufig das erste Symptom der Erkrankung und haben damit einen hohen Stellenwert in der Diagnosefindung (Herzog 2013). Treten epileptische Anfälle auf, sind diese einerseits selbst als schwerwiegende Komplikation, andererseits aber auch als Auslöser für weitere Probleme zu werten. So beeinflussen sie die Morbidität und Mortalität und damit das individuelle Outcome der Patienten erheblich (Chu-Shore et al. 2010).

Der Epilepsiebeginn beim TSC liegt weitestgehend im Kindesalter. In über 50 % der Fälle fand der erste epileptische Anfall im ersten Lebensjahr statt, innerhalb der ersten drei Lebensjahre lag die Rate bereits bei etwa 80 %. Allerdings entwickelten zum Teil auch noch erwachsene Patienten eine Epilepsie, wodurch deutlich wird, dass das Lebenszeitrisko für Epilepsie generell erhöht ist (Chu-Shore et al. 2010; Vignoli et al. 2013). Dabei zeigte sich, dass nach einem ersten Anfall zumeist weitere folgen und es daher sinnvoll sein kann, bereits nach dem ersten epileptischen Ereignis therapeutische Maßnahmen einzuleiten (Chu-Shore et al. 2010).

4.3.3.1 Anfallsformen

Beim TSC wird eine große Vielfalt unterschiedlicher Anfallstypen beobachtet. Oftmals zeigten sich auch bei einem Individuum multiple Anfallsmuster. So konnten Chu-Shore et al. (2010) bei 53 % mindestens zwei Anfallstypen analysieren, wobei Infantile Spasmen (IS) nicht dazugerechnet wurden.

IS werden bei 30-45 % der TSC-Patienten beobachtet (Yeung 2002; Chu-Shore et al. 2010; Vignoli et al. 2013; Overwater et al. 2015). Umgekehrt konnte bei 7-9 % aller Kinder mit IS ein TSC nachgewiesen werden (Bast und Wiemer-Kruel 2014). Somit ist dieses neurokutane

Syndrom eine der häufigsten Ursachen für IS. Verschiedene Untersuchungen zeigten Unterschiede zum klassischen WS auf. Vom klinischen Bild stellten sich IS beim TSC oftmals asymmetrisch dar. Das EEG von TSC-Patienten mit typischem klinischem Anfallsmuster zeigt zu Beginn oftmals noch keine Hypsarrhythmie, sondern fokale oder multifokale Veränderungen mit einer Tendenz zur Generalisierung und erst im Verlauf entweder eine Hypsarrhythmie oder hypsarrhythmie-ähnliche Korrelate. In Video-EEG-Untersuchungen wurden nicht selten vorausgehende subtile fokale, von den Eltern unbemerkte, Anfälle vor Beginn der eigentlichen IS entdeckt. Daneben traten zeitgleich mit IS oder aus diesen hervorgehend fokale Anfälle auf (Holmes et al. 2007; Curatolo et al. 2001). Basierend auf diesen Resultaten wäre eine fokale Anfallsgenerierung mit sekundärer Generalisierung als pathophysiologische Grundlage für die Entstehung von IS denkbar (Curatolo et al. 2001). Zudem wurde in der Literatur der Übergang von generalisierten in fokale Anfälle während des Epilepsieverlaufs für den TSC als typisch beschrieben (Gomez et al. 1988, zitiert aus Kulkantrakorn und Geller 1998).

Fokale Anfälle treten bei TSC-Patienten mit Abstand am häufigsten auf. In einer Studie von Chu-Shore et al. (2010) manifestierten sich diese bei über 90 % der TSC-Patienten, wobei insbesondere dyskognitive Anfälle mit oder ohne sekundäre Generalisierung auftraten. Nur 6 % entsprachen dabei einfach-fokalen Anfällen, welche aber ebenfalls zum Teil eine Generalisierungstendenz aufwiesen. Diese Angaben konnten durch Untersuchungen von Vignoli et al. (2013) bestätigt werden. Generalisierte Anfälle werden deutlich seltener beobachtet und können sich mit den unterschiedlichsten Anfallsmustern von tonisch, klonisch, tonisch-klonisch, atonisch und myoklonisch präsentieren sowie in Form atypischer Absencen äußern. Typische Absencen ließen sich TSC-assoziiert bisher nicht nachweisen (Thiele 2004; Jozwiak et al. 2000; Holmes et al. 2007). 6-8 % aller Epilepsiepatienten mit TSC entwickeln im Verlauf ein Lennox-Gastaut-Syndrom (LGS), wobei Patienten mit vorherigem WS ein erhöhtes Risiko für dieses infantile Epilepsie-Syndrom aufweisen (Vignoli et al. 2013; Chu-Shore et al. 2010).

4.3.3.2 Mechanismen der Epilepsieentstehung beim TSC

Die Relevanz zerebraler Tubera für die Epilepsiegenese beim TSC ist bekannt. Studien, die das Outcome von Patienten nach epilepsiechirurgischen Eingriffen untersuchten, bestätigen, dass die Entfernung von einzelnen Tubera in ausgewählten Fällen eine deutliche Anfallsreduktion oder sogar Anfallsfreiheit bedingen kann (Jansen et al. 2007a; Madhavan et al. 2007). Nach einer Studie von Wong (2008) spielen nicht nur strukturelle Veränderungen eine Rolle. Auch Defekte auf zellulärer und molekularer Ebene beeinflussen den Pathomechanismus von Epilepsien beim TSC. Zudem zeigte sich, dass die vermehrte Stimulation des mTOR-Signalwegs

ebenfalls ein Epilepsiegeschehen fördern kann und mTOR-Inhibitoren hierfür, als eine Art Beweis, positive Effekte in der Behandlung von Epilepsien beim TSC ermöglichen (Krueger et al. 2013b; Wiegand et al. 2013; Zhang et al. 2015). Zhang et al. (2015) untersuchten den Einfluss von proinflammatorischen Faktoren auf die Epileptogenese im TSC-Tiermodell. Dabei ließ sich nachweisen, dass bereits vor Epilepsiebeginn eine erhöhte Aktivität des Zytokins IL-1 β und des Chemokins CXCL10 vorlagen. Eine induzierte Hemmung dieser Mediatoren bewirkte wiederum zum Teil eine Anfallsreduktion.

4.3.3.3 Therapie

Die Behandlung von IS beim TSC erfolgt in der Regel mittels Vigabatrin als Medikament der ersten Wahl (Bast und Wiemer-Kruel 2014), womit ein sehr gutes therapeutisches Ansprechen erzielt und in über 95 % der Fälle zunächst ein Anfallsstopp erreicht werden konnte (Hsieh et al. 2013). Allerdings kam es bei den meisten Kindern im Verlauf zum Rezidiv mit klinisch fokalen oder auch generalisierten Anfällen. In diesen Fällen ließ sich mittels Video-EEG-Monitoring bei fast allen Betroffenen eine fokale Anfallsgenerierung nachweisen (Stephenson 1988, zitiert aus Curatolo et al. 2001). Diese weiteren Anfallstypen waren oftmals deutlich schwieriger zu kontrollieren als die IS selbst. Letztendlich entwickelten etwa 75 % der TSC-Patienten, bei denen auch IS in der Vergangenheit identifiziert wurden, eine therapierefraktäre Epilepsie. IS beim TSC gelten somit als klarer Risikofaktor sowohl für eine Therapieresistenz als auch für die Entwicklung eines Lennox-Gastaut-Syndroms (Chu-Shore et al. 2010).

Die antiepileptische Therapie bei Patienten mit TSC gestaltet sich generell sehr schwierig. In einer Studie von Chu-Shore et al. (2010) galt die Epilepsie bei über 60 % als therapierefraktär, was definiert wurde als unkontrollierte Anfälle nach einem Therapieversuch mit mindestens drei first-line Medikamenten. Bei Patienten mit unzureichender Anfallskontrolle gilt es, frühzeitig ein präoperatives Staging durchzuführen, um die Frage einer möglichen epilepsiechirurgischen Intervention zu klären. Die Erfolgsraten mit postoperativer Anfallsfreiheit lagen in einer Studie von Jansen et al. (2007b) bei 57 %. Insbesondere bei Vorliegen eines sogenannten „leading tuber“, welcher mit dem epileptischen Fokus im EEG korrespondiert, sind vielversprechende Ergebnisse zu erwarten. Weiner et al. (2006) konnten allerdings auch bei TSC-Patienten mit multiplen Tubera und/oder mehreren epileptogenen Foci durch das neue „three stage approach“-Vorgehen in vielen Fällen ein gutes postoperatives Outcome erzielen. Weitere Therapieoptionen stellen die Vagusnervstimulation (VNS) oder eine ketogene Diät dar. An erstere sollte gedacht werden, wenn eine pharmakorefraktäre Epilepsie vorliegt und zudem keine Indikation für einen epilepsiechirurgischen Eingriff besteht (Bast und Wiemer-Kruel 2014). Die

ketogene Diät scheint die Epilepsie in unterschiedlichem Ausmaß in Abhängigkeit vom zugrundeliegenden Syndrom positiv zu beeinflussen. Die Tatsache, dass diese Therapieoption auch in den mTOR-Signalweg eingreift und diesen blockiert, erklärt möglicherweise die guten Ergebnisse, die bei TSC-Patienten damit erzielt werden konnten (Bast und Wiemer-Kruel 2014; McDaniel et al. 2011; Kossoff et al. 2005).

Aufgrund der pathophysiologischen Kenntnisse beschäftigt sich die aktuelle Forschung derzeit mit dem Einsatz von mTOR-Inhibitoren als neuen Therapieansatz. Zunächst wurden diese mTOR-Inhibitoren zur Therapie bei Riesenzellastrozytomen (SEGAs) und renalen Angiomyolipomen offiziell zugelassen. Dabei ließen sich zumeist auch positive Auswirkungen auf die Epilepsie beobachten (Franz et al. 2013), was zu individuellen Heilversuchen bei therapieresistenten Epilepsien und zu offiziellen Studien führte. Die Ergebnisse zeigten den direkten Nutzen von mTOR-Inhibitoren auf die Anfallskontrolle im Sinne einer deutlichen Anfallsreduktion bis hin zur Anfallsfreiheit (Wiegand et al. 2013; Krueger et al. 2013b). Die internationale, multizentrische, randomisierte, placebokontrollierte Phase-III-Studie (EXIST III) konnte durch Everolimus (mTOR-Inhibitor) eine signifikante Reduktion hinsichtlich der Anfallsfrequenz bei TSC-Patienten nachweisen. Auf Grundlage der Ergebnisse dieser Studie erfolgte am 31. Januar 2017 durch die Europäische Kommission die Zulassungserweiterung für Novartis Votubia® (Everolimus) um die Begleittherapie von therapieresistenten fokalen epileptischen Anfällen mit und ohne sekundärer Generalisierung bei TSC-Patienten ab dem Alter von zwei Jahren (Novartis Media Relations 2017). Somit ist der Einsatz von mTOR-Inhibitoren beim TSC als Paradebeispiel der personalisierten Medizin („Precision Medicine“) zu nennen.

4.3.4 Epilepsie und Genetik als prognostische Faktoren für Entwicklung und Verlauf

Dieser Abschnitt beschränkt sich auf Erläuterungen zu Phänotyp-Genotyp-Korrelationen, welche im Zusammenhang mit Entwicklung und Epilepsie beim TSC stehen.

Relevante genetische Ursachen zur Beschreibung von Phänotyp-Genotyp-Korrelationen herauszufiltern ist nicht einfach und wird durch das enorme Mutationsspektrum sowie durch das Vorhandensein zweier krankheitsverursachender Gene zusätzlich erschwert. Dank umfangreicher Forschungsprojekte ließen sich jedoch einige genetische Merkmale als wichtige prognostische Faktoren für Entwicklung und Verlauf identifizieren. Zunächst einmal ließ sich beobachten, dass Patienten mit *TSC2*-Mutationen in der Regel eher schwere klinische Manifestationen

der Erkrankung, z.B. in Hinblick auf Epilepsie, kognitive Defizite und Verhaltensauffälligkeiten, aufwiesen, während die Symptome bei Patienten mit Veränderungen im *TSC1*-Gen häufig nur milde ausgeprägt waren (Monteiro et al. 2014).

Während im Rahmen von *TSC1*-Gendefekten nur bei 20 % der Betroffenen intellektuelle Defizite bzw. eine mentale Retardierung mit einem IQ unter 70 beschrieben wurden, betrug der Anteil bei *TSC2*-Mutationen etwa 50 % (Curatolo et al. 2015). Dabei scheint die Lokalisation des Defekts innerhalb des Gens nicht unwichtig zu sein. Führt eine Mutation in *TSC2* zu einem proximal lokalisierten Abbruch der Proteinbiosynthese und damit zu einem deutlich verkürzten Genprodukt, so zeigten die Betroffenen stärkere kognitive Defizite als Patienten mit distal trunkierenden *TSC2*-Mutationen (van Eeghen et al. 2012; Curatolo et al. 2015). Missense-Mutationen in *TSC2* und dabei insbesondere die zentral in Exon 23 bis 33 gelegenen sowie in-frame-Deletionen gingen dahingegen mit einem äußerst milden Verlauf der Erkrankung einher (van Eeghen et al. 2012). Neben *TSC2*-Gendefekten entdeckten Studien aber auch spezifische *TSC1*-Mutationen, welche mit Entwicklungsstörungen und kognitiven Defiziten assoziiert waren. Des Weiteren wiesen Untersuchungen nach, dass Mutationen, welche im Hamartin- bzw. Tuberin-interagierenden Bereich des *TSC1*- bzw. *TSC2*-Gens lokalisiert waren, häufig mit einer Entwicklungsretardierung vergesellschaftet waren (Curatolo et al. 2015).

Die Entwicklung von TSC-Patienten wird außerdem maßgeblich durch assoziierte neuropsychiatrische Erkrankungen beeinflusst. Ob diese einer Phänotyp-Genotyp-Korrelation unterliegen, kann nicht sicher beurteilt werden. Zum einen basieren die Ergebnisse der unterschiedlichen Studien häufig auf nicht standardisierten Testverfahren und lassen somit keinen Vergleich der Daten zu. Zum anderen weisen Epilepsie und mentale Retardierung eine klare Assoziation zu *TSC2*-Mutationen auf, sodass unklar bleibt, inwieweit die erhöhte Prävalenz von z.B. Autismus bei *TSC2*-Gendefekten genetisch begründet ist oder eher als Folge der Epilepsie bzw. der Entwicklungsstörung gewertet werden sollte. Außerdem ist im Rahmen einer mentalen Retardierung, wie sie häufiger bei *TSC2*-Mutationen zu finden ist, die Diagnosestellung von psychiatrischen Erkrankungen erschwert. Angststörungen wurden vermehrt bei *TSC1*-Mutationen beschrieben, während in mehreren Studien ADHS und Depression häufiger im Zusammenhang mit *TSC2*-Gendefekten benannt wurden (Curatolo et al. 2015).

Verschiedene Studien, die Phänotyp-Genotyp-Korrelationen im Hinblick auf die Epilepsie beim TSC untersuchten, wiesen eine signifikante positive Korrelation von *TSC2*-Mutationen und dem Auftreten epileptischer Anfälle nach. Diese betraf dabei nicht nur die Prävalenz, sondern auch den Schweregrad von Epilepsien. So zeigte sich, dass bei einer zugrundeliegenden

TSC2-Mutation die Epilepsie in der Regel früher begann, Therapieversuche häufiger erfolglos blieben und die Epilepsie somit als therapierefraktär klassifiziert werden konnte (Curatolo et al. 2015; Chu-Shore et al. 2010). Eine Ausnahme betrifft die bereits weiter oben angesprochenen zentralen Missense-Mutationen, welche mit einem erniedrigten Risiko für zerebrale Anfälle einhergingen (van Eeghen et al. 2013b). Was für Epilepsien allgemein im Zusammenhang mit *TSC2*-Mutationen gilt, gilt ebenso für IS als spezifische Anfallsform. Diese münden ebenfalls häufig in einer refraktären Epilepsie und weisen zudem nicht selten Komorbiditäten mit neuropsychiatrischen Störungsbildern sowie Lernschwierigkeiten und mentaler Retardierung auf (Vignoli et al. 2013; Lee et al. 2014; Chu-Shore et al. 2010). Dabei sollte nicht außer Acht gelassen werden, dass Studien eine signifikante positive Korrelation zwischen Epilepsie bzw. IS und der Anzahl intrazerebraler Tubera nachwiesen (Chu-Shore et al. 2010; Shepherd et al. 1995; O'Callaghan et al. 2004). Spezifische zystische Formationen der Tubera, welche mit einem besonders aggressiven Epilepsieverlauf in Verbindung gebracht werden konnten, ließen sich bisher nur bei *TSC2*-Defekten nachweisen. Des Weiteren traten subependymale Knoten vermehrt bei *TSC2*-Mutationen auf und zeichneten sich dann auch oftmals durch läsionelle Größenprogredienz aus. Diese Dynamik führt nicht selten zur Bildung von Riesenzellastrozytomen, welche letzten Endes eine signifikant erhöhte positive Korrelation mit Morbidität und Mortalität aufweisen (Curatolo et al. 2015). Nach Studienlage kann die Mutation Hinweise auf den Verlauf der Erkrankung bezüglich Entwicklung und Epilepsie geben. Es sollte aber betont werden, dass in einer Familie mit mehreren TSC-Erkrankten bei ein und derselben zugrundeliegenden Mutation unterschiedlich schwere Krankheitsausprägungen und -verläufe vorkommen (Curatolo et al. 2015). Die Genetik bildet nur einen Teilaspekt eines multifaktoriellen Systems ab, welches in seiner Gesamtheit und Komplexität die Dynamik und phänotypische Schweregradausprägung des TSC beeinflusst.

4.4 Fragestellung und Zielsetzung der Arbeit

Die Prävalenz für Epilepsie bei NF1 und beim TSC ist gegenüber der Normalbevölkerung deutlich erhöht. Die Zielsetzung der Arbeit bestand daher darin, diese beiden häufigsten neurokutanen Syndrome, die NF1 und den TSC, im Hinblick auf die Epilepsie gemeinsam anhand des Kollektivs am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, aufzuarbeiten. Zentrale Aufgabe war es, die Prävalenz für Epilepsie zu ermitteln und die Epilepsieverläufe hinsichtlich Alter bei Beginn der Epilepsie, Remission(en) und Rezidiv(en) sowie anhand der Anfallsmuster

genauer zu beschreiben. Zudem sollte die medikamentöse antiepileptische Therapie mit aufgenommen werden, um Aussagen bezüglich eines Therapieansprechens bzw. einer Therapieresistenz treffen zu können.

Für die Epilepsie beim TSC zeichneten sich zum Zeitpunkt der Erhebung neue Therapieoptionen für Patienten mit therapieschwierigen Epilepsien ab. Das Immunsuppressivum Everolimus mit seinem Eingreifen in den mTOR-Mechanismus wies auf vielversprechende Therapieerfolge hin, sodass eine Studie aufgelegt wurde (EXIST 3 Studie), an der auch die Neuropädiatrie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, beteiligt war. Somit bestand eine weitere Aufgabe der vorliegenden Arbeit darin, potentielle Patienten für diese neuartige Therapie zu rekrutieren.

Im Gegensatz zum TSC blieben bei NF1 bisherige Bemühungen, Ursachen, Risikofaktoren sowie spezifische Anfallsmuster von Epilepsien zu beschreiben erfolglos. Vielmehr bestätigten verschiedene Studien das äußerst heterogene Bild epileptischer Anfälle bei NF1. Somit ist NF1 zwar das häufigste neurokutane Syndrom, zugleich aber in Bezug auf Epilepsie die am schlechtesten verstandene Phakomatose.

Auch genetische Aspekte im Sinne einer Phänotyp-Genotyp-Korrelation bezüglich der Epilepsie sollten Beachtung finden. Ein besonderes Augenmerk lag dabei auf dem West-Syndrom, welches bei den beiden Erkrankungen sehr unterschiedliche Merkmale aufweist. Eine zentrale Aufgabe war dabei, herauszufinden, ob genetische Faktoren bei der Entstehung des WS eine Rolle spielen. In der NF1-Kohorte sollten nicht nur *NF1*-Gendefekte Beachtung finden, sondern auch mögliche sekundäre genetische Faktoren bzw. assoziierte Epilepsiegene identifiziert werden. Um letztere Frage zu klären, sollte bei Vorliegen eines WS bei NF1 das Next-Generation Sequencing (NGS) beim Probanden und seinen Eltern, eine sogenannte Trio-Exom-Diagnostik, durchgeführt werden.

Als weiterer Punkt sollte untersucht werden, ob und wenn ja, in wie weit Epilepsie bei NF1 bzw. beim TSC die Entwicklung der Kinder und damit auch deren Prognose beeinflusst.

Daraus ergaben sich im Einzelnen die folgenden Fragestellungen:

1. Wie häufig tritt Epilepsie bei NF1 bzw. beim TSC auf?
2. Wie verläuft die Epilepsie bei NF1 bzw. beim TSC? Kommt es zur Remission? Gibt es Rezidive?
3. Lässt sich ein Zusammenhang zwischen Epilepsie und spezifischen Mutationen im *NF1*-Gen bzw. *TSC1*-/*TSC2*-Gen erkennen?

4. Wie verläuft das WS bei NF1 bzw. beim TSC?
5. Lassen sich mittels NGS zusätzliche Gene detektieren, die für die Epilepsien/das WS bei NF1 eine Bedeutung haben?
6. Beeinflusst das Auftreten epileptischer Anfälle die Entwicklung der Kinder?

5 Methoden

5.1 Patientenkollektiv

Das Kollektiv der vorliegenden Studie bestand aus Patienten, die sich in neuropädiatrischer Betreuung am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, befinden bzw. befanden. Dabei wurden sowohl Mädchen als auch Jungen, die im Zeitraum von 1980 (TSC) bzw. 1990 (NF1) bis 2015 geboren wurden, rekrutiert. Ein weiteres Einschlusskriterium stellte die gesicherte Diagnose einer NF1 (siehe *Tabelle 1*, S.2) oder eines TSC (siehe *Tabelle 2*, S.10) dar.

Die Rekrutierung erfolgte anhand der Datenerfassungs-Informationssysteme Agfa ORBIS und IKIS, wobei Diagnoseschlüssel nach Doose (hausinterne Verschlüsselung), ICDE und ICD als Filterkriterien dienten. Stationäre als auch ambulante Fälle sowie Haupt- und Nebendiagnosen fanden Berücksichtigung. Auf diesem Wege war die Erfassung eines Patientenkollektivs mit 128 Kindern, 76 mit NF1 und 52 mit TSC, möglich. In einem nächsten Schritt erfolgte die Überprüfung der Diagnosekriterien anhand der *Tabelle 1* (S.2) für NF1 und der *Tabelle 2* (S.10) für TSC.

5.1.1 Beschreibung des NF1-Kollektivs

Es erfolgte die Rekrutierung von 76 NF1-Patienten. Einige Patienten wurden entweder aufgrund von fehlerhaften Diagnosekriterien oder falscher Kodierung und/oder fehlender Einwilligung der Patienten bzw. deren Eltern von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Somit bestand die letztendlich analysierte Stichprobe aus $N = 51$ Patienten mit gesicherter NF1. Das Geschlechterverhältnis gestaltete sich relativ ausgeglichen mit 27 Jungen (52,9 %) und 24 Mädchen (47,1 %). Das Alter der Patienten bei Beobachtungsende lag zwischen $1 \frac{9}{12}$ und $24 \frac{8}{12}$ Jahren ($M = 13 \frac{1}{12}$ Jahre, $SD = 6 \frac{9}{12}$ Jahre; $MD = 13 \frac{2}{12}$ Jahre) (siehe *Abbildung 2*). Sieben der 51 NF1-Patienten litten an einer Epilepsie (13,7 %).

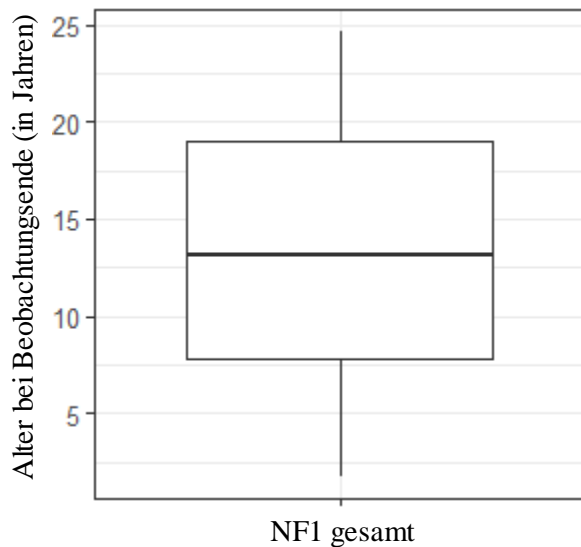


Abbildung 2: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Beobachtungsende, $N = 51$.

5.1.2 Beschreibung des TSC-Kollektivs

Insgesamt wurden 52 Patienten mit TSC erfasst. 17 Patienten wurden aufgrund einer fehlenden Kontaktaufnahme mit den Familien bzw. einer fehlenden Rückmeldung und somit nicht vorhandenen Einwilligung der Patienten oder aufgrund einer nicht bestätigten Verdachtsdiagnose ausgeschlossen. Somit ergab sich eine zu untersuchende Stichprobe von 35 Patienten, bestehend aus 18 Jungen (51,4 %) und 17 Mädchen (48,6 %). Bei Beobachtungsende waren die Patienten zwischen $2 \frac{1}{12}$ und $32 \frac{5}{12}$ Jahren alt ($M = 12 \frac{8}{12}$ Jahre, $SD = 7 \frac{4}{12}$ Jahre; $MD = 11 \frac{6}{12}$ Jahre; siehe *Abbildung 3*). 34 Patienten (97,1 %) waren an Epilepsie erkrankt.

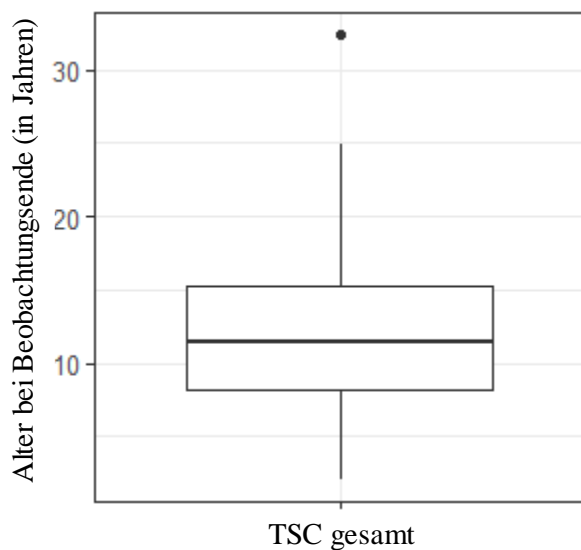


Abbildung 3: Boxplot zum Alter der TSC-Patienten bei Beobachtungsende, $N = 35$.

5.2 Studienablauf

Für die Durchführung der vorliegenden Studie lag ein Ethikvotum vor (Votum-Nummer D448/15 in Bezug auf A115/02 und A116/02). Die Datenerfassung der klinischen Befunde erfolgte bis einschließlich April 2016. Genetische Befunde wurden bis einschließlich März 2017 aufgenommen.

Die Patienten bzw. deren Eltern wurden in schriftlicher Form angeschrieben und erhielten Informationen zum Vorhaben und Ablauf der Studie. Waren die Betroffenen älter als neun Jahre, wurde zusätzlich ein altersgerechtes Anschreiben beigelegt. Des Weiteren umfasste das Schreiben ein Rücksendeformular mit den Kontaktdaten des Patienten, welches zugleich eine Einwilligungserklärung zur Einsicht in die Krankenakte und für die direkte Kontaktaufnahme mit dem Patienten bzw. der Familie enthielt. Außerdem erhielten alle Patienten einen Fragebogen, welcher einen Überblick über verschiedene Aspekte der Erkrankung liefern sollte sowie zwei weitere Einwilligungserklärungen (Anforderung genetischer Befunde, Kontaktaufnahme mit den behandelnden Ärzten und Psychologen). Zudem wurde ein frankierter und adressierter Rücksendeumschlag beigelegt. Die Briefe wurden postalisch an die Patienten versandt. Trat der Fall ein, dass eine Zustellung nicht möglich war und die Briefe an das Universitätsklinikum Kiel zurückkehrten, erfolgte eine Nachverfolgung mittels Melderegisterauskunft beim Einwohnermeldeamt. Daraufhin wurde ein erneuter Zustellversuch an die ermittelte Adresse eingeleitet. blieb eine schriftliche Rückmeldung der Studienteilnehmer aus, wurde versucht, die Patienten bzw. die Familie telefonisch zu erreichen. Aktuelle Telefonnummern fanden sich in der Patientenakte oder im Telefonbuch. Der komplette Fragebogen befindet sich in Anhang C: Fragebögen.

Zur Durchführung der Exomsequenzierung bei NF1 und WS willigten die Patienten bzw. deren Eltern separat ein, danach wurde bei den Patienten sowie beiden Elternteilen (Trio-Analyse) eine Blutprobe entnommen. Nach Analyse der Exomdaten und Identifizierung einer *de novo* Variante in *KCNC2* bei einer einzelnen Patientin erfolgte die Kontaktaufnahme zum Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Zentrum für Neurologie, Universitätsklinikum Tübingen, wo im Folgenden die funktionellen Studien durchgeführt wurden.

5.3 Datenerfassung

5.3.1 Fragebogen

Anhand eines bereits vorhandenen Fragebogens zur Lebensqualität von Epilepsiepatienten (Heinemann 2012) und basierend auf dem bisherigen Wissensstand von NF1 und TSC wurden

Fragen entworfen, die dazu dienten, einen Eindruck über Epilepsie, Entwicklung und Genetik der Betroffenen zu erlangen. Diese schriftliche Datenerhebung umfasste insgesamt 34 Fragen bei NF1 bzw. 37 Fragen beim TSC, welche geschlossen oder offen beantwortet werden sollten. Auch Mehrfachnennungen waren möglich. Durch thematische Gruppierung der einzelnen Fragen ergaben sich sieben Kategorien:

1. Persönliche Daten (sieben Fragen)
2. Epilepsie (elf Fragen bei NF1 bzw. 14 Fragen bei TSC)
3. Entwicklung (fünf Fragen)
4. Verhalten (zwei Fragen)
5. Lebensumfeld (drei Fragen)
6. Familie (vier Fragen)
7. Genetik/Vererbung (zwei Fragen)

Der vollständige Fragebogen ist Anhang C: Fragebögen zu entnehmen.

5.3.2 Erfassung der Diagnosekriterien

Die Diagnosekriterien waren bewusst nicht Inhalt des Fragebogens und wurden aus vorliegenden oder angeforderten Arztbriefen und Befunden entnommen oder im persönlichen Gespräch mit den Patienten bzw. deren Familienangehörigen erfragt. Die Kriterien basierten für NF1 auf den Empfehlungen der NIH Consensus Conference von 1988 (vgl. *Tabelle 1*, S.2) und für den TSC auf den Empfehlungen der Consensus Conference von 2012 (vgl. *Tabelle 2*, S.10). Diese Angaben dienten zugleich der Verifizierung der klinischen Diagnosestellung und damit der Prüfung der Einschlusskriterien. Alle Variablen wurden nominal erfasst (siehe hierzu Abschnitt 5.4).

5.3.3 Erfassung der epilepsiebezogenen Merkmale

Zur Beschreibung des Epilepsieverlaufs wurde das Alter bei Epilepsiebeginn, bei Beginn der Anfallsfreiheit und bei Auftreten von Rezidiven dokumentiert. Zudem wurden auch Remissionsphasen erfasst. Anhaltende Anfallsfreiheit wurde hierbei definiert als Zeitraum von mindestens zwölf Monaten, in welchem kein epileptischer Anfall aufgetreten war. Die Wahl dieses Zeitabschnitts basierte auf Studien, welche zeigen konnten, dass ein mindestens einjähriges epilepsiefreies Intervall die Lebensqualität der Patienten deutlich verbesserte (Kwan et al. 2010a). Anhand der genauen Beschreibung der Anfallsmuster, welche anhand vorliegender Unterlagen einschließlich des Fragebogens oder persönlicher Gespräche erfasst wurden, erfolgte

die Einordnung der Anfälle entsprechend der aktuellen revidierten ILAE- Klassifikation der epileptischen Anfälle (Berg et al. 2010) (siehe *Tabelle 3*).

Tabelle 3: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der International League Against Epilepsy (ILAE) 2010.

Generalisierte Anfälle	Fokale Anfälle	Unbekannt
Tonisch-klonisch (GTKA)	Ohne Einschränkung des Bewusstseins oder der Aufmerksamkeit (früher einfach fokal und Aura)	Epileptische Spasmen
Absence <ul style="list-style-type: none"> - Typisch - Atypisch - Mit spezifischen Merkmalen 	Mit Einschränkung des Bewusstseins oder der Aufmerksamkeit (dyskognitiv, früher komplex fokal)	
Myoklonisch Myoklonisch-atonisch Myoklonisch-tonisch	Mit Entwicklung zu einem bilateralen, konvulsiven Anfall (früher sekundär generalisiert)	
Klonisch		
Tonisch		
Atonisch		

Des Weiteren wurde eine Unterscheidung in eine pharmakosensible und -resistente Epilepsie vorgenommen. Dieser lag der Konsensusvorschlag der ad hoc-Task Force der ILAE-Kommission für therapeutische Strategien zur Definition pharmakoresistenter Epilepsien zugrunde: „Eine pharmakoresistente Epilepsie kann als Versagen von adäquaten Behandlungsversuchen mit 2 vertragenen, geeigneten und angemessen angewendeten Antiepileptika (sei es als Monoder Kombinationstherapie) zur Erzielung einer lang anhaltenden Anfallsfreiheit definiert werden“ (Kwan et al. 2010b; Kwan et al. 2010a). Aufgrund dessen erfolgte eine Kategorisierung der Medikation in vier Gruppen: 1.) Keine Medikation, 2.) 1 Antiepileptikum, 3.) 2 Antiepileptika, 4.) > 2 Antiepileptika. Beim TSC-Kollektiv wurden außerdem weiterführende Behandlungsmaßnahmen wie Epilepsiechirurgie, Vagusnervstimulation, ketogene Diät und der Einsatz von mTOR-Inhibitoren berücksichtigt. Bis auf die Erfassung des Alters, bei Eintritt bestimmter Ereignisse und die Erfassung von Zeitintervallen wurden die Variablen nominal erfasst (siehe hierzu Abschnitt 5.4).

5.3.4 Erfassung der genetischen Befunde

Die schriftlichen Befunde der molekulargenetischen NF1-Diagnostik wurden bei vorliegender Einwilligung der Patienten direkt von den Laboren angefordert. Genetische Ergebnisse des Patienten selbst wurden als „direkter Befundnachweis“ deklariert. Basierten die Befunde hingegen auf Mutationsanalysen, welche bei anderen Familienmitgliedern wie z.B. bei Geschwistern oder Eltern durchgeführt wurden, galten diese als „indirekter Mutationsnachweis“ für den Patienten.

5.3.4.1 Trio Whole Exome Sequencing

Bei Patienten mit NF1 und einem WS wurde nach entsprechender Aufklärung und Einwilligung ein Trio Whole Exome Sequencing (Patient sowie beide Elternteile) durchgeführt. Hierfür wurde dem Patienten und den Eltern EDTA-Blut abgenommen und die DNA mittels QIAamp DNA Blood Maxi Kit nach Spin Protokoll extrahiert (QIAGEN® 2015; S.23-26). Zur Durchführung des Whole Exome Sequencing kam das Nextera Rapid Capture Expanded Exome bei Trio 1 sowie das TruSeq Exome Enrichment v1.2 (TruSeq Rapid Exome Kit) von Illumina bei Trio 2 und 3 zur Anwendung.

Die Analyse und Auswertung der Rohdaten erfolgte mit Hilfe der Exome Pipeline Varbank (<https://varbank.ccg.uni-koeln.de/>). Folgende Filterkriterien dienten einer Vorabselektion der gefundenen Varianten nach Varbank Standardfiltern: allele frequency range 25-100 %, minimal read coverage 6, minimal variation quality 10, GATK best practice min VQSLOD -8, exclude Mpileup only INDELS filter on, maximal number seen in Epilepsy InhouseDB 10, minimal variation frequency 1 %, maximal number seen in Structural InhouseDB 10, cnMops copy number states 0, 1, 3, ExomeDepth copy number states 0, 4, maximal target distance 100, transcript biotypes protein coding, variation locations COMPOSED; GENES; INTRON; CDS, transcript types CCDS; Refseq, variation types DEL; SNP; INDEL; INS, consequence types Medium 5'SS/3'SS effects; Protein structure affected; Strong 5'SS/3'SS effects. Außerdem wurden Filter für *de novo*, homozygote, compound heterozygote sowie X-chromosomale Varianten gesetzt.

Zur Priorisierung der aufgedeckten Genmutationen wurden öffentliche SNP-Datenbanken wie 1000 Genome, dbSNP, Exome Aggregation Consortium (ExAC), Exome Sequencing Project (ESP), Complete Genomics (GC) und Decipher sowie Variantenannotationen mittels Annovar berücksichtigt. Unterschiedliche *in silico* Vorhersageprogramme (PolyPhen (PPH), Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT), Mutation Taster, Combined Annotation Dependent Depletion

(CADD) -Scores (CADD phred score) und Residual Variation Intolerance Score (RVIS)) wurden genutzt.

Die Auswahl relevanter Gene erfolgte auf Grundlage ihrer Funktion, dem Ausmaß ihrer Expression im Gehirn und ihrer Relevanz bezüglich Entwicklungsstörungen und Epilepsien anhand des aktuellen Kenntnisstandes der Literatur.

Der erste Schritt zur Selektion epilepsierelevanter Gene basierte auf dem Ausschluss derjenigen Gene, welche nicht oder nur sehr gering im Gehirn exprimiert werden, gemessen an einer TPM (Transcripts Per Million), bezogen auf den HPA (Human Protein Atlas, <https://www.proteinatlas.org/>) von < 10. Des Weiteren erfolgte der Ausschluss heterozygoter Varianten, welche von den Eltern vererbt wurden, da bei keinem Patienten ein Elternteil an Epilepsie litt und daher eine Epilepsierelevanz dieser Gene unwahrscheinlich ist. Varianten, welche in den Populationsdatenbanken 1000 Genome oder ExAC aufgeführt waren, wurden ebenfalls nicht weiter beachtet. Bezüglich der Pathogenität der nachgewiesenen Varianten wurden nur solche mit einem CADD phred score > 10 näher analysiert.

5.3.5 Funktionelle Studien

Zum Nachweis von funktionellen Auswirkungen der identifizierten *de novo* Variante in *KCNC2* wurden Funktionsanalysen in *Xenopus laevis* Oozyten am Hertie-Institut für klinische Hirnforschung der Universität Tübingen von Niklas Schwarz unter der Leitung von Prof. Yvonne Weber durchgeführt. *Xenopus laevis* Oozyten haben als heterologes Expressionssystem den Vorteil, dass sie das Protein selbst nicht exprimieren und somit die funktionellen Auswirkungen spezifischer Genvarianten durch elektrophysiologische Untersuchungen direkt gemessen werden können.

Die Firma GenScript USA Inc. stellte den Vektor pcDNA3.1 mit dem eingefügten *KCNC2* Wildtyp bzw. mit dem mutierten Klon (c.G499T, p.D167Y) zur Verfügung. Es erfolgte eine Validierung durch erneute Sequenzierung der cDNA (Wildtyp und Mutant). Die Herstellung der cRNA erfolgte mit Hilfe des SP6 mMessage Kits von Ambion. Die *Xenopus laevis* Oozyten wurden von Ecocte Bioscience in Dortmund angefordert und mit Kollagenase (1 mg/ml CLSII Kollagenase, Biochrom, Berlin) in OR2-Lösung (82.5 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 1 mM MgCl₂ und 5 mM HEPES, pH 7.5) behandelt, dreimalig gewaschen und bei 16 °C in Barth-Lösung (88 mM NaCl, 2.4 mM NaHCO₃, 1 mM KCl, 0.33 mM Ca(NO₃)₂, 0.41 mM CaCl₂, 0.82 mM MgSO₄ und 5 mM Tris-HCl, pH 7.4 mit NaOH) mit einem Zusatz von 50 µg/ml Gentamicin (Biochrom) gelagert. Zum Vergleich der Ionenströme von Wildtyp und Mutant wurden 70 nl

cRNA (*KCNC2*-Wildtyp oder mutierte cRNA in einer Konzentration von 1 µg/µl) am selben Tag unter Verwendung von Robocyte 2 (Multi Channel Systems, Reutlingen) in Oozyten mit derselben Chargennummer injiziert. Daraufhin wurden die Oozyten 5 Tage bei 17 °C inkubiert, bevor die experimentellen Messungen gestartet wurden. Die Kaliumströme wurden bei Raumtemperatur (20-22 °C unter Verwendung des Robocyte 2 (Multi Channel System) gemessen. Für die Untersuchungen mittels Patch-Clamp-Technik (two-electrode voltage-clamp, TEVC) wurden zwei Glaselektroden, welche eine Lösung aus 1 M KCl und 1,5 M Kaliumazetat enthielten, in die Oozyten gestochen. Der Widerstand der Messelektroden lag bei 0,4–1 MΩ, das vorgegebene Potential betrug –80 mV. Die Oozyten wurden mit einer ND96 Bad-Lösung (93,5 mM NaCl, 2 mM KCl, 1,8 mM CaCl₂, 2 mM MgCl₂ und 5 mM HEPES; pH 7,6) perfundiert. Die Messungen wurden mit einer Abtastrate von 6 kHz durchgeführt.

5.3.6 Erfassung der Entwicklungs- und Verhaltensvariablen

Die Entwicklung der Patienten wurde anhand des schulischen und beruflichen Werdeganges erfasst, basierend auf dem Fragebogen, Arztbriefen und persönlichen Gesprächen. Es liegen nicht für alle Patienten testpsychologische Untersuchungen vor. Die Variablen „Integrationsplatz“ und „Schulbegleitung“ wurden unter der Bezeichnung „sonderpädagogische Fördermaßnahmen“ zusammengefasst. Hiervon wurden die „Förderschwerpunkte“ abgegrenzt, welche explizit als solche benannt wurden. Sonderpädagogische Fördermaßnahmen und Förderschwerpunkte wurden gemeinsam als „sonderpädagogischer Förderbedarf“ definiert. Des Weiteren wurden Variablen zur Erfassung neuropsychologischer und motorischer Defizite sowie psychosozialer Probleme erfasst. Grundlage bildeten ebenfalls der Fragebogen, Arztbriefe oder persönliche Gespräche mit den Familien und nicht neuropsychologische Testungsergebnisse. Hierbei sei erwähnt, dass das Vorliegen einer Pflegestufe nach damaligen Richtlinien die Pflegestufe 0-3 erfasste. Für genauere Angaben sei auf den Fragebogen in Anhang C: Fragebögen verwiesen. Alle Variablen wurden nominal erfasst (siehe Abschnitt 5.3.2).

5.4 Statistische Auswertungsverfahren

Die statistischen Analysen und die Erstellung von Graphiken und Diagrammen basierten auf der Verwendung des Statistikprogramms *IBM SPSS Statistics 21* (IBM SPSS Statistics for Windows 2012) und Microsoft Office Excel 2016.

Dichotome Variablen wurden mit 1 bei Vorliegen und mit 0 bei Fehlen eines klinischen Merkmals kodiert. Nominale Variablen wurden durch die Ziffern 0 bis 7 kodiert, nicht vorhandene

Daten und fragliche Fälle wurden als fehlende Werte deklariert. Die entsprechende Datenanalyse erfolgte mit Hilfe von Häufigkeitsberechnungen und Kreuztabellen der deskriptiven Statistik und dem exakten Test nach Fisher als geeignetes Testverfahren bei kleinen Stichproben. Die Verhaltensvariablen, im Fragebogen unter Punkt 4 erfasst, wurden auf ihre Korrelation untereinander geprüft. Hierfür erfolgte die Berechnung des ϕ -Koeffizienten, welcher bei zwei nominalen, dichotomen Variablen als Sonderform des Cramérs V für 2x2 Kontingenztabelle auch bei kleinen Stichproben verwendet werden kann (Bortz und Schuster 2010). Der Kaplan-Meier-Schätzer und die Cox-Regression kamen im Rahmen von Ereigniszeitanalysen zur Anwendung. Das Signifikanzniveau wurde auf 5 % festgelegt.

6 Ergebnisse

6.1 Vorbereitende Prüfung der Daten

6.1.1.1 Überprüfung auf fehlende Werte und die Notwendigkeit von Kontrollvariablen beim NF1-Kollektiv

Fehlende Werte wurden registriert. Hierzu zählten Daten, die unbeantwortet blieben. Auch Fälle, bei denen keine exakte Zuordnung entsprechend der nominalen Wertelabels von Variablen erfolgte (z.B. fragliche Neurofibrome) sowie Fälle, bei denen aufgrund fehlender adäquater Untersuchungsmethoden keine Beantwortung möglich war (z.B. Frage nach dem Vorliegen von Optikusgliomen ohne erfolgte MRT-Untersuchung), wurden als fehlend erfasst. Daraus ergab sich eine unterschiedliche Anzahl fehlender Werte für die einzelnen Variablen. Alle Berechnungen basierten daher jeweils auf n = vorhandene und eindeutig beantwortete Daten. Diese Rohdaten sind in *Tabelle A 1: Fehlende Werte der einzelnen NF1-Variablen* (Anhang A: Tabellen) aufgelistet.

Für etwas mehr als die Hälfte des Patientenkollektivs lag ein ausgefüllter Fragebogen vor (29 Patienten bzw. 56,9 %). Während dabei in 23 Fällen der Patient bzw. die Familie selbst den Fragebogen ausfüllte, erfolgte bei sechs Patienten ein telefonisch oder persönlich geführtes Interview, im Rahmen dessen die einzelnen Fragen des Fragebogens gestellt werden konnten. Obwohl darauf geachtet wurde, im telefonischen Gespräch lediglich die Fragen gezielt und ohne weiterführende Erklärungen zu stellen, ist nicht auszuschließen, dass diese Situation die

Beantwortung der Fragen beeinflusste. Daher wurden die beiden Gruppen (Fragebogen schriftlich vs. Interview) miteinander verglichen und mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher geprüft. Hierbei zeigte sich bei keiner Variablen ein signifikanter Unterschied ($p > .050$). Von den restlichen 22 Patienten (43,1 %) lag kein Fragebogen vor. Alleinige Grundlage für die erfassten Daten bildete in diesen Fällen die Einsicht in die Patientenakte und/oder das persönliche Gespräch.

6.1.1.2 Überprüfung auf fehlende Werte und die Notwendigkeit von Kontrollvariablen beim TSC-Kollektiv

Die fehlenden Werte wurden für die TSC-Patienten ebenso wie für das NF1-Kollektiv erfasst. Daher sei an dieser Stelle auf die genaue Ausführung im vorherigen Abschnitt verwiesen, welche sich exakt auf die TSC-Kohorte übertragen lässt (siehe Abschnitt 6.1, Seite 28). Die fehlenden Werte für die einzelnen Variablen finden sich in tabellarischer Form im Anhang A (siehe *Tabelle A 2*).

Der Fragebogen lag von insgesamt 25 Patienten mit TSC (71,4 %) vor, wovon 22 schriftlich (62,9 %) und drei telefonisch (8,6 %) ausgefüllt worden waren. Die Angaben von den restlichen zehn Patienten (28,6 %) basierten rein auf Informationen aus der Krankenakte und/oder dem persönlichen Gespräch mit den Patienten bzw. Familien. Diese Methode wurde ergänzend auch bei allen Patienten mit Fragebogen angewendet. Ebenso wie beim NF1-Kollektiv ergab der exakte Test nach Fisher für keine Variable einen signifikanten Unterschied ($p > ,050$) in Hinblick auf die Art der Datenerfassung, sodass diese für die folgenden Analysen und Berechnungen nicht berücksichtigt werden musste.

6.2 Ergebnisse bei Neurofibromatose Typ 1 (NF1)

6.2.1 Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien

Erstdiagnose. Der Zeitpunkt der Erstdiagnose für NF1 lag in der Gesamtkohorte ($N = 51$ Patienten) zwischen dem ersten Lebensmonat und 17 10/12 Jahren ($M = 4 \frac{1}{12}$ Jahre, $MD = 2$ Jahre). Der Vergleich der Untergruppen familiäre vs. sporadische NF1 sowie NF1 mit vs. ohne Epilepsie zeigte, dass die Diagnose bei familiärer NF1 ($M = 3 \frac{2}{12}$ Jahre, $MD = 1 \frac{3}{12}$ Jahre) sowie auch bei Kindern mit zusätzlicher Epilepsie ($M = 1 \frac{6}{12}$ Jahre, $MD = 1 \frac{5}{12}$ Jahre) deutlich früher gestellt wurde (vgl. *Abbildung 4* und *Abbildung 5*).

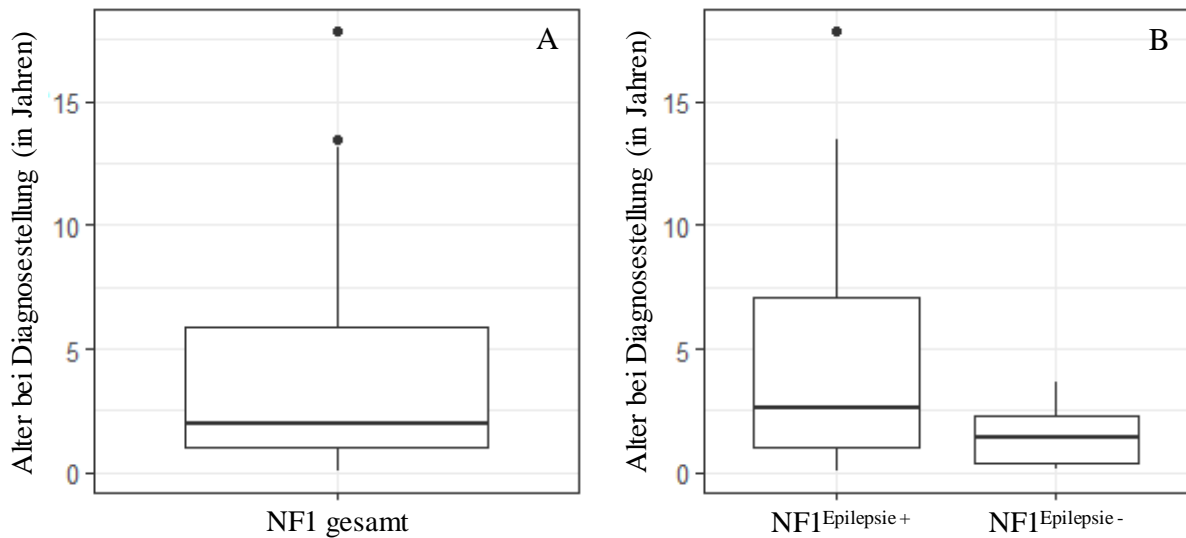


Abbildung 4: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der NF1-Patienten, $N = 51$. B: Vergleich von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten (Epilepsiepatienten: $n = 7$, $M = 1 \frac{6}{12}$ Jahre, $MD = 1 \frac{5}{12}$ Jahre. Nicht-Epilepsiepatienten: $n = 42$, $M = 4 \frac{7}{12}$ Jahre, $MD = 2 \frac{7}{12}$ Jahre).

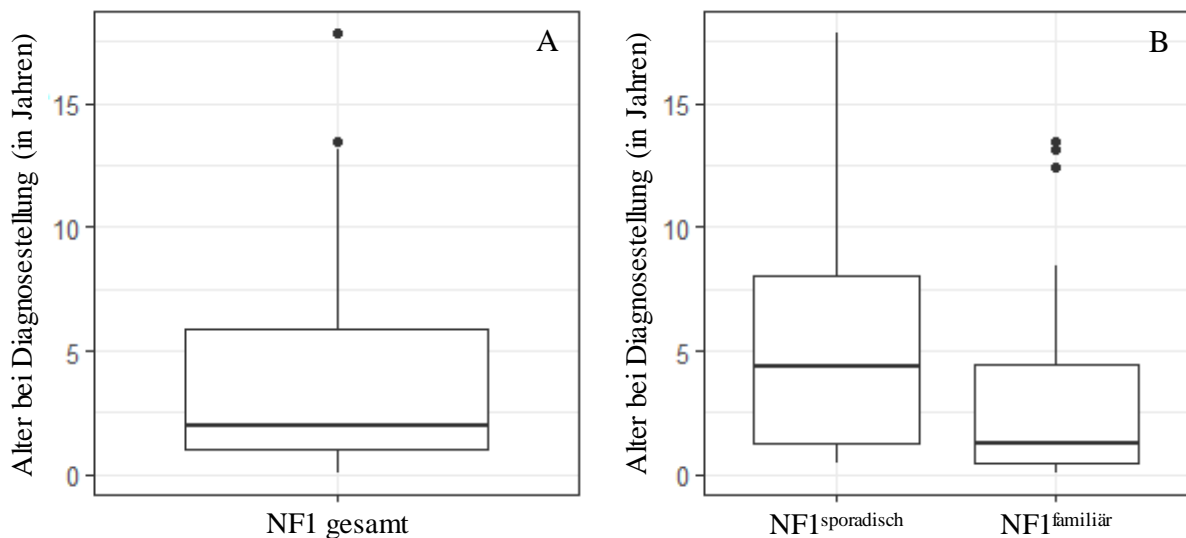


Abbildung 5: Boxplot zum Alter der NF1-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der NF1-Patienten, $N = 51$. B: Vergleich von sporadischer und familiärer NF1 (familiäre NF1: $n = 28$, $M = 3 \frac{2}{12}$ Jahre, $MD = 1 \frac{3}{12}$ Jahre. Sporadische NF1: $n = 21$, $M = 5 \frac{4}{12}$ Jahre, $MD = 4 \frac{4}{12}$ Jahre).

Diagnosekriterien. Zur näheren Beschreibung der Stichprobe wurden die Punktprävalenzen der einzelnen NIH-Diagnosekriterien erfasst und die prozentualen Häufigkeiten berechnet. Diese stellen dar, wie oft die einzelnen klinischen Merkmale in der Gesamtkohorte auftraten (siehe Abbildung 6). In Abbildung 7 sind die prozentualen Häufigkeiten der klinischen Merkmale von Epilepsiepatienten im Vergleich zu Nicht-Epilepsiepatienten dargestellt.

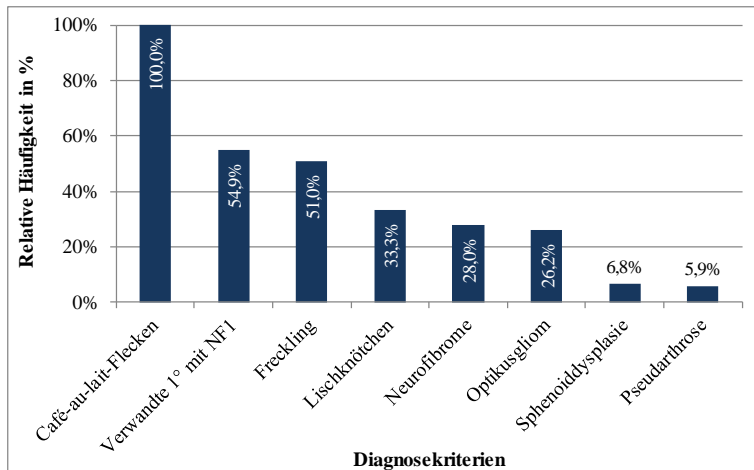


Abbildung 6: Prozentuale Häufigkeiten der einzelnen NIH-Diagnosekriterien, N = 51 Patienten.

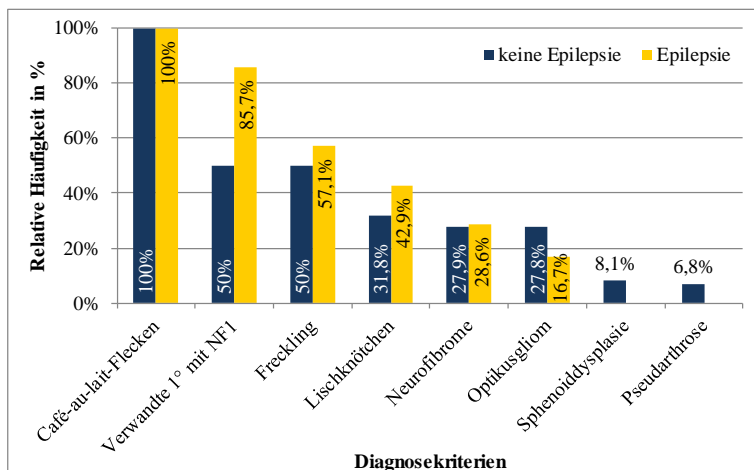


Abbildung 7: Prozentuale Häufigkeiten der einzelnen NIH-Diagnosekriterien mit Unterteilung in NF1 mit Epilepsie (n = 7) und NF1 ohne Epilepsie (n = 44).

6.2.2 Analyse epileptischer Anfälle bei NF1

6.2.2.1 Prävalenz und Erstmanifestation

Eine gesicherte Epilepsie lag bei sieben von 51 Patienten (13,7 %), darunter vier Jungen und drei Mädchen, vor. Das Erstmanifestationsalter epileptischer Anfälle lag zwischen dem ersten Lebensmonat und 19 11/12 Jahren (M = 7 8/12 Jahre, MD = 3 7/12 Jahre) (vgl. *Abbildung 8*). Bei weiteren drei Patienten bestand in früheren Jahren der Verdacht auf eine Epilepsie, welcher jedoch im Verlauf nicht bestätigt werden konnte. Daher flossen diese nicht in die weiterführende Analyse epileptischer Anfälle ein. Eine familiäre Komponente für Epilepsie lag in zwei Fällen vor, wobei es sich bei diesen um ein Geschwisterpaar innerhalb der Studie handelte.

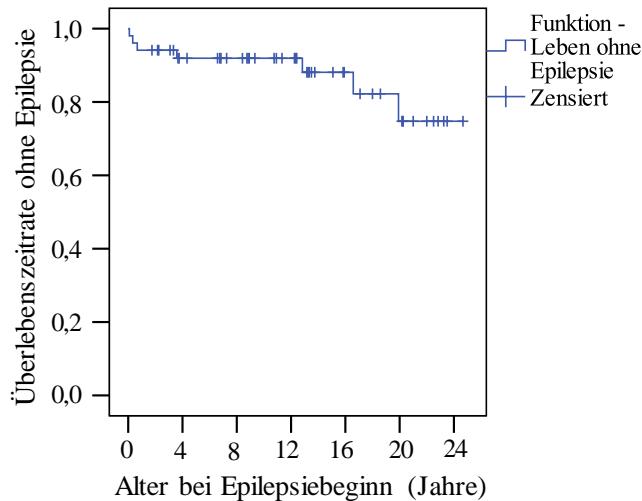


Abbildung 8: Überlebenszeitrate ohne Epilepsie bei NF1, $N = 51$. Das Ereignis ist dabei definiert als erster epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Epilepsie.

6.2.2.2 Anfallsformen und Epilepsieklassifikation

In *Abbildung 9* sind die Epilepsieprävalenz des Patientenkollektivs sowie die Klassifikation der Epilepsien graphisch dargestellt. Bei drei Patienten trat das WS mit dem typischen EEG-Korrelat einer Hypsarrhythmie auf. Zwei Patienten wiesen eine genetisch generalisierte Epilepsie, eine Juvenile myoklonische Epilepsie (JME) und eine Epilepsie mit generalisiert tonisch-klonischen Anfällen (GTKA), auf. Die beiden nicht-klassifizierbaren Epilepsien waren vermutlich fokaler Genese mit sekundärer Generalisierung. Dabei traten bei einem Patienten sowohl generalisierte als auch fokale Anfälle auf, bei dem anderen Patienten wurden anamnestisch nur generalisierte Anfälle (GTKA) bei sowohl fokalen als auch generalisierten EEG-Veränderungen beschrieben.

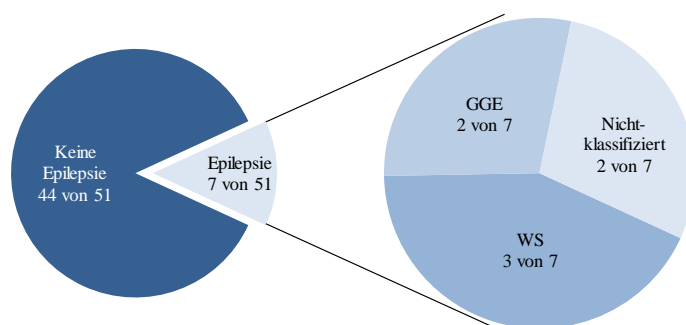


Abbildung 9: Prävalenz von Epilepsien bei NF1 und Klassifikation der Epilepsien mit Unterteilung in GGE/IGE = Genetisch/ Idiopathisch Generalisierte Epilepsie, WS = West-Syndrom und Nicht klassifizierte Epilepsie. $N = 51$.

In *Abbildung 10* sind die erfassten Anfallsmuster der Klassifikation der ILAE 2010 zugeordnet. Da die Patienten z.T. verschiedenartige epileptische Anfälle aufwiesen, entspricht die Summe innerhalb der Graphik nicht der Anzahl an Epilepsiepatienten ($n = 7$). So entwickelte z.B. ein Patient mit WS (Anfallstyp = IS) im Verlauf eine nicht-klassifizierte Epilepsie mit diskognitiven und sekundär generalisiert tonisch-klonischen Anfällen. Anhand dieser Ergebnisse konnte kein spezifischer Anfallstypus eruiert werden. Es ließen sich sowohl fokale als auch generalisierte Anfallsmuster beobachten (klinisch), letztere entweder als primäre oder als sekundäre Generalisierung.

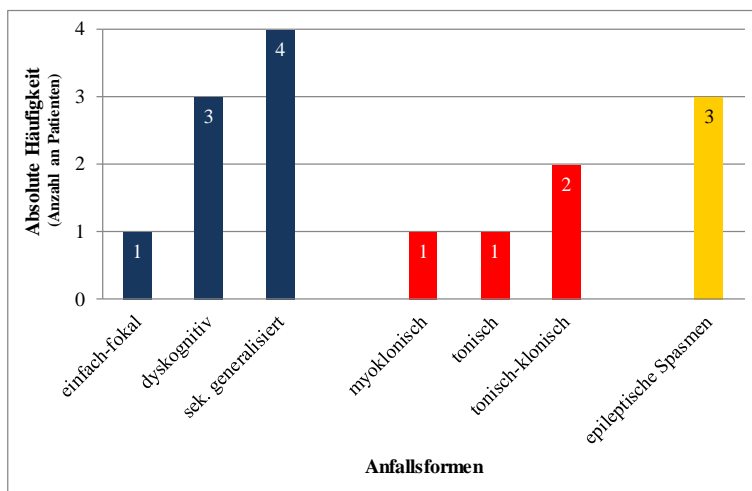


Abbildung 10: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der ILAE von 2010. Die Summe der verschiedenen Anfallstypen entspricht nicht der Anzahl an Epilepsiepatienten ($n = 7$), da bei einigen Patienten verschiedene Anfälle beobachtet werden konnten. Einfach-fokal = fokal ohne Bewusstseinsstörung, diskognitiv = fokal mit Bewusstseinsstörung, sek. generalisiert = sekundär generalisiert. Fokale Anfälle: einfach-fokal, diskognitiv, sekundär generalisiert. Generalisierte Anfälle: myoklonisch, tonisch, tonisch-klonisch. Unklassifizierte Anfälle: Epileptische Spasmen.

6.2.2.3 Bildgebung im Hinblick auf Epilepsie

Die vorliegenden Befunde der zerebralen Bildgebung aller sieben Patienten lieferten keine Erklärung, die der Entstehung von epileptischen Anfällen zugrunde liegen könnte. Es zeigten sich diesbezüglich keine relevanten strukturellen Läsionen. Myelinvakuolisierungen zeigten sich bei vier von sieben Epilepsiepatienten (57,1 %), waren aber auch bei 21 Nicht-Epilepsiepatienten (56,8 %) nachweisbar. An dieser Stelle ist anzumerken, dass bei einer Patientin mit WS zu Beginn der Anfälle nur eine Schädelsonographie sowie eine CT durchgeführt wurden, zerebrale MRT-Untersuchungen erfolgten erst im weiteren Krankheitsverlauf nach erreichter Anfallsfreiheit. Diese MRT-Befunde lagen nicht vor. Somit lässt sich ein epileptogener Fokus bei dieser Patientin nicht sicher ausschließen.

6.2.2.4 Therapieansprechen

Zur genaueren Darstellung des Epilepsieverlaufes wurden sowohl Remissionen als auch Rezidive bei den sieben Epilepsiepatienten erfasst (vgl. *Abbildung 11*).

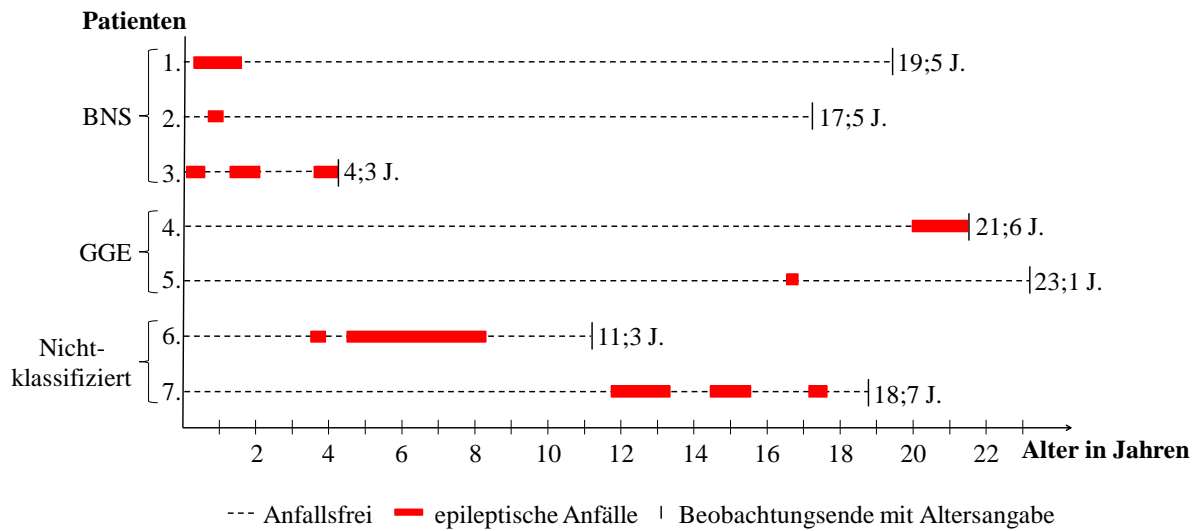


Abbildung 11: Individueller Epilepsieverlauf der sieben Patienten von Geburt bis Beobachtungsende.

Das Anfallsintervall, entsprechend dem Zeitraum vom Epilepsiebeginn bis zum Beginn der zuletzt eingetretenen anhaltenden Anfallsfreiheit bzw. bis zum Beobachtungsende, lag zwischen drei Monaten und 4 9/12 Jahren ($M = 2 \frac{5}{12}$ Jahre, $SD = 2$ Jahre, $MD = 1 \frac{7}{12}$ Jahre; vgl. *Abbildung 12*).

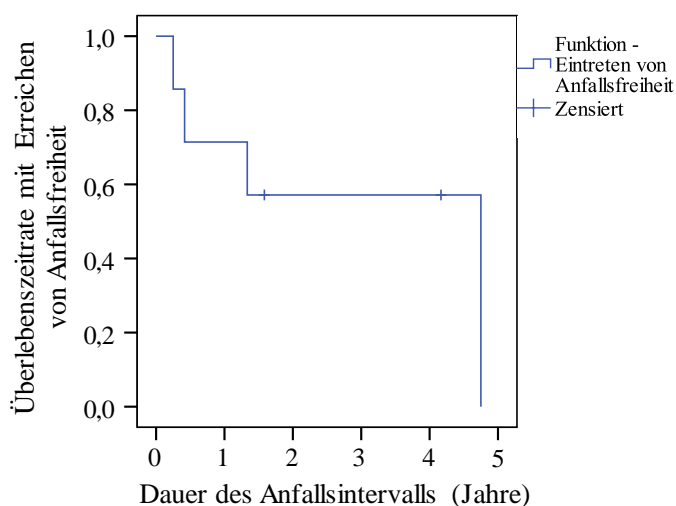


Abbildung 12: Überlebenszeitrate mit der Wahrscheinlichkeit, anhaltend anfallsfrei zu werden, bei NF1. Das Ereignis ist dabei definiert als letzter epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Anfallsfreiheit.

Bei Beobachtungsende bestand in fünf Fällen Anfallsfreiheit. Diese konnte in zwei Fällen durch eine Monotherapie und in drei Fällen durch eine Kombinationstherapie von zwei Medikamenten erreicht werden. Bei Beobachtungsende erhielten noch vier dieser Patienten eine antikonvulsive Monotherapie, ein Patient nahm keine Antiepileptika mehr ein. Damit konnte die Epilepsie dieser fünf Patienten als pharmakosensibel eingestuft werden. Bei einer Patientin traten zuletzt Anfälle mehrmals pro Woche, teilweise auch mehrmals täglich auf. Eine weitere Patientin war seit Epilepsiebeginn nicht anfallsfrei geworden. Anfälle traten noch mit einer Frequenz von ungefähr einem Anfall pro Monat auf. Es bestand eine medikamentöse Monotherapie. Bei den beiden letztgenannten Patientinnen konnte bei Beobachtungsende keine klare Bewertung der Epilepsie bezüglich Therapieansprechen bzw. -resistenz vorgenommen werden. Der weitere Verlauf bleibt abzuwarten.

6.2.2.5 West-Syndrom

Die Epilepsie begann bei drei Patienten im ersten Lebensjahr und zwar jeweils mit einem, vier bzw. acht Lebensmonat(en). Dabei ließ sich stets ein klinisches WS anhand der vorhandenen Hypsarrhythmie im EEG verifizieren, wodurch sich eine Prävalenz für das WS bei NF1 von 5,9 % (drei von 51 Patienten) für die untersuchte Kohorte ergab. Bei allen drei Patienten führte die entsprechende medikamentöse Therapie zum Sistieren der BNS-Anfälle mit anhaltender Anfallsfreiheit (vgl. *Abbildung 11*). In zwei Fällen trat bis ins Erwachsenenalter hinein kein Rezidiv auf. Bei dem dritten Kind mit initialen Infantilen Spasmen trat im Verlauf eine fokale Epilepsie mit dyskognitiven Anfällen auf. Die initiale Anfallsfreiheit bei IS wurde in einem Fall durch eine Prednisolon-Stoßtherapie mit ergänzender Eindosierung von Vigabatrin im Verlauf, bei dem zweiten Kind durch eine ACTH-Therapie und bei dem dritten Kind durch die Gabe von Vigabatrin als Monotherapie rasch und suffizient erzielt.

6.2.3 Genetische Befunde des NF1-Gens

Anamnestisch fanden sich bei 20 Patienten (39,2 %) Angaben, dass eine genetische Untersuchung stattgefunden hat. Die Unterscheidung zwischen familiärer (n = 28) und sporadischer NF1 (n = 23) verdeutlicht, dass im Falle einer *de novo* entstandenen NF1 deutlich häufiger eine genetische Diagnostik in die Wege geleitet wurde (zwölf Patienten bzw. 52,17 % mit sporadischer NF1 vs. acht Patienten bzw. 28,57 % mit familiärer NF1). Der genetische Untersuchungsbefund lag in allen zwölf untersuchten sporadischen NF1-Fällen vor. In Form eines Flussdiagrammes sind diese Daten in *Abbildung B 1* (Anhang B: Abbildungen) dargestellt.

Abbildung B 2 (Anhang B: Abbildungen) zeigt die entsprechenden Daten für Patienten mit familiärer NF1. Zusätzlich zu Verwandten I° mit NF1, lagen in zehn Fällen Informationen über betroffene Verwandte II° vor. Die genetischen Befunde von Patienten mit familiärer NF1 standen nur in vier von acht untersuchten Fällen zur Verfügung. Des Weiteren lag in einem Fall das Ergebnis der maternalen molekulargenetischen Diagnostik vor. Dieses wurde als indirekter Mutationsnachweis des Patienten betrachtet. Drei der untersuchten Kinder gehörten jeweils einem Geschwisterpaar innerhalb der Studie an, sodass damit für das zweite Geschwisterkind derselbe Befund angenommen wurde (zugleich direkter als auch indirekter Befund).

Zusammenfassend galt somit bei neun Patienten mit sporadischer NF1 sowie bei vier Patienten mit familiärer NF1, folglich also bei insgesamt 13 Patienten der Stichprobe (25,49 %), die Diagnose als genetisch gesichert (vgl. *Abbildung B 1* und *Abbildung B 2* in Anhang B: Abbildungen). Zwei Mutationen wurden bisher in der Literatur noch nicht beschrieben (ein sporadischer Fall und ein Geschwisterpaar mit familiäre NF1, siehe *Tabelle A 3* in Anhang A: Tabellen). Klinische Merkmale waren bei diesen Patienten für eine klinische Diagnosestellung ausreichend vorhanden, sodass beide Mutationen als krankheitsverursachend bzw. pathogen angenommen werden konnten.

Tabelle A 3 (Anhang A: Tabellen) gibt die Mutationen im *NF1*-Gen mit genauer Mutationsbeschreibung wieder, welche in *Abbildung 13* innerhalb der Exon-Intron Sequenz und in *Abbildung 14* innerhalb der Proteinsequenz des *NF1*-Gens nochmals graphisch zur Darstellung gebracht wurden. Die Verteilung auf die verschiedenen Mutationstypen gestaltete sich sehr ausgeglichen. Patienten mit familiärer NF1 wiesen allerdings nur Deletionen oder Duplikationen auf. Genveränderungen betrafen die Exons 7, 13, 14, 18, 22, 23, 42, 43 sowie die Introns 3 und 8. Sowohl auf DNA- als auch auf Protein-Ebene war für das untersuchte Patientenkollektiv kein Mutationshotspot erkennbar (*Abbildung 13* und *Abbildung 14*).

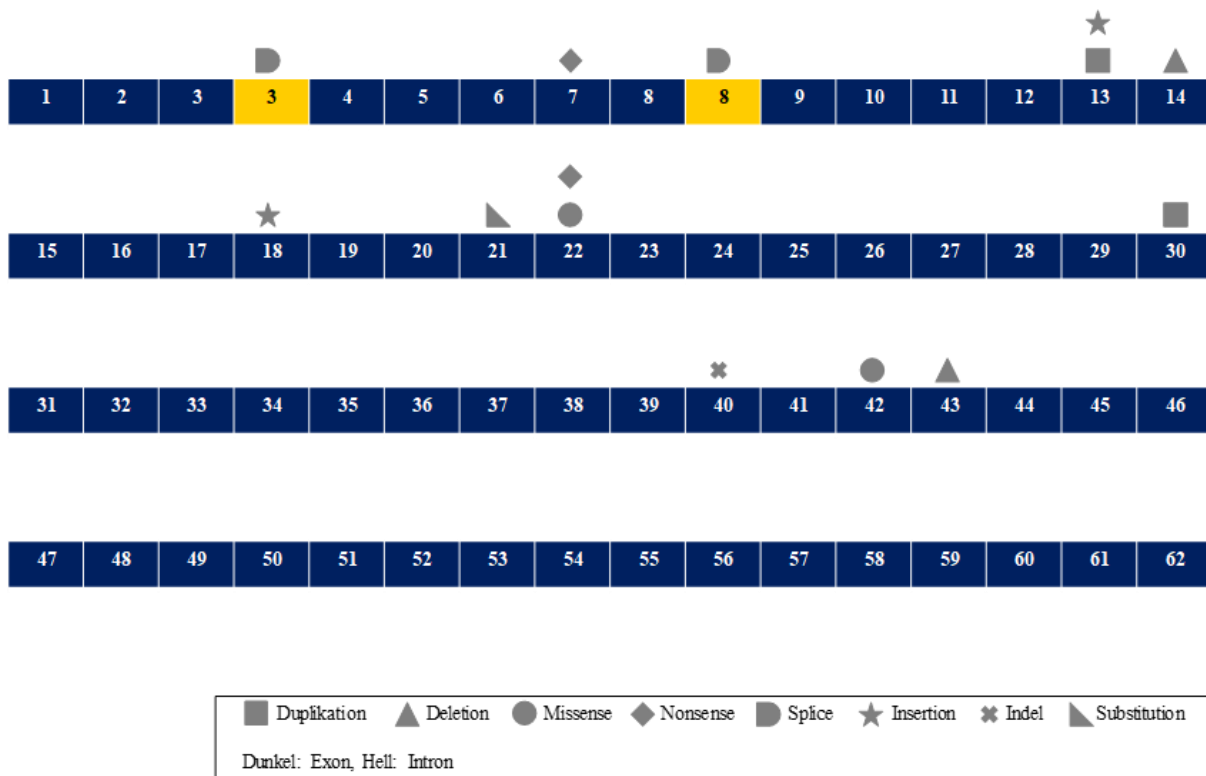
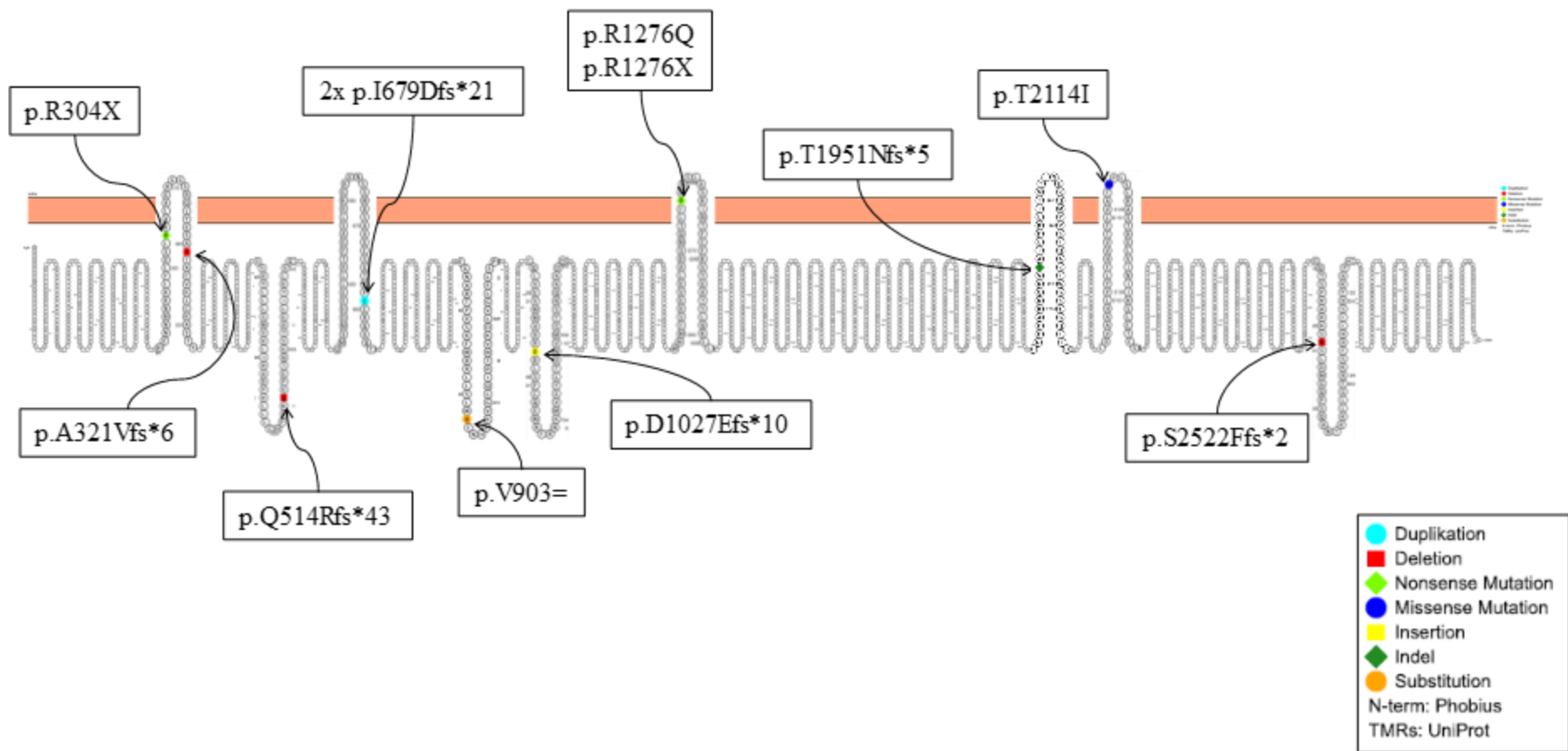


Abbildung 13: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 3 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des NF1-Gens. Die zwei großen Deletionen (alle Exone des NF1-Gens und Deletion Exon 12-58) sowie die 1,4 Mb Mikrodeletion sind in der Abbildung nicht dargestellt. Die Varianten im NF1-Gen bei den drei Patienten mit IS, welche mittels Trio Whole Exome Sequencing untersucht wurden, werden separat im Abschnitt 6.2.5.1, S.43 aufgeführt. Die Varianten sind in Tabelle A 3 in Anhang A: Tabellen sowie in Abbildung 13 und Abbildung 14 enthalten.



Protter - visualize proteoforms Omasits et al., *Bioinformatics*. 2013 Nov 21.

Abbildung 14: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Neurofibromin mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGS-Nomenklatur auf Proteinebene.

6.2.4 Analyse des Entwicklungsstandes

Zehn der 51 Patienten gingen aufgrund ihres geringen Alters noch nicht in die Schule. Bei drei dieser zehn Kinder war bekannt, dass sie einen integrativen Kindergarten als Integrationskind besuchten.

25 Kinder gingen in eine Regelschule (61 %). Von diesen besuchten acht eine Grundschule (15,7 %), während die Verteilung auf den weiterführenden Schulen wie folgt aussah: Hauptschule zehn Kinder (19,6 %), Realschule drei Kinder (5,9 %), Gymnasium vier Kinder (7,8 %). Von den 25 Kindern hatten 14 Kinder (27,5 %) keinen zusätzlichen sonderpädagogischen Förderbedarf, bei sieben Kindern (13,7 %) bestand sonderpädagogischer Förderbedarf und bei den restlichen vier (7,8 %) lagen hierzu keine Informationen vor. Einen Überblick hierzu liefert *Tabelle 4*. Die Prävalenzen der besuchten Schulform sind in *Abbildung 15* graphisch dargestellt.

Tabelle 4: Überblick über den Förderschwerpunkt und die Fördermaßnahmen der sieben Patienten auf der Regelschule mit sonderpädagogischem Förderbedarf.

Patient auf der Regelschule mit Förderbedarf (n = 7)	Förderschwerpunkt	Integrationsplatz	Schulbegleitung
1	Nein	Ja	Nein
2	Geistige Entwicklung	Ja	Ja
3	Nein	Ja	Ja
4	Sprache	Fraglich	Fraglich
5	Fraglich	Ja	Fraglich
6	Fraglich	Ja	Fraglich
7	Lernen, körperl. & motor. Entwicklung	Nein	Ja

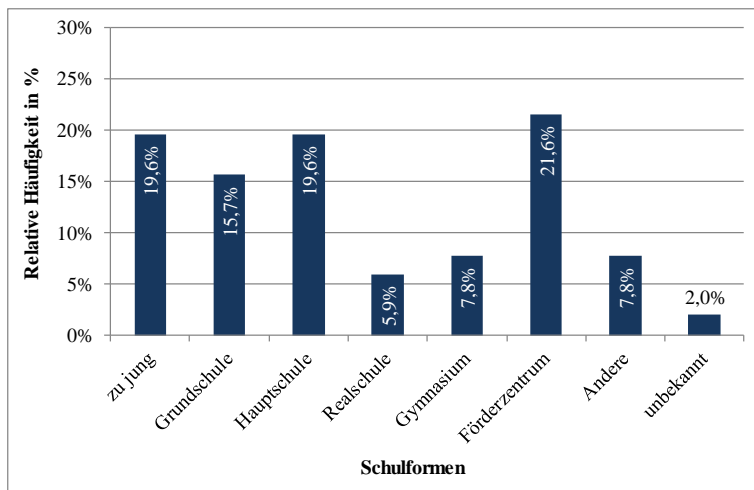


Abbildung 15: Relative Häufigkeiten der besuchten Schulformen unabhängig von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf. Andere: Dänische Schule, Walddorfschule. $N = 51$.

Elf Kinder besuchten ein Förderzentrum (21,6 %). Als Förderschwerpunkte standen Lernen (sechs Kinder), körperliche und motorische Entwicklung (fünf Kinder) und geistige Entwicklung (fünf Kinder) im Vordergrund. Der Förderschwerpunkt Sprache lag bei drei Kindern, emotionale und soziale Entwicklung bei einem Kind vor. Dabei bestand in sechs Fällen parallel mehr als ein Förderschwerpunkt. Die Verteilung auf die einzelnen Förderschwerpunkte, unabhängig vom Schultyp ist in *Abbildung 16* dargestellt.

Des Weiteren gingen vier Kinder (7,8 %) auf eine anderweitige Schule (Dänische Schule, Walddorfschule), bei einem Patienten (2,0 %) blieb die Schulform unbekannt.

Zusammenfassend bestand, unabhängig vom Schultyp, bei insgesamt 18 von 41 Schulkindern (43,9 %) ein Förderbedarf (Förderschwerpunkt und/oder Schulbegleitung und/oder I-Platz).

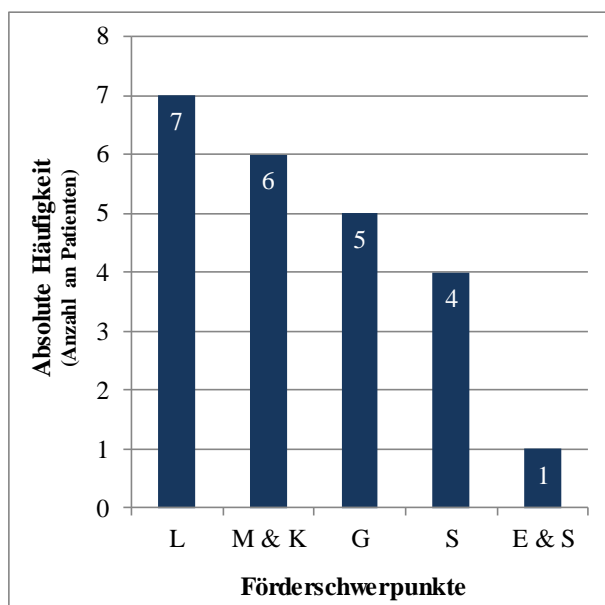


Abbildung 16: Absolute Häufigkeiten der einzelnen Förderschwerpunkte unabhängig vom besuchten Schultyp. Die Summe aller Förderschwerpunkte entspricht nicht der Anzahl an betroffenen Patienten, da teilweise mehrere Förderschwerpunkte bei einem Patienten bestanden.

L: Lernen, M & K: motorische und körperliche Entwicklung, G: geistige Entwicklung, S: Sprache, E & S: emotionale und soziale Entwicklung.

$n_{gesamt} = 41$, $n_{betroffene\ Patienten} = 14$.

Von den 41 Kindern gingen 25 bei Beobachtungsende noch in die Schule. Ein Patient hatte die Schule bereits mit dem Abitur abgeschlossen, zwei konnten einen Realschulabschluss und sechs einen Hauptschulabschluss vorweisen. Des Weiteren beendeten drei Personen die Schullaufbahn mit dem Förderschulabschluss, zwei hatten keinen Abschluss und bei weiteren zwei Kindern lagen keine Informationen über einen Schulabschluss vor. Sieben der NF1-Patienten, die bereits die Schule beendet hatten, absolvierten im Anschluss an die Schullaufbahn eine Berufsausbildung, ein Patient begann ein Studium. Berufs(aus)bildende Maßnahmen für Kinder mit Förderbedarf nach SGBIII fanden bei drei Patienten statt. Des Weiteren hatten drei Patienten (noch) keine nachschulische Bildung begonnen und zwei Personen gingen weiterhin zur Schule, um zusätzlich den Realschulabschluss bzw. das Abitur zu erlangen.

Es wurden Daten bezüglich neuropsychologischer und motorischer Defizite bzw. Auffälligkeiten ermittelt. Hinweise auf die Punktprävalenzen lieferte die Berechnung der Häufigkeiten (siehe *Abbildung 17*). Zu beachten ist die große Anzahl fehlender Daten (vgl. *Tabelle A 1* in Anhang A). Die Ergebnisse spiegeln wider, dass einige Merkmale, wie zum Beispiel Autismus (drei Kinder, 13,0 %) oder Depression (drei Kinder, 11,1 %), nur sehr selten auftraten. Dahingegen fanden sich häufiger Konzentrationsstörungen (19 Kinder, 67,9 %) oder eine Lese-Rechtschreib-Schwäche (18 Kinder, 69,2 %), auch motorische Schwierigkeiten wie Gleichgewichts- (15 Kinder, 57,7 %) und Koordinationsstörungen (zehn Kinder, 38,5 %) zeigten sich vermehrt. Wahrnehmungsstörungen wurden bei einem Großteil der Patienten beschrieben (zehn Kinder, 40,0 %). Ein ADHS wurde bei drei Kindern (13 %) diagnostiziert, während isolierte ADHS – Leitsymptome wie Hyperaktivität (sieben Kinder, 26,9 %) und mangelnde Impulskontrolle (sechs Kinder, 23,1 %), häufiger genannt wurden.

Die Korrelationen zwischen den untersuchten Variablen zu neuropsychologischen und motorischen Defiziten, sind in *Tabelle A 8* (Anhang A: Tabellen) dargestellt. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Phi-Koeffizienten.

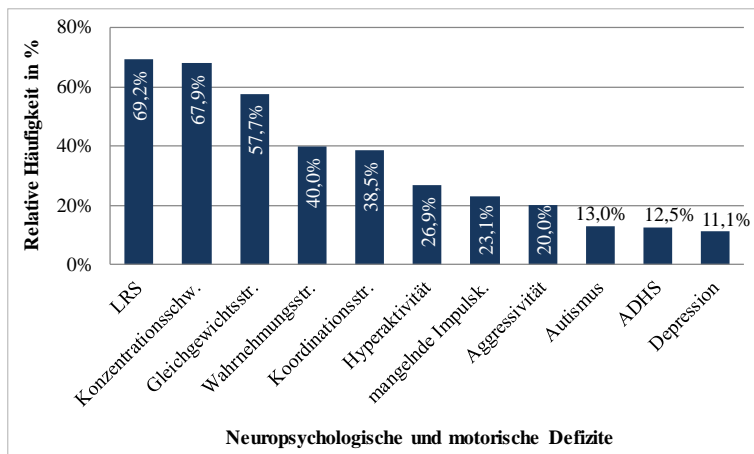


Abbildung 17: Relative Häufigkeiten neuropsychologischer und motorischer Defizite aus Arztbriefen und Fragebogen ermittelt. LRS: Lese-Rechtschreib-Schwäche, Konzentrationsschw.: Konzentrations-schwierigkeiten, Str.: Störung, Impulsk.: Impulskontrolle, ADHS: Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivi-täts-Syndrom. n zwischen 23 und 28, abhängig von vorhanden Angaben durch die Eltern bzw. Patienten.

Die Wohn- und Betreuungssituation sowie der Pflegebedarf, welcher anhand der Einstufung in eine Pflegestufe erfasst wurde, sahen wie folgt aus:

30 Patienten (85,7 %) wohnten bei ihren Eltern, zwei (5,7 %) in einer Wohngemeinschaft, und jeweils eine Person (2,9 %) war alleinlebend, im betreuten Wohnen oder befand sich in einer anderweitigen Wohnsituation. Für 16 Patienten lagen keine Daten vor. Die Notwendigkeit einer dauerhaften Betreuung bestand in sieben Fällen (26,9 %) (25 Patienten mit fehlenden Daten). Pflegeaufwand im Sinne der Einstufung in eine Pflegestufe bestand bei insgesamt acht Perso-nen (28,6 %), davon lag bei zwei Patienten die Pflegestufe 0, bei vier Patienten die Pflegestufe 1 und bei jeweils einem Patienten die Pflegestufe 2 bzw. 3 vor. Bei 23 Patienten fehlte die Angabe über das Vorliegen einer Pflegestufe.

6.2.5 Zusammenhang von Epilepsie und Genetik bei NF1

Die Punktprävalenzen für genetische Faktoren sind für Epilepsiepatienten und Nicht-Epilepsie-patienten getrennt in *Tabelle A 4* (Anhang A: Tabellen) aufgeführt. Während in der Gruppe ohne Epilepsie sporadische und familiäre NF1 gleich häufig beobachtet werden konnten, ließen sich sechs von sieben Epilepsiepatienten dem familiären NF1 Typ zuordnen. In drei Fällen lag ein maternales, in drei Fällen ein paternales Vererbungsmuster vor. Da aufgrund der zu gerin-gen Stichprobe keine valide Aussage getroffen werden kann, wurde an dieser Stelle auf eine Berechnung der Signifikanz verzichtet.

Spezifische Mutationen oder Mutationstypen im *NF1*-Gen, welche für die Entwicklung einer Epilepsie prädisponieren könnten, ließen sich in der vorliegenden Stichprobe nicht nachweisen (vgl. *Tabelle A 3* in Anhang A: Tabellen; ID 6, 13, 19, 47).

Ob anderweitige genetische Faktoren außerhalb des *NF1*-Gens zur Prädisposition von Epilepsien bei NF1 beitragen, sollte anhand des Trio Whole Exome Sequencing geklärt werden. Diese Ergebnisse werden im folgenden Abschnitt 6.2.5.1 erläutert.

6.2.5.1 Trio Whole Exome Sequencing bei Infantilen Spasmen und NF1

Bei allen drei Patienten konnte die NF1 genetisch bestätigt werden. In Trio 1 ließen sich zudem in Hinblick auf mögliche epilepsierelevante Gene zwei *de novo* Varianten, vier compound heterozygote Varianten und sechs autosomal-rezessiv vererbte Varianten bei der Patientin nachweisen. In Trio 2 fanden sich fünf *de novo* Varianten, zwei compound heterozygote Varianten und drei X-chromosomal vererbte Varianten bei dem Patienten. In Trio 3 zeigten sich zwei *de novo* Varianten, fünf compound heterozygoten Varianten und 33 autosomal-rezessiv vererbte Varianten bei Konsanguinität der Eltern.

Trio 1

Die NF1 ließ sich bei der Patientin genetisch sichern. Es konnte eine pathogene Mutation in Exon 40 des *NF1*-Gens nachgewiesen werden (c.5851delAins(A)2, p.T1951Nfs*5, NM_000267.3). Diese fand sich auch bei der Mutter, welche ebenfalls an einer NF1 erkrankt ist.

Es kristallisierte sich entsprechend der Selektionskriterien ein einzelnes potenziell epilepsierelevantes Gen, das *KCNC2*-Gen, heraus. Dieses kodiert für einen spannungsabhängigen Kaliumkanal (Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 2) und weist eine nahezu individuelle Expression im Gehirn auf ($TPM_{\text{cerebraler Cortex}} = 46,5$) (siehe *Abbildung 18*). Dieser Kaliumkanal spielt eine wichtige Rolle bei der Repolarisation von Aktionspotentialen und ist zudem eng verwandt mit *KCNC1*, welches wiederum ein bekanntes Epilepsiegen der progressiven Myoklonusepilepsie darstellt.

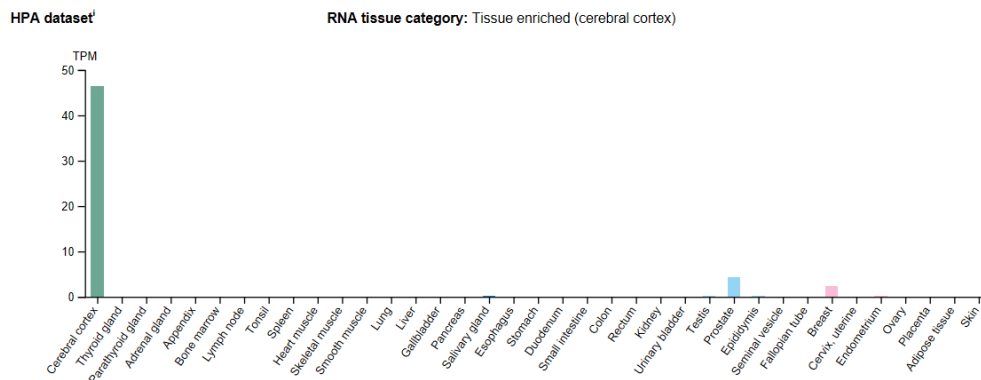


Abbildung 18: HPA (Human Protein Atlas) Daten der RNA-Expression in gesundem Gewebe. Graphik wurde am 07.01.2019 unter <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000166006-KCNC2/tissue> abgerufen.

Bei der gefundenen Variante handelt es sich um eine *de novo* Missense-Mutation in *KCNC2* auf Exon 2 (c.G499T, p.Asp167Tyr, NM_001260497.1). Die Daten zeigten eine Coverage von AR/RR = 0,6/0,4. Die Vorhersageprogramme wiesen auf eine wahrscheinliche genabhängige Relevanz (rvis = -0,82 (11,68 %) sowie auf eine wahrscheinliche Pathogenität der angegebenen Mutation hin: PolyPhen2 HDIV = 0,993, SIFT = 0,02, CADD phred = 22,4, MutationTaster = 1,0). Die spezifische Mutationssuche in 1000 Genome und ExAC blieb negativ.

Zusätzlich lag eine weitere, maternal vererbte Variante im *KCNC2*-Gen vor (c.1364C>T, p.Ala455Val, NM_001260497.1). Die Coverage lag bei AR/RR = 0,52/0,48. Die Vorhersageprogramme lieferten folgende Werte: rvis = -0,82 (11,68 %), PPH = 3. Beide Varianten sind in *Abbildung 19* graphisch dargestellt.

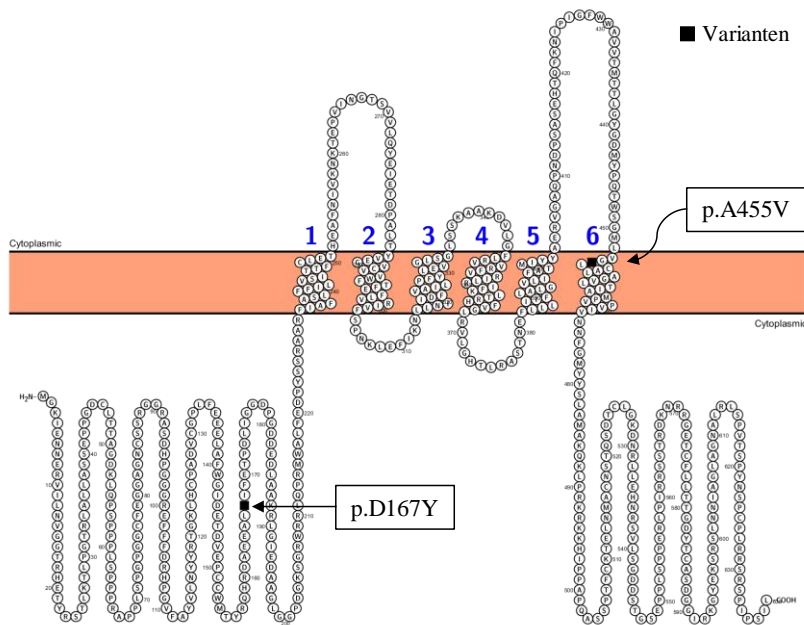


Abbildung 19: Graphische Darstellung der beiden nachgewiesenen Varianten p.D167Y (*de novo*) und p.A455V (*maternal vererbt*) im KCNC2-Gen. (Erstellung der Graphik über Protter - visualize proteoforms Omasits et al., *Bioinformatics*. 2013 Nov 21).

Trio 2

Die NF1 konnte bei diesem Patienten genetisch gesichert werden. Die pathogene Variante lag auf Exon 21 (c.2709G>A, p. synonym, NM_000267). Bei der betroffenen Mutter zeigte sich dieselbe Variante.

Nach Anwendung der Selektionskriterien blieb das *C9orf85*-Gen (Chromosom 9 open reading frame 85) als einziges potenziell pathogenes Gen übrig, wobei die Funktion sowie die medizinische Relevanz dieses Gens bzw. Proteins bisher unbekannt sind. Das Protein wird nicht gewebespezifisch exprimiert, die Expression im cerebralen Cortex wird mit einer TPM = 10,3 angegeben. Die gefundene *de novo* Variante liegt in Exon 3 (c.G266C, p.C89S, NM_182505). Die Coverage betrug AR/RR = 0,25/0,75. Die genabhängige Relevanz war mit *rvis* = 0,35 (73,97 %) angegeben. Der CADD phred score ließ mit 27,0 eine wahrscheinliche Pathogenität vermuten, ebenso weitere Vorhersageprogramme (SIFT = 0, PolyPhen2 HDIV = 1,0, MutationTaster = 1,0). Die Suche der Variante in 1000 Genome und ExAC war negativ.

Trio 3

Die NF1 konnte nach ergänzender MLPA genetisch bestätigt und dann auch im Exom nachgewiesen werden. Es lag eine Deletion von Exon 12 bis 58 vor. Dieselbe Mutation fand sich beim betroffenen Vater.

Die Exomsequenzierung lieferte aufgrund der Kosanguinität der Eltern (wie sich später herausstellte und vor Analyse nicht angegeben wurde) eine Vielzahl an Varianten. Nach Anwendung der Selektionskriterien blieben 3 autosomal-rezessive und eine compound-heterozygote Variante übrig. Eine Übersicht ist *Tabelle 5* bis *Tabelle 7* zu entnehmen.

Tabelle 5: Auswahl potentieller epilepsierelevanter Gene der Exomsequenzierung von Trio 3 mit Angabe ihrer Funktion und medizinischen Relevanz sowie Stärke der intrazerebralen Expression.

Gen	Protein	Funktion	Medizinische Relevanz	TPM
<i>AHDC1</i>	AT-hook DNA-binding motif-containing protein 1	V.a. DNA-Bindung	Xia Gibbs Syndrom, geistige Behinderung, Entwicklungsverzögerung	13,1
<i>FAM222A</i>	Protein FAM222A	Unbekannt	unbekannt	20,0
<i>RALY</i>	RALY heterogeneous nuclear ribonucleoprotein	V.a. prä-mRNA-Spleißen & Embryonalentwicklung	Tumorgenese	73,1
<i>ZNF282</i>	Zink finger protein 282	Bindet an humanes T-Zell-Leukämie-Virus Typ 1 mit repressiver Wirkung auf die HTLV-1-LTR vermittelte Expression, E2F1- und Östrogenrezeptor-Coaktivator	Tumorgenese	12,0

Tabelle 6: Nachgewiesene Varianten in den potentiell epilepsierelevanten Genen der Exomsequenzierung von Trio 3.

Gen	Erbgang	Referenzsequenz	Mutation auf Proteinebene	Mutationstyp	Coverage AR/RR
<i>AHDC1</i>	Autosomal-rezessiv	NM_001029882	p.R36P	Nonsynonymous SNV	0,83/0,17
<i>FAM222A</i>	Autosomal-rezessiv	NM_032829.2	p.S201C	Nonsynonymous SNV	1/0
<i>RALY</i>	Compound-heterozygot	NM_016732	p.S253R	Nonsynonymous SNV	0,7/0,3
<i>ZNF282</i>	Autosomal-rezessiv	NM_003575.2	p.G636S	Nonsynonymous SNV	1/0

Tabelle 7: Angaben unterschiedlicher Vorhersageprogramme bezüglich der Pathogenität der nachgewiesenen Varianten in den vier potentiell relevanten Genen von Trio 3.

Gen	CADD phred	SIFT	PolyPhen HDIV	MutationTaster	rvis
<i>AHDC1</i>	13,72	0,09	0,0	1,0	-1,10 (6,98 %)
<i>FAM222A</i>	20,1	0,12	0,571	0,699	-
<i>RALY</i>	12,45	0	1,0	1,0	-0,09 (46,74 %)
<i>ZNF282</i>	16,68	0,01	0,398	1,0	-0,29 (33,2 %)

6.2.5.2 Funktionelle Studien mit *KCNC2*

In Trio 1 wurde eine *de novo* Variante in *KCNC2* nachgewiesen, welche in Populationsdatenbanken bisher nicht beschrieben und von drei *in silico* Vorhersageprogrammen (SIFT, PolyPhen und CADD score) als pathogen eingestuft wurde. *KCNC2* kodiert für den spannungsabhängigen Kaliumkanal Kv 3.2, welcher aus 4 Untereinheiten mit 6 Transmembransegmenten (S1-S6) besteht. S4 bildet den Spannungssensor, während S5 und S6 die Gating-Region (Öffnen und Schließen) einschließlich des Selektivitätsfilters formen. Die identifizierte Variante unserer Patientin liegt in einer hoch konservierten Region des N-Terminus (*Abbildung 20B*). Die funktionellen Untersuchungen mittels Patch-Clamp-Technik wiesen einen auf 12 % reduzierten Kaliumstrom im Vergleich zum Wildtyp nach ($p < ,05$; vgl. *Abbildung 20A und D*).

Somit konnte ein ausgeprägter Loss-of-function-Effekt der *de novo* Variante (p.D167Y) in *KCNC2* bestätigt werden. Die Spannungsabhängigkeit der Kv3.2-Kanal-Aktivierung war nicht signifikant verändert (Abbildung 20C). Das Ruhemembranpotential des Mutanten im Vergleich zum Wildtyp war ebenfalls nicht verändert (Abbildung 20E).

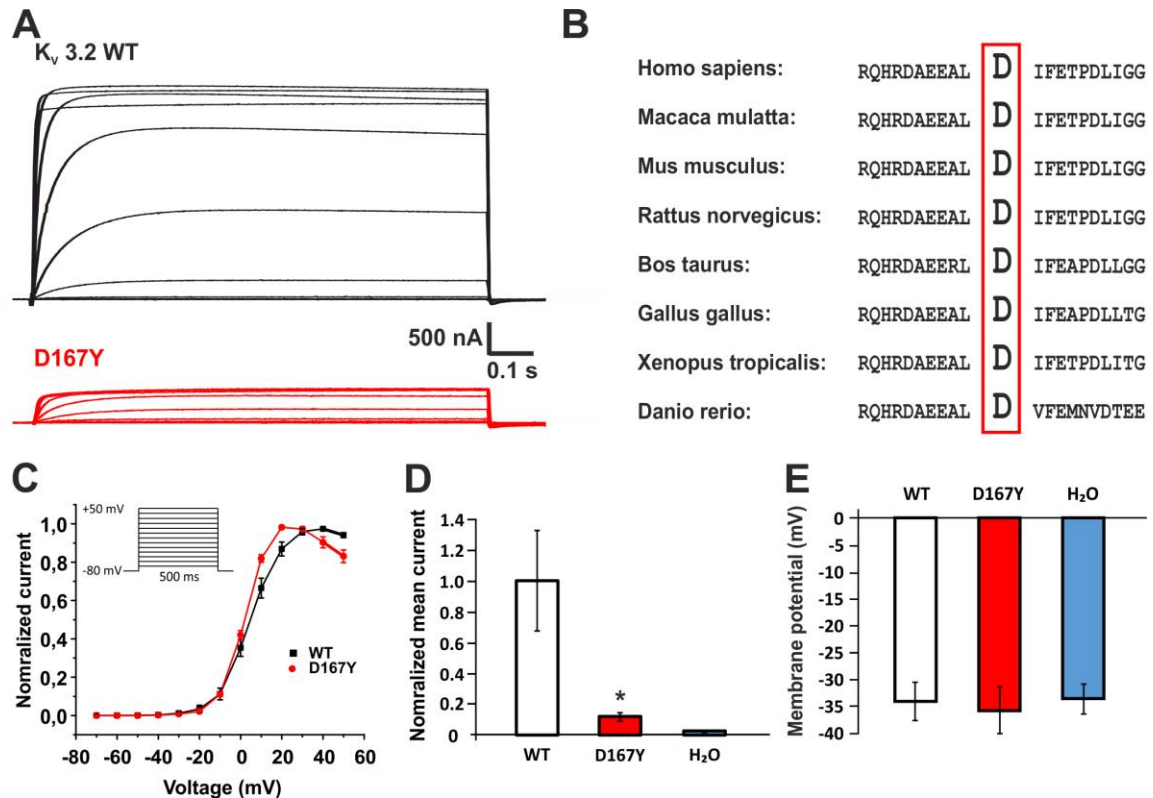


Abbildung 20: A) Kaliumionenströme in Oozyten mit Expression wildtypischer (schwarz) oder mutierter (rot) Kv3.2 Ionenkanäle. B) Hoch konservierte Region bzw. Aminosäure über verschiedene Spezies hinweg bezüglich der Lokalisation der Mutation. C) Mittlere Spannungsabhängigkeit der Kv3.2-Kanal-Aktivierung des Wildtyps ($n=18$, schwarz) und des Mutanten ($n=10$, rot). Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM. D) Mittlere Stromamplitude der mit Wildtyp (weiß), D167Y (rot) oder Wasser (blau) injizierten Oozyten. Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM. Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied zwischen Wildtyp- und D167Y-mutierten Ionenkanälen ((ANOVA on ranks, $p < 0,001$) mit post-hoc Dunn's Methode ($p < 0,05$) (mit Sternchen gekennzeichnet)). E) Ruhemembranpotentiale von Oozyten mit injiziertem Wildtyp (weiß), D167Y-Mutant (rot) oder Wasser (blau). Gezeigt sind die Mittelwerte \pm SEM.

6.2.6 Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung bei NF1

6.2.6.1 Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten

Tabelle A 5 bis Tabelle A 7 im Anhang A: Tabellen stellen die absoluten Prävalenzen der verschiedenen Entwicklungs- und Verhaltensvariablen getrennt für Epilepsiepatienten und Nicht-Epilepsiepatienten dar.

Table 8 stellt die NF1-Patienten mit Epilepsie denjenigen ohne Epilepsie in Hinblick auf die besuchte Schulform unter Berücksichtigung des Vorliegens von sonderpädagogischem Förderbedarf in absoluten Zahlen gegenüber. Die entsprechenden prozentualen Häufigkeiten der beiden Gruppen (NF1 + Epilepsie vs. NF1 ohne Epilepsie) sind zum Vergleich in *Abbildung 21* graphisch dargestellt. Die Berechnung mit dem exakten Test nach Fisher ergab, dass Epilepsiepatienten nicht signifikant häufiger ein Förderzentrum oder eine Regelschule mit sonderpädagogischem Förderbedarf besuchten ($p = ,196$).

Table 8: Vergleich zwischen NF1 mit Epilepsie und NF1 ohne Epilepsie bezüglich der Schulform mit Beachtung des Vorliegens von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf (FB).

Schulform	NF1 und Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
Zu jung	1	9
Regelschule ohne FB	1	13
Regelschule mit FB	-	7
Förderzentrum	5	6
Andere	-	4
Keine Daten	-	5

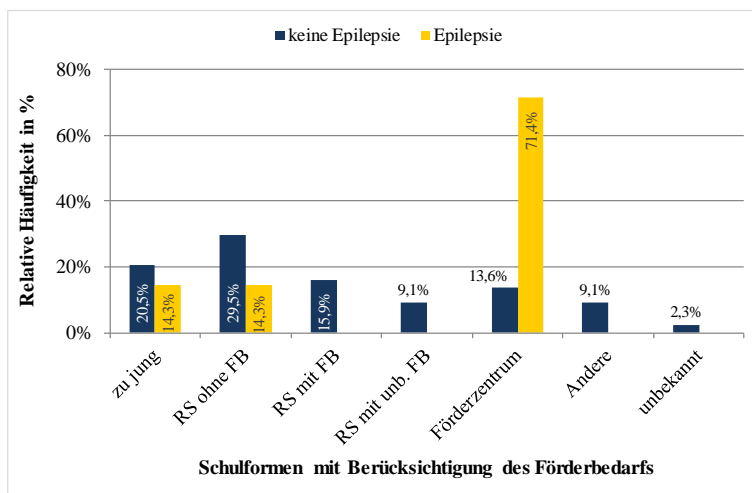


Abbildung 21: Relative Häufigkeiten des Besuchs einer Regelschule (RS) oder eines Förderzentrums mit Unterscheidung zwischen Regelschule ohne bzw. mit sonderpädagogischem Förderbedarf (FB) im Vergleich von Epilepsie- ($n = 7$) und Nicht-Epilepsiepatienten ($n = 44$). Unb.: Unbekannt. Andere: Dänische Schule, Walddorfschule.

Förderschwerpunkte unter den Epilepsiepatienten bestanden bei den fünf Kindern, welche eine Förderschule besuchten. Die Verteilung auf die einzelnen Förderschwerpunkte gestaltete sich sehr ausgeglichen (siehe

Tabelle A 5, Anhang A: Tabellen). Zwei der fünf Kinder erhielten dabei zusätzlich Unterstützung durch eine Schulbegleitung, eines der beiden hatte zudem einen Integrationsplatz.

Bezogen auf die NF1-Patienten mit Epilepsie beendeten zwei der fünf Förderzentrumsschüler die Schule mit dem Förderschulabschluss, einer hatte keinen Abschluss und zwei gingen noch in die Schule. Von denjenigen die die Schule bereits beendet hatten, machte einer eine Ausbildung, zwei führten (noch) keine nachschulische Bildung durch. Das Kind, das eine Regelschule besuchte, schloss die Schule mit einem Hauptschulabschluss ab, eine nachschulische Bildung wurde bisher noch nicht begonnen.

Aufgrund der geringen Stichprobengröße der NF1-Patienten mit Epilepsie und einer noch geringeren Anzahl an Personen innerhalb dieser Gruppe, die die Schule bereits abgeschlossen hatten, wurden keine weiteren statistischen Berechnungen bezüglich signifikanter Unterschiede zwischen Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten in Hinblick auf den schulischen und beruflichen Werdegang durchgeführt.

Vergleichende Analysen zwischen NF1-Patienten mit Epilepsie und NF1-Patienten ohne Epilepsie bezüglich neuropsychologischer und motorischer Defizite ergaben mittels des exakten Tests nach Fisher für „Autismus“ einen signifikanten Unterschied ($p = ,034$). Der Phi-Koeffizient zeigte eine signifikant positive Korrelation von Autismus und Epilepsie ($\phi = ,62$, $p = ,003$). Für alle anderen Variablen einschließlich der Betreuungs- und Pflegesituation ließ sich zwischen Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten kein signifikanter Unterschied nachweisen.

6.2.6.2 Vergleich der Entwicklung bei NF1 mit und ohne Infantile Spasmen

Des Weiteren erfolgte eine getrennte Betrachtung der drei Patienten mit West-Syndrom. Eines der Mädchen war noch zu jung für einen Schulbesuch. Es war bekannt, dass sie einen integrativen Kindergarten besuchte. Nach aktueller Einschätzung wird sie keine Regelschule ohne sonderpädagogischen Förderbedarf besuchen können. Die anderen beiden Kinder gingen auf ein Förderzentrum: Bei dem Jungen lag der Förderschwerpunkt Lernen und Sprache vor, er ging bei Beobachtungsende immer noch zur Schule. Bei dem Mädchen bestand der Förderschwerpunkt geistige Entwicklung, zusätzlich hatte sie eine Schulbegleitung. Sie absolvierte keine nachschulische Bildung. Aufgrund der geringen Patientenzahl erfolgte keine Signifikanzprüfung bezüglich des schulischen Werdeganges und des Erhalts von Fördermaßnahmen.

Vergleichende Analysen bezüglich neuropsychologischer und motorischer Defizite bei Epilepsiepatienten mit IS im Vergleich zu Epilepsiepatienten ohne IS wurden aufgrund der sehr geringen Absolutwerte bei zudem zahlreichen fehlenden Werten keiner statistischen Berechnungen unterzogen, sodass diesbezüglich keine Werte zur Verfügung stehen.

6.3 Ergebnisse beim Tuberosö Sklerose Complex (TSC)

6.3.1 Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien

Erstdiagnose. Die Diagnose eines TSC wurde zwischen dem ersten Lebensmonat und fünf Jahren gestellt ($M = 1 \frac{2}{12}$ Jahre; $SD = 1 \frac{4}{12}$ Jahre; $MD = 6/12$ Jahre). Eine sporadische Form des TSC lag anamnestisch bei 25 Patienten (71,4 %), eine familiäre Form bei acht Patienten (22,9 %) vor. Unklarheit über ein familiäres Auftreten bestand anamnestisch bei zwei Patienten (5,7 %) der Gesamtkohorte. Im Durchschnitt erfolgte eine frühere Diagnosestellung beim sporadischen TSC (vgl. *Abbildung 22*).

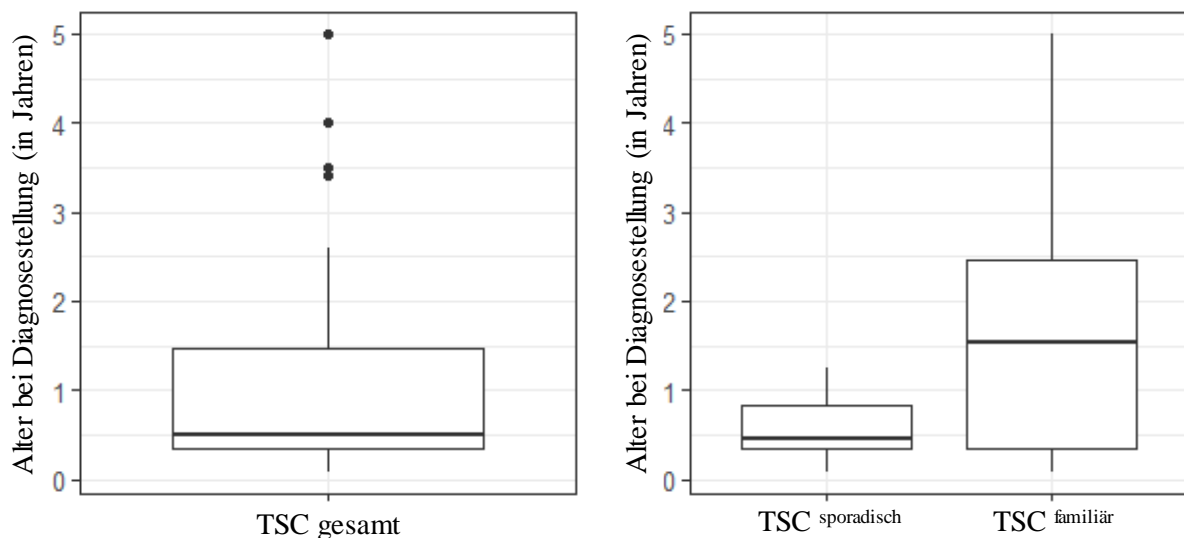


Abbildung 22: Boxplot zum Alter der TSC-Patienten bei Diagnosestellung. A: Gesamtstichprobe der TSC-Patienten, $N = 35$. B: Vergleich von sporadischem und familiärem TSC. Familiärer TSC: $n = 8$, $M = 1 \frac{8}{12}$ Jahre; $MD = 1 \frac{6}{12}$ Jahre. Sporadischer TSC: $n = 25$, $M = 1 \frac{1}{12}$ Jahre, $MD = 6/12$ Jahre.

Diagnosekriterien. Zur Überprüfung der sicheren klinischen Diagnosestellung sowie zur besseren Beschreibung der Stichprobe erfolgte eine Berechnung der Prävalenzen für die überarbeiteten TSC-Major- und Minor-Diagnosekriterien. In *Abbildung 23* und *Abbildung 24* sind die prozentualen Werte graphisch dargestellt.

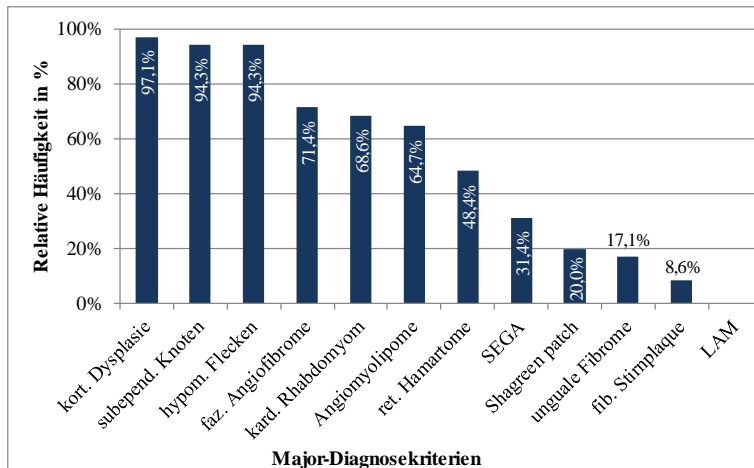


Abbildung 23: Prozentuale Häufigkeiten der überarbeiteten TSC-Major-Diagnosekriterien, N = 35. Kort.: Kortikal, subepend.: subependmal, hypom.: hypomelanotisch, faz.: fazial, kard.: kardial, ret.: retinal, SEGA: subependymales Riesenzellastrozytom, fib.: fibrös, LAM: Lymphangioliomyomatose, hypomelanotische Flecken: ≥ 3 mit einem Durchmesser von mindestens 5 mm; ≥ 3 faziale Angiofibrome; ≥ 2 ungle Fibrome; ≥ 2 Angiomyolipome.

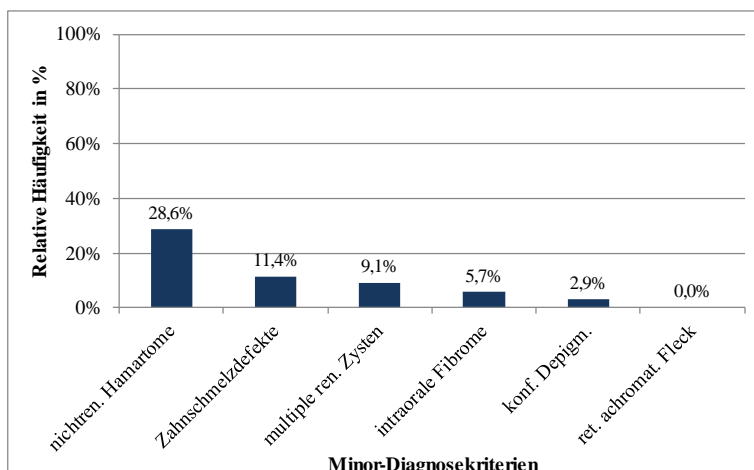


Abbildung 24: Prozentuale Häufigkeiten der überarbeiteten TSC-Minor-Diagnosekriterien, N = 35. Nichtren.: nichtrenal, ren.: renal, konf. Depigm.: konfettiartige Depigmentierung der Haut, ret. achromat.: retinal achromatisch. ≥ 3 Zahnschmelzdefekte; ≥ 2 intraorale Fibrome.

6.3.2 Analyse epileptischer Anfälle beim TSC

6.3.2.1 Prävalenz und Erstmanifestation

34 von 35 Patienten (97,1 %) mit TSC, 17 Jungen und 17 Mädchen, litten an einer Epilepsie. Die Epilepsie begann zwischen dem ersten Lebensmonat und 3 11/12 Jahren (M = 10/12 Jahre; SD = 11/12 Jahre; MD = 5/12 Jahre) (vgl. *Abbildung 25*). In elf Fällen (31,4 %) ließen sich dabei in der Familie Verwandte ersten und/oder zweiten Grades mit Epilepsie eruieren.

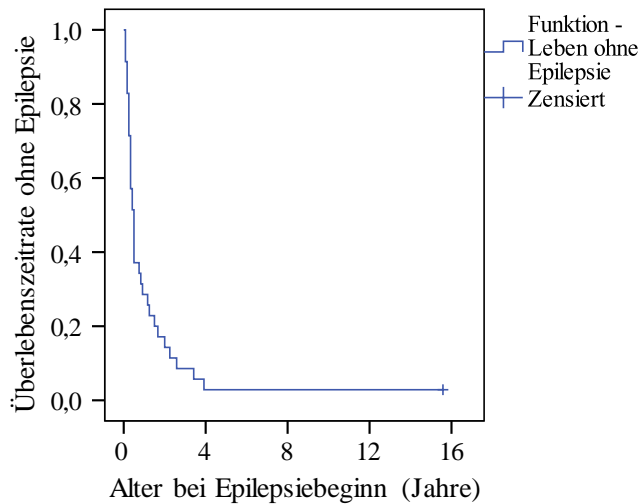


Abbildung 25: Überlebenszeitrate ohne Epilepsie beim TSC, $N = 35$. Das Ereignis ist dabei definiert als erster epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Epilepsie.

6.3.2.2 Anfallsformen und Epilepsieklassifikation

Gemäß der aktuellen Epilepsieklassifikation handelte es sich bei allen 34 Kindern um eine strukturell bedingte fokale Epilepsie auf dem Boden eines TSC. Dabei traten bei 17 Kindern (50 %) innerhalb der ersten neun Lebensmonate IS auf. Drei Kinder mit IS entwickelten im Verlauf ein LGS.

Abbildung 26 zeigt die Differenzierung der Anfallstypen in Patienten mit und ohne ES. Abbildung 27 gibt die Verteilung der Anfallstypen entsprechend der ILAE-Klassifikation wieder.

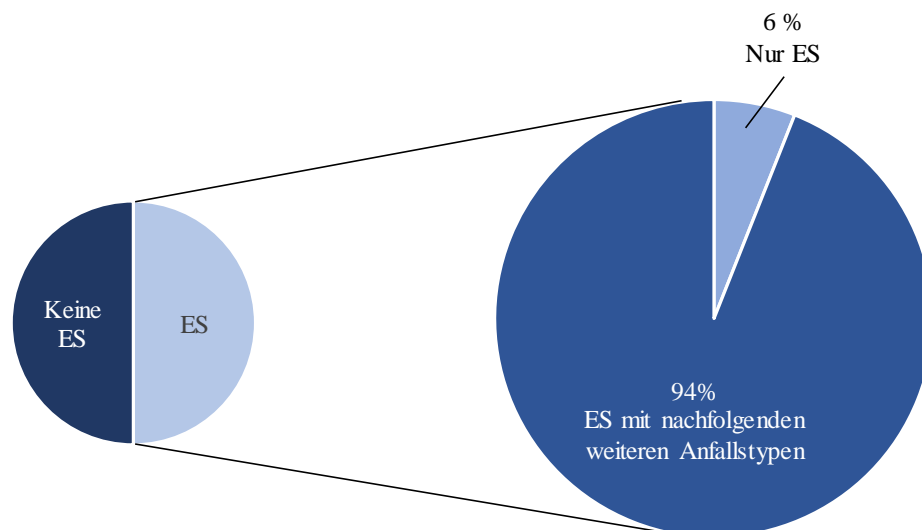


Abbildung 26: Differenzierung der Epilepsiepatienten in mit und ohne epileptische Spasmen (ES) (links). Rechts sind die Patienten mit epileptischen Spasmen aufgeteilt in Patienten, die nur ES aufweisen (6 %, entspricht einem Patienten) und Patienten mit ES zu Beginn und nachfolgenden weiteren Anfallstypen (94 %, entspricht 16 Patienten); $n = 34$.

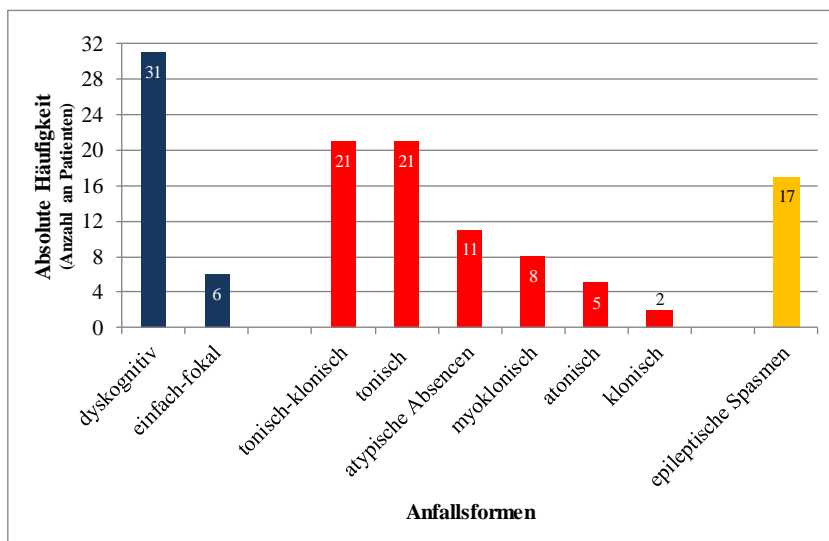


Abbildung 27: Internationale Klassifikation der epileptischen Anfälle auf Grundlage der ILAE von 2010. Die Summe der verschiedenen Anfallstypen entspricht nicht der Anzahl an Epilepsiepatienten, da bei einigen Patienten verschiedene Anfälle beobachtet werden konnten. Einfach-fokal = fokal ohne Bewusstseinsstörung, dyskognitiv = fokal mit Bewusstseinsstörung, sek. generalisiert = sekundär generalisiert. Fokale Anfälle: einfach-fokal, dyskognitiv, sekundär generalisiert. Generalisierte Anfälle: myoklonisch, tonisch, tonisch-klonisch. Unklassifizierte Anfälle: Epileptische Spasmen.

6.3.2.3 Bildgebung im Hinblick auf Epilepsie

32 der 34 Epilepsiepatienten wiesen zerebrale (sub)kortikale Tubera sowie subependymale Knoten auf. Bei einem Epilepsiepatienten ließen sich nur (sub)kortikale Tubera, bei einem anderen Epilepsiepatienten nur subependymale Knoten nachweisen. Ein Riesenzellastrozytom lag bei elf Epilepsiepatienten vor. In der zerebralen Bildgebung des TSC-Patienten ohne Epilepsie zeigten sich dezente Anzeichen für (sub)kortikale Tubera. Die Suche nach Korrelationen zwischen der Lokalisation der Tubera und den EEG-Herden war bewusst keine Fragestellung dieser Studie und wurde somit außer Acht gelassen.

6.3.2.4 Therapieansprechen

Die Anfallshäufigkeit bei Beobachtungsende ist in *Tabelle 9* wiedergegeben. Das Anfallsintervall, entsprechend dem Zeitraum vom Epilepsiebeginn bis zum Beginn der zuletzt eingetretenen anhaltenden Anfallsfreiheit bzw. bis zum Beobachtungsende, lag zwischen einem Monat und 18 5/12 Jahren (M = 4 2/12 Jahre; SD = 4 9/12 Jahre; MD = 2 11/12 Jahre) (vgl. *Abbildung 28*). Zu Beginn der Anfallsfreiheit lag das mittlere Alter bei M = 5 5/12 Jahre (SD = 4 8/12 Jahre, MD = 4 5/12 Jahre). Bis auf eine Patientin, bei welcher der anfallsfreie Zeitraum bisher

lediglich einen Monat betrug, bestand bei allen anderen anfallsfreien Patienten eine über zwölfmonatige anhaltende Anfallsfreiheit (mittlere Dauer der Anfallsfreiheit $M = 8 \frac{2}{12}$ Jahre; $SD = 6 \frac{5}{12}$ Jahre; $MD = 5 \frac{9}{12}$ Jahre). In Hinblick auf den gesamten Epilepsieverlauf ließ sich bei der Hälfte der Epilepsiepatienten (17 Patienten) ein anfallsfreier Zeitraum von über zwölf Monaten eruieren. In drei Fällen kam es zum Rezidiv, sodass diese drei Patienten zum Ende der Beobachtung nicht anfallsfrei waren.

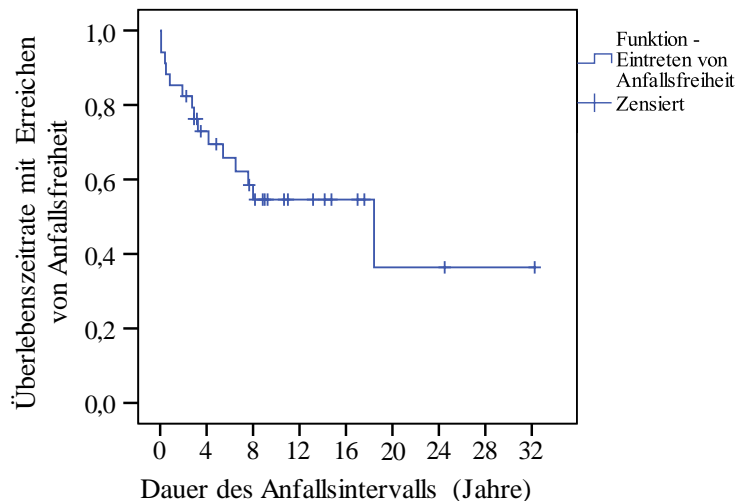


Abbildung 28: Überlebenszeitrate mit der Wahrscheinlichkeit, anhaltend anfallsfrei zu werden, beim TSC. Das Ereignis ist dabei definiert als letzter epileptischer Anfall bzw. als Beginn der Anfallsfreiheit.

Tabelle 9: Anfallshäufigkeit der TSC-Patienten pro Monat bei Beobachtungsende, $n = 34$.

Anfälle/Monat	Häufigkeit	Prozent
Keine	15	44,1
1-10	6	17,6
11-30	2	5,9
> 30	9	26,5
Fehlende Angabe	2	5,9

Die Medikamentenanamnese ergab, dass im Verlauf jeweils drei Patienten ein bzw. zwei antikonvulsive(s) Medikament(e) erhielten. Bei 27 TSC-Patienten (81,8 %) kamen im Verlauf drei oder mehr antiepileptische Medikamente zum Einsatz. Alle drei Patienten mit Monotherapie und ein Patient mit einer Zweifach-Kombinationstherapie wurden anhaltend anfallsfrei.

Zu Beobachtungsende wurde bei fünf Patienten (14,7 %) aufgrund von Anfallsfreiheit seit mindestens zwölf Monaten keine antikonvulsive medikamentöse Therapie mehr durchgeführt. Dagegen bestand in 14 Fällen (41,2 %) eine Monotherapie, neun Patienten (26,5 %) erhielten eine Zweifach-Kombinations- und weitere fünf Patienten (14,7 %) eine Dreifach-Kombinationstherapie. Die Verteilung der Anzahl aktueller antiepileptischer Medikamente in der Gruppe der anfallsfreien Patienten bei Beobachtungsende gibt *Tabelle 10* wieder.

Tabelle 10: Anzahl aktueller Medikamente der anfallsfreien Patienten bei Beobachtungsende. Fehlende Daten beziehen sich auf den Patienten mit bisher einmonatiger Anfallsfreiheit, während alle anderen mindestens zwölf Monate anfallsfrei sind. n = 15.

Medikamentenanzahl	Häufigkeit	Prozent
Keines	5	33,3
Ein Medikament	6	40,0
2 Medikamente	2	13,3
3 Medikamente	1	6,7
Fehlende Angabe	1	6,7

Des Weiteren kamen auch nichtmedikamentöse antiepileptische Verfahren in Form einer ketogenen Diät (eine Patientin), epilepsiechirurgischer Maßnahmen (zwei Patienten) sowie einer Vagusnervstimulation (VNS) plus Epilepsiechirurgie (ein Patient) zum Einsatz. Zudem erhielten bei Beobachtungsende 15 Patienten (44,12 %) Everolimus. Zusätzlich hatte eine weitere Patientin in der Vergangenheit Everolimus bekommen. Dieses war allerdings bereits vier Jahre vor Beobachtungsende abgesetzt worden.

Tabelle 11 spiegelt die Anfallshäufigkeit der Patienten unter Everolimus-Therapie bei Beobachtungsende wider. Hierbei lag in allen Fällen zuvor eine pharmakorefraktäre Epilepsie vor.

Tabelle 11: Anfallshäufigkeit der Patienten unter Everolimus-Therapie bei Beobachtungsende. n = 15.

Anfälle/Monat	Häufigkeit	Prozent
Keine	2	13,3
1-10	3	20,0
11-30	2	13,3
> 30	7	46,7
Fehlende Angabe	1	6,7

Zusammenfassend lag bei Beobachtungsende in 14 Fällen (41,2 %) eine pharmakosensible Epilepsie mit anhaltender Anfallsfreiheit über mindestens zwölf Monate vor. In einem Fall bleibt

der weitere Verlauf bei bisher einmonatigem anfallsfreiem Intervall nach Epilepsiechirurgie und vorheriger Pharmakoresistenz abzuwarten. Die restlichen 19 TSC-Patienten (55,9 %) hatten definitionsgemäß eine pharmakorefraktäre Epilepsie mit dem Versuch von mindestens zwei antikonvulsiven Medikamenten. Dabei kam bei zwei Patienten mit pharmakoresistenter Epilepsie zudem einmalig eine epilepsiechirurgische Maßnahme sowie zusätzlich einmalig die Implantation eines VNS in einem der beiden Fälle zum Einsatz. Der VNS wurde aufgrund unzureichender Effektivität nach drei Jahren ausgestellt und nach weiteren drei Jahren explantiert. Bei beiden bestand bei Beobachtungsende keine Anfallsfreiheit, weiterhin traten 1-10 Anfälle pro Monat auf. Bei einer Patientin wurde zudem eine ketogene Diät versucht, bei unzureichender Wirkung im Verlauf jedoch wieder beendet. Diese Patientin wies bei Beobachtungsende eine pharmakorefraktäre Epilepsie mit mehr als 30 Anfällen monatlich auf.

6.3.2.5 West-Syndrom

Die Prävalenz für ein WS beim TSC betrug in der vorliegenden Stichprobe 50 % (17 Patienten) und manifestierte sich innerhalb der ersten neun Lebensmonate. In sechs Fällen kam es für mindestens sechs Monate zum vorübergehenden Sistieren der Anfälle bevor die Epilepsie rezidierte. Weiterhin bestand bei vier Patienten eine anhaltende Anfallsfreiheit für mindestens zwölf Monate mit anhaltender Anfallsfreiheit im weiteren Verlauf. Eine Patientin war bei Beobachtungsende einen Monat anfallsfrei, der Verlauf bleibt abzuwarten. Somit waren bei Beobachtungsende fünf von 17 Patienten mit IS anfallsfrei. Unter diesen betrug das mittlere Alter bei Beginn der zuletzt eingetretenen Anfallsfreiheit vier Jahre ($M = 4$ Jahre, $MD = 3 \frac{3}{12}$ Jahren). Die mittlere Dauer der aktuellen Anfallsfreiheit bei Beobachtungsende lag bei $7 \frac{3}{12}$ Jahren ($M = 7 \frac{3}{12}$ Jahre, $MD = 6 \frac{6}{12}$ Jahre). Fünf von 17 Kindern mit TSC und WS wurden zu keinem Zeitpunkt anfallsfrei. Bei einem Patienten mit IS lagen bezüglich Anfallsfreiheit keine Daten vor. In der Cox-Regression zeigte sich für die Wahrscheinlichkeit, anhaltende Anfallsfreiheit zu erlangen, kein signifikanter Unterschied für TSC-Patienten mit bzw. ohne WS ($p = ,181$).

6.3.3 Genetische Befunde des *TSC1*- und *TSC2*-Gens

Verwandte ersten Grades mit TSC fanden sich in acht Fällen (24,2 %), wobei sich bei zwei Patienten zusätzlich auch Verwandte zweiten Grades mit TSC eruieren ließen. Anamnestische Angaben zur erfolgten Durchführung einer molekulargenetischen Untersuchung lagen für 30 Patienten (90,9 %) vor. Zum Teil wurde auch eine maternale (22 Fälle, 66,7 %) und paternale

Gendiagnostik (18 Fälle, 58,1 %) durchgeführt. Geschwisteruntersuchungen fanden in sieben Fällen (23,3 %) statt.

Für fünf der acht Patienten mit familiärem TSC lag ein molekulargenetischer Befund vor. In einem Fall wurde eine *TSC1*-Mutation (molekulargenetisch nachgewiesene maternale Vererbung) und in vier Fällen eine *TSC2*-Mutation beschrieben (dreimal molekulargenetisch nachgewiesene maternale und einmal klinisch nachgewiesene paternale Vererbung). Des Weiteren fand sich bei 14 Patienten eine molekulargenetisch bestätigte *de novo*-Mutation auf dem *TSC2*-Gen. Außerdem lag der molekulargenetische Befund für weitere acht Patienten vor (vier *TSC1*- und vier *TSC2*-Mutationen), wobei bei nicht erfolgter elterlicher Diagnostik nicht sicher von einem *de novo* entstandenem TSC gesprochen werden kann. Bei zwei Patienten erbrachte die Gendiagnostik keinen Mutationsnachweis, sodass bei diesen Patienten ebenfalls nicht klar war, ob es sich um einen familiären oder sporadischen TSC handelt. Für einen Patienten lag kein Befund vor.

In *Tabelle A 9* (Anhang A: Tabellen) sind die einzelnen Mutationen des *TSC1*- und *TSC2*-Gens ausführlich dargestellt. Insgesamt lagen 29 Befunde vor. *Abbildung 29* bis *Abbildung 32* geben diese in Form einer graphischen Darstellung, sowohl innerhalb der Exon-Intron-Sequenz, als auch auf Proteinebene wieder. Dabei fanden sich 85 % der pathogen relevanten Mutationen auf dem *TSC2*-Gen (23 Patienten), 15 % betrafen das *TSC1*-Gen (vier Patienten). Die Genveränderungen lagen auf den Exons 15, 17, 18 und 21 des *TSC1*-Gens sowie auf den Exons 12, 14, 16-29, 30, 32-34, 36 und 40, als auch auf den Introns 16 und 40 des *TSC2*-Gens. Bezüglich des Mutationstyps wurden auf dem *TSC1*-Gen zwei Insertionen und zwei Deletionen beschrieben. Auf dem *TSC2*-Gen fanden sich nach absteigender Häufigkeit folgende Variationen: neun Deletionen, sechs Nonsense-Mutationen, drei Duplikationen, drei Missense-Mutationen sowie zwei Insertionen. Somit fanden sich Deletionen insgesamt mit 38 % am häufigsten, gefolgt von 23 % Nonsense-Mutationen. Sowohl auf dem *TSC1*- als auch auf dem *TSC2*-Gen war kein Mutationshotspot erkennbar.

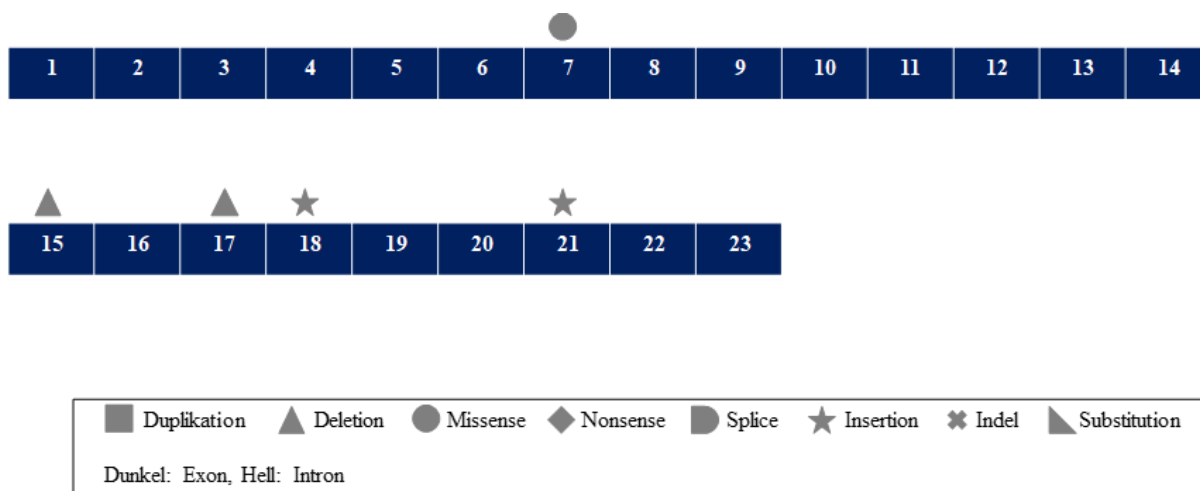


Abbildung 29: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 9 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des TSC1-Gens.

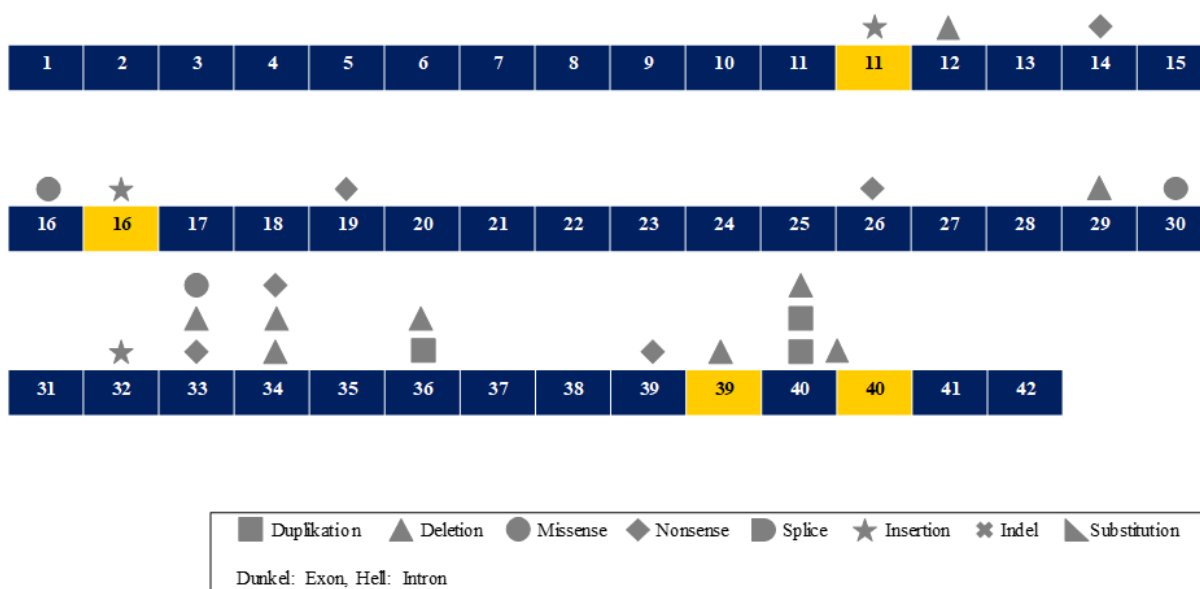
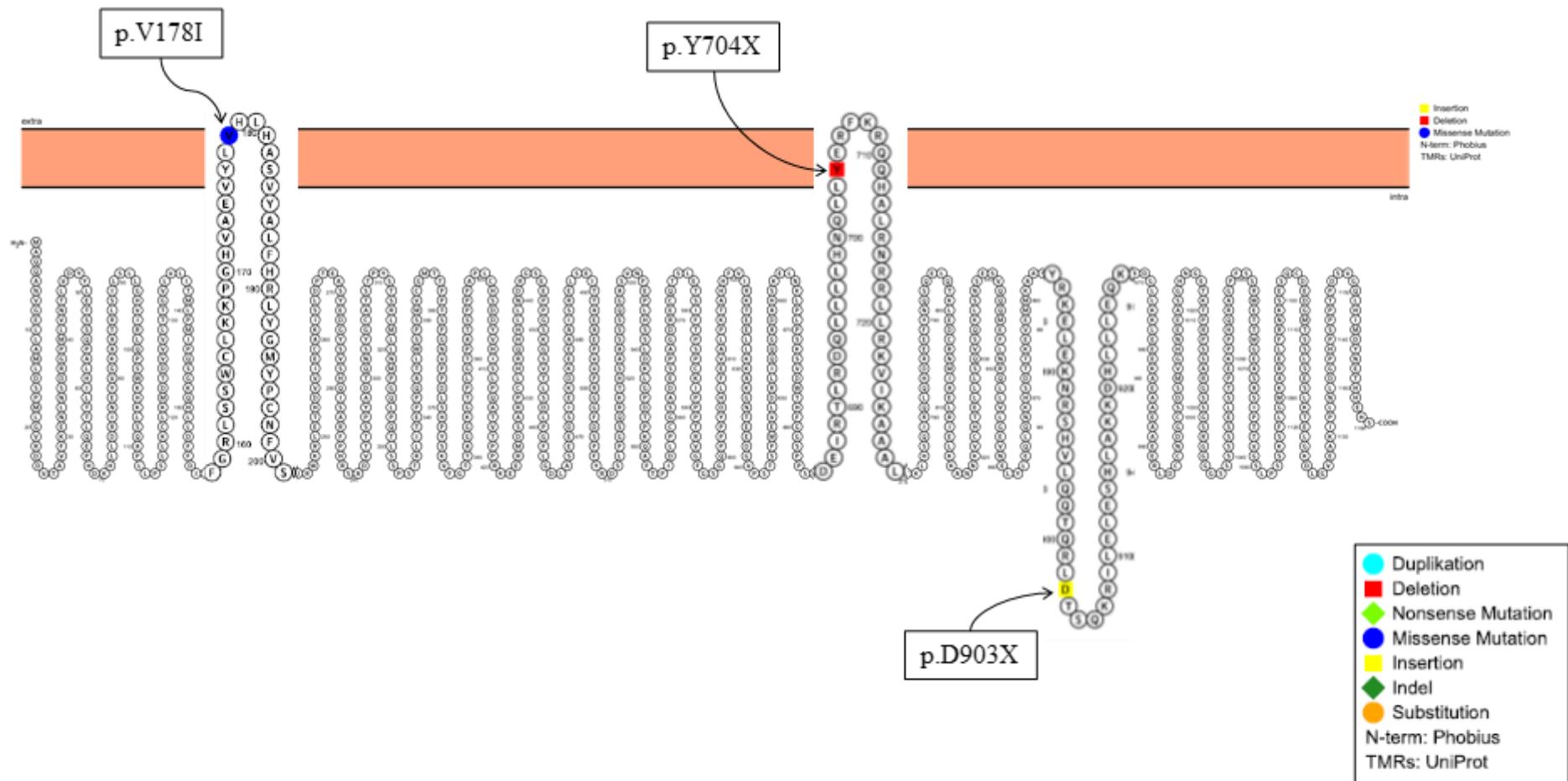
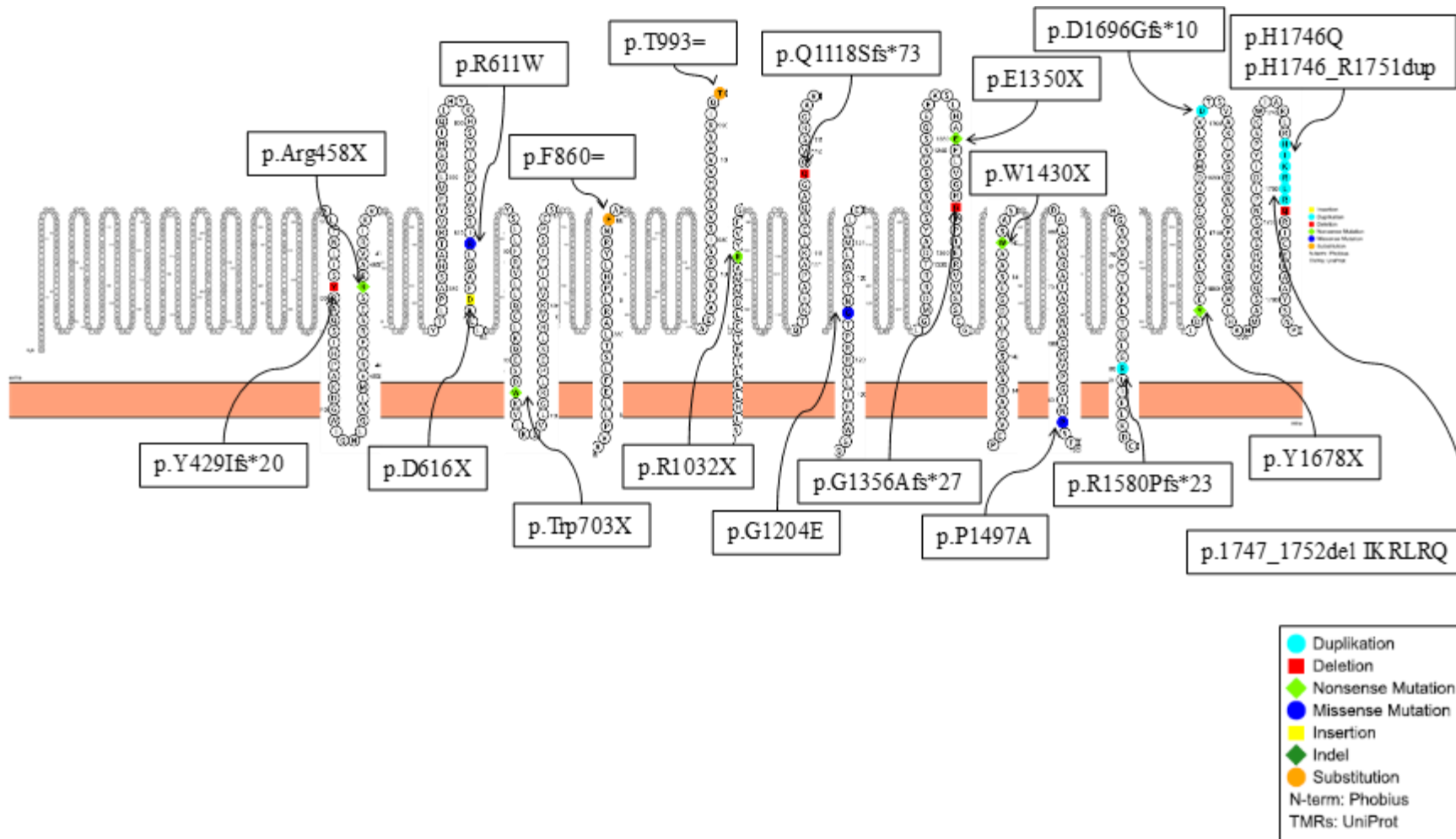


Abbildung 30: Kartierung der beschriebenen Mutationen aus Tabelle A 9 (siehe Anhang A: Tabellen) innerhalb der Exon-Intron-Sequenz des TSC2-Gens. Die große Deletion (Exon 16-29) ist in der Abbildung nicht dargestellt.



Protter - visualize proteoforms Omasits et al., Bioinformatics. 2013 Nov 21.

Abbildung 31: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Hamartin (TSC1-Gen) mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGs-Nomenklatur auf Proteinebene.



Protter - visualize proteoforms Omasits et al., *Bioinformatics*. 2013 Nov 21.

Abbildung 32: Graphische Darstellung des intrazellulär gelegenen Proteins Tuberin (TSC2-Gen) mit Kennzeichnung der in der vorliegenden Stichprobe gefundenen Mutationen entsprechend der HVGs-Nomenklatur auf Proteinebene.

6.3.4 Analyse des Entwicklungsstandes

35 Kinder mit TSC wurden bzgl. ihres Entwicklungsstandes erfasst. Sieben Kinder gingen aufgrund des geringen Alters noch nicht in die Schule. *Abbildung 33* gibt die Verteilung der einzelnen Schulformen wieder. Vier Kinder besuchten eine Regelschule ohne Förderbedarf. Ein Patient ging auf eine Regelschule mit Integrationsplatz und Schulbegleitung bei zudem bestehendem Förderschwerpunkt Lernen.

22 von 35 Kindern (62,9 %) wurden durch ein Förderzentrum betreut. In 19 Fällen (73,1 %) lag der Förderschwerpunkt für geistige Entwicklung vor und in fünf Fällen (21,7 %) für körperliche und motorische Entwicklung. Bei fünf Patienten bestand parallel mehr als ein Förderschwerpunkt. Unabhängig vom Schultyp lag bei 23 von 28 Schulkindern (85,2 %) ein Förderschwerpunkt vor (*Abbildung 34*).

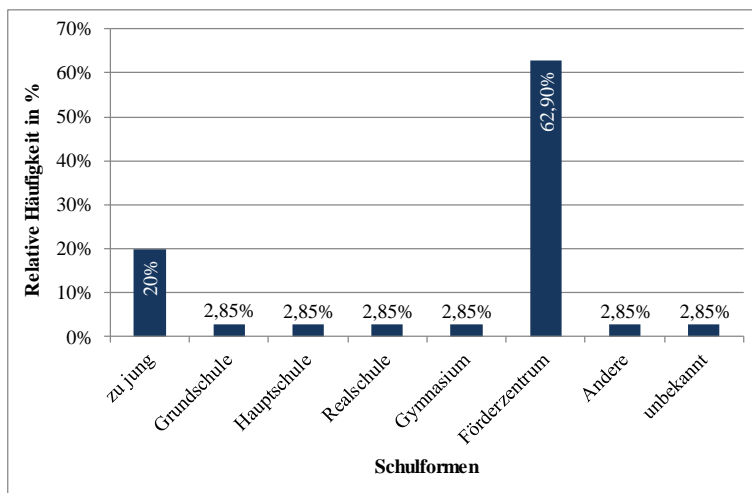


Abbildung 33: Relative Häufigkeiten der besuchten Schulformen unabhängig von zusätzlichem sonderpädagogischen Förderbedarf. Andere: Gesamtschule, N = 35.

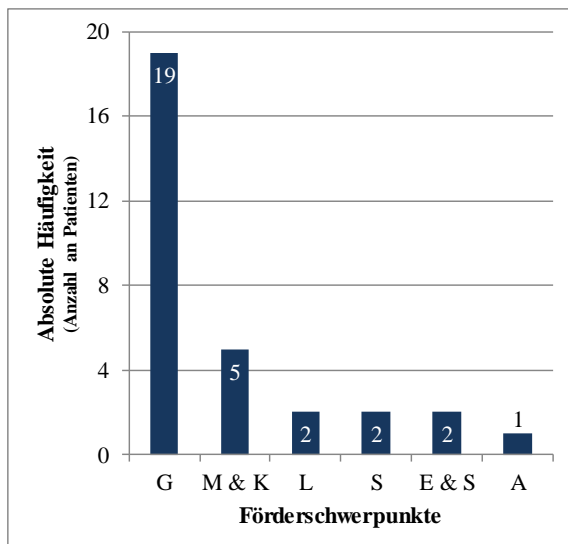


Abbildung 34: Absolute Häufigkeiten der einzelnen Förderschwerpunkte unabhängig vom besuchten Schultyp. Die Summe aller Förderschwerpunkte entspricht nicht der Anzahl an betroffenen Patienten, da teilweise mehrere Förderschwerpunkte bei einem Patienten bestanden. G: geistige Entwicklung, M & K: motorische und körperliche Entwicklung, L: Lernen, S: Sprache, E & S: emotionale und soziale Entwicklung, A: Autismus. $n_{\text{gesamt}} = 31$, $n_{\text{betroffene Patienten}} = 23$.

19 von 35 Kindern (54,3 %) gingen bei Beobachtungsende noch in die Schule, sieben von 35 Kindern (20 %) gingen noch nicht in die Schule. Von den neun verbliebenen Patienten beendeten zwei die Schule mit einem Hauptschulabschluss, weitere zwei mit einem Förderschulabschluss. Vier Patienten hatten keinen Abschluss. In einem Fall wurde im Anschluss an die Schullaufbahn eine Berufsausbildung abgeschlossen. Sieben Patienten hatten (noch) nicht mit einer nachschulischen Bildung begonnen. Für einen Patienten lagen sowohl für den Schulabschluss als auch für die nachschulische Bildung keine Daten vor.

Zur weiteren Beschreibung der Entwicklung von TSC-Patienten dienten neuropsychologische und motorische Faktoren. In *Abbildung 35* sind die Prävalenzen dieser Merkmale des TSC-Kollektivs als prozentuale Häufigkeiten abgebildet. Dabei traten Konzentrationsstörungen, Lese-Rechtschreib-Schwäche sowie Autismus in über 50 % der beschriebenen Fälle auf. Wahrnehmungsstörungen, mangelnde Impulskontrolle, Koordinations- und Gleichgewichtsstörungen mit je 42,1 % und Aggressivität mit einem Anteil von 40 % ließen sich ebenfalls recht häufig beobachten.

Die Berechnung des Phi-Koeffizienten diente der Darstellung der Korrelationen zwischen den untersuchten neuropsychologischen und motorischen Variablen. Die einzelnen Werte befinden sich in *Tabelle A 10* im Anhang A.

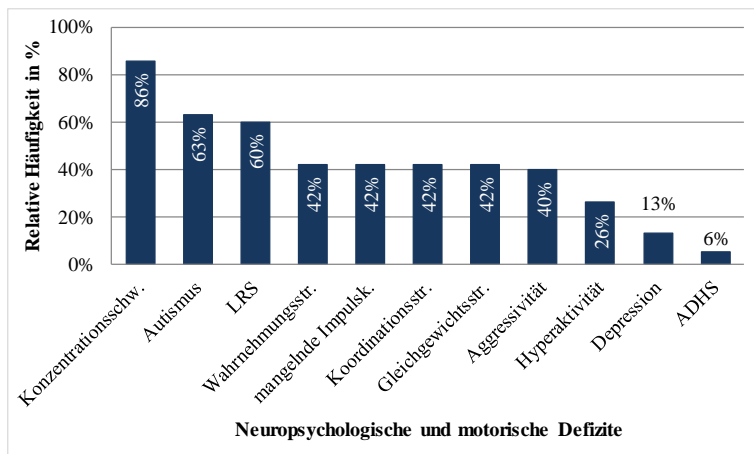


Abbildung 35: Relative Häufigkeiten neuropsychologischer und motorischer Defizite aus Arztberichten und Fragebogen ermittelt. Konzentrationschw.: Konzentrationschwierigkeiten, LRS: Lese-Recht-schreib-Schwäche Str.: Störung, Impulsk.: Impulskontrolle, ADHS: Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperakti-vitäts-Syndrom. n zwischen 15 und 21, abhängig von vorhanden Angaben durch die Eltern bzw. Patien-ten.

Zur aktuellen Wohn- und Betreuungssituation lagen folgende Daten vor: 24 TSC-Patienten (85,7 %) wohnten im Elternhaus und jeweils ein Patient war alleinlebend oder lebte im betreu-ten Wohnen. In zwei Fällen bestand eine anderweitige Wohnsituation (Lebensgemein-schaft/Wohngruppe). Bei 18 Patienten (69,2 %) war die Notwendigkeit einer dauerhaften Be-treuung angegeben. Außerdem erfolgte in insgesamt 17 Fällen (68 %) die Einstufung in eine Pflegestufe. Diesbezüglich lag bei einem Patienten (4 %) die Pflegestufe 0, bei vier Patienten (16 %) die Pflegestufe 1 und in fünf Fällen (20 %) die Pflegestufe 2 sowie in sieben Fällen (28 %) die Pflegestufe 3 vor.

6.3.5 Zusammenhang von Epilepsie und Genetik beim TSC

6.3.5.1 Vergleich von familiärem TSC mit sporadischem TSC

In acht Fällen lag ein paternal oder maternal vererbter TSC vor. In dieser Gruppe des familiär vererbten TSC befand sich der einzige Patient der TSC-Kohorte ohne Epilepsie. Zwei der sie-ben Patienten mit Epilepsie und familiärem TSC wiesen IS auf. Alle sieben Patienten mit Epi-lepsie waren bei Beobachtungsende über mindestens zwölf Monate anhaltend anfallsfrei. Somit zeigten alle acht Patienten (100 %) mit familiärer Vererbung Anfallsfreiheit (n = 7 in anhalten-der Remission und n = 1 ohne Epilepsie). Bei Beobachtungsende wurde bei fünf familiären Epilepsiepatienten keine antikonvulsive medikamentöse Therapie mehr durchgeführt, zwei Pa-tienten befanden sich unter einer antiepileptischen Monotherapie. Bei diesen sieben Patienten wurde keine ketogene Diät, keine epilepsiechirurgische Maßnahme, keine Vagusnervstimula-tion und kein Therapieversuch mit Everolimus durchgeführt. Eine familiäre Vorbelastung für

Epilepsie bestand bei fünf Patienten. Dabei fanden sich anamnestisch drei Fälle mit Verwandten I° mit Epilepsie bei zugleich bestehendem TSC, sowie drei Fälle mit Verwandten II° mit Epilepsie bei ebenfalls bestehendem TSC in einem Fall.

In 14 Fällen ließ sich molekulargenetisch eine Neumutation bestätigen. 50 % dieser Patienten hatten IS (sieben Patienten). Die Betrachtung dieses Subkollektivs mit sporadischem TSC ergab bei Beobachtungsende anhaltende Anfallsfreiheit für mindestens zwölf Monate in vier Fällen (28,6 %), 1-10 Anfälle pro Monat wurden bei drei Patienten (21,4 %) und über 30 Anfälle pro Monat bei sieben Patienten (50,0 %) beobachtet. Alle 14 Patienten erhielten zu diesem Zeitpunkt Antikonvulsiva, davon die Hälfte als Mono-, fünf Patienten als Zweifach-Kombinations- und zwei Patienten als Dreifach-Kombinationstherapie. Bei einer Patientin erfolgte zudem bereits ein Behandlungsversuch mit ketogener Diät, bei einer zweiten Patientin wurden ein epilepsiechirurgischer Eingriff sowie die Implantation eines VNS durchgeführt. Everolimus erhielten neun Patienten mit gesichertem sporadischem TSC. Unter den 14 Fällen mit Neumutation fanden sich bei einem Patienten sowohl Verwandte I° als auch II° mit Epilepsie, bei einem weiteren Patienten nur Verwandte II° mit Epilepsie.

Die statistische Berechnung mittels logistischer Cox-Regression ergab für den Epilepsiebeginn einen signifikanten Unterschied ($p = ,006$) zwischen familiärem und sporadischem TSC bei einem Koeffizienten $B = -1,821$ und $\text{Exp}(B) = ,162$ (95 %- Konfidenzintervall für $\text{Exp}(B)$ 0,44 - 0,593). Die relative Wahrscheinlichkeit, eine Epilepsie zu entwickeln, sinkt beim familiären TSC im Vergleich zum sporadischen TSC pro Zeiteinheit (hier in Monaten berechnet) somit um 83,8 %. Die Berechnung für das Anfallsintervall (Zeitraum vom Epilepsiebeginn bis zum Beginn der Anfallsfreiheit) ergab ebenfalls einen signifikanten Unterschied ($p = ,001$). Im Falle eines familiären TSC steigt die relative Wahrscheinlichkeit, anhaltende Anfallsfreiheit zu erlangen, im Vergleich zum sporadischen TSC pro Zeiteinheit (hier in Monaten berechnet) um 778 % ($B = 2,173$, $\text{Exp}(B) = 8,782$; 95 %- Konfidenzintervall für $\text{Exp}(B)$ 2,468 - 31,247). Der signifikante Unterschied, Anfallsfreiheit zu erlangen, für familiäre gegenüber sporadischen Patienten mit TSC, blieb auch bei Hinzunahme der Variablen „Geschlecht“ und „Alter bei Beobachtungsende“ als weitere Kovariaten erhalten ($p = ,002$).

6.3.5.2 Vergleich familiäre Epilepsie mit sporadischer Epilepsie

Es wurden Patienten mit familiärer Epilepsie (Verwandte ersten Grades mit Epilepsie) mit Patienten mit sporadischer Epilepsie (keine Verwandten ersten Grades mit Epilepsie) bezüglich des therapeutischen Ansprechens miteinander verglichen. 83,3 % der Patienten mit familiärer

Epilepsie (fünf von sechs Patienten) waren bei Beobachtungsende anhaltend anfallsfrei, während in der Vergleichsgruppe in 37 % Anfallsfreiheit vorlag (zehn von 27 Patienten). Von den 17 Patienten letztgenannter Gruppe, welche einen therapieresistenten Verlauf aufwiesen, traten bei neun Patienten (34,6 %) weiterhin über 30 Anfälle pro Monat auf. In drei der sechs Fälle mit familiärer Epilepsie lag zeitgleich ein TSC vor, in allen drei Fällen war die Mutter betroffen. Die logistische Cox-Regression ergab keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Epilepsiebeginns oder des Erreichens anhaltender Anfallsfreiheit zwischen Patienten mit familiärer und sporadischer Epilepsie ($p = ,098$).

6.3.5.3 Vergleich *TSC1*- mit *TSC2*-Mutationen

Als weiterer Schritt wurde der Epilepsieverlauf von Patienten mit *TSC1*-Mutation mit denjenigen mit zugrundeliegender *TSC2*-Mutation verglichen. Bei 27 Patienten lagen molekulargenetische Befunde vor, in vier Fällen eine *TSC1*- und in 23 Fällen eine *TSC2*-Mutation.

Der Epilepsiebeginn bei *TSC1*-Mutation lag bei MD = 1 10/12 Jahren ($M = 1\ 10/12$ Jahre), bei *TSC2*-Mutation bei MD = 5/12 Jahre ($M = 8/12$ Jahre). Die logistische Cox-Regression ergab für den Epilepsiebeginn keinen signifikanten Unterschied zwischen *TSC1*- und *TSC2*-Mutationen ($p = ,168$). Bezüglich der Anfallstypen zeigten sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen *TSC1*- und *TSC2*-Mutationen ($p > ,050$).

Von vier Patienten mit bekannter *TSC1*-Mutation waren drei bei Beobachtungsende anhaltend anfallsfrei, der Beginn der Anfallsfreiheit lag dabei bei MD = 3 3/12 Jahren ($M = 5\ 1/12$ Jahre). In einem Fall traten weiterhin 11-30 Anfälle pro Monat auf. Bei vorliegender *TSC2*-Mutation fanden sich bei Beobachtungsende neun anfallsfreie Patienten sowie fünf Patienten mit 1-10 und neun Patienten mit über 30 Anfällen pro Monat. Der Median für das Alter bei Beginn der Anfallsfreiheit betrug bei *TSC2*-Patienten MD = 2 7/12 Jahre ($M = 2\ 6/12$ Jahre). Zwischen *TSC1*- und *TSC2*-Mutationen fand sich in der Cox-Regression kein signifikanter Unterschied für die Wahrscheinlichkeit, anhaltende Anfallsfreiheit zu erlangen ($p = ,355$). Im folgenden Abschnitt wird auf die unterschiedlichen *TSC2*-Mutationstypen näher eingegangen. Auf einen Vergleich der *TSC1*-Mutationstypen wurde aufgrund der geringen Anzahl an Patienten verzichtet.

6.3.5.4 Vergleich unterschiedlicher *TSC2*-Mutationstypen

In allen drei Fällen mit Missense-Mutationen lag der Epilepsiebeginn jenseits des ersten Lebensjahres (MD = 2 7/12 Jahre), IS traten nicht auf, das Anfallsintervall betrug wenige Monate

(MD = 5/12 Jahre) und bei Beobachtungsende waren alle drei Patienten anhaltend anfallsfrei. Zum Vergleich der einzelnen Mutationstypen siehe *Tabelle 12*.

Tabelle 12: Angaben zum Epilepsieverlauf in Abhängigkeit der genetischen TSC2-Variationen. IS = Infantile Spasmen, Pat. = Patient.

Mutationstyp	Anzahl Pat. (n = 23)	Epilepsiebeginn (Median)	IS (absolut)	Anfallsintervall (Median)	Anfallsfreiheit bei Beobachtungsende (absolut)
Missense	3	2 7/12 Jahre	0	5/12 Jahre	3 (ohne IS)
Nonsense	6	3/12 Jahre	4	8 3/12 Jahre	1 (mit IS)
Deletionen	9	6/12 Jahre	6	4 10/12 Jahre	2/1 (ohne/mit IS)
Duplikationen	3	5/12 Jahre	1	17 Jahre	1 (ohne IS)
Insertionen	2	2/12 Jahre	2	9 9/12 Jahre	1

6.3.5.5 Vergleich genetischer Faktoren beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen

Berechnungen mit dem exakten Test nach Fisher ergaben, dass zwischen TSC-Patienten mit IS im Vergleich zu TSC-Patienten ohne IS bezüglich des krankheitsverursachenden Gens kein signifikanter Unterschied bestand ($p = ,326$). Auch in Hinblick auf den Mutations-Variationstyp fand sich kein signifikanter Unterschied im Vergleich der beiden oben genannten Subgruppen (TSC mit IS vs. TSC ohne IS) ($p > ,143$).

6.3.6 Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung beim TSC

6.3.6.1 Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten

Innerhalb der gesamten Stichprobe ($N = 35$) lag in einem einzelnen Fall keine Epilepsie vor. Dieser Patient wies eine normale Entwicklung auf und besuchte als Einziger innerhalb der TSC-Gesamtstichprobe ein Gymnasium. Sonderpädagogischer Förderbedarf bestand bei ihm nicht. Bei Beobachtungsende ging er noch in die Schule. Bis auf Konzentrationsschwierigkeiten bestanden bei dem TSC-Patienten ohne Epilepsie keine neuropsychologischen oder motorischen Defizite. Die Wohn- und Betreuungssituation ergab einen altersgerechten Status, gesonderter Pflegebedarf lag in diesem Einzelfall ebenfalls nicht vor.

6.3.6.2 Vergleich der Entwicklung von anfallsfreien und nicht anfallsfreien Patienten

In der Gruppe der anfallsfreien Patienten lag der mediane Epilepsiebeginn bei 11/12 Jahren (1/12 bis 3 11/12 Jahre). Anfallsfreiheit wurde im Alter von 5 5/12 Jahren erreicht ($M = 5 5/12$

Jahre, SD = 4 8/12 Jahre, MD = 4 5/12 Jahre). Fünf von 15 Patienten, die anfallsfrei wurden, wiesen IS auf. Bei Beobachtungsende lag das mittlere Alter bei 13 7/12 Jahren (M = 13 7/12 Jahre, SD = 7 3/12 Jahre, MD = 14 3/12 Jahre).

In der Gruppe der nicht anfallsfreien Patienten lag der Median bei Epilepsiebeginn bei 4/12 Jahren (1/12 bis 3 5/12 Jahre). Zwölf der 19 Patienten, die nicht anfallsfrei wurden, hatten IS. Die Kinder, die nicht anfallsfrei wurden, waren bei Beobachtungsende 11 9/12 Jahre alt (M = 11 9/12 Jahre, SD = 7 7/12 Jahre, MD = 10 11/12 Jahre).

Bezüglich des schulischen und nachschulischen Bildungsweges zeigte sich bei Beobachtungsende kein signifikanter Unterschied bezüglich der 34 Epilepsiepatienten hinsichtlich Anfallsfreiheit und Nicht-Anfallsfreiheit. Auch lagen keine signifikanten Unterschiede in Hinblick auf das Vorliegen von sonderpädagogischem Förderbedarf (Integrationsplatz, Schulbegleitung) vor (exakter Test nach Fisher, exakte Signifikanz $p > ,050$).

Signifikante Unterschiede zeigten sich im exakten Test nach Fisher für die neuropsychologischen Variablen Hyperaktivität ($p = ,036$), Aggressivität ($p = ,020$) und Autismus ($p = ,043$). Die genannten drei Variablen, d.h. Hyperaktivität, Aggressivität und Autismus, korrelierten signifikant positiv mit fehlender Anfallsfreiheit (ϕ -Koeffizient negativ, $p < ,050$).

Die Analysen zur Betreuungs- und Pflegesituation und dabei spezifisch für die Variablen „dauerhafte Betreuung“ und „Pflegestufe“, ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen anfallsfreien und nicht-anfallsfreien TSC-Patienten (exakte Signifikanz $p > ,050$ bei Berechnung mit dem exakten Test nach Fisher).

6.3.6.3 Vergleich der Entwicklung beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen

Zum Vergleich von TSC-Patienten mit IS und TSC-Patienten ohne IS erfolgten dieselben Berechnungen wie in Abschnitt 6.3.6.2 (siehe S. 67). Es ließen sich keine signifikanten Unterschiede in der Entwicklung dieser beiden Patientengruppen nachweisen. Auch für das LGS bestand bei vorausgegangenem WS kein erhöhtes Risiko ($p > ,050$).

7 Diskussion

7.1 Neurofibromatose Typ 1 (NF1)

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, zunächst das Gesamtkollektiv sowohl anhand phänotypischer als auch anhand genotypischer Merkmale zu beschreiben und bei Vorliegen einer Epilepsie, den Epilepsieverlauf darzustellen. Im Anschluss erfolgte ein Vergleich von NF1-Patienten mit und ohne Epilepsie.

7.1.1 Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien

Innerhalb der vorliegenden Kohorte von NF1-Patienten fiel auf, dass bei der familiären im Vergleich zur sporadischen Form ebenso wie bei Epilepsiepatienten im Vergleich zu Nicht-Epilepsiepatienten die Diagnose deutlich früher gestellt wurde. Bezüglich erstgenannten Vergleiches ist dies naheliegend, da bei positiver Familienanamnese mit einem betroffenen Verwandten I° nur ein weiteres klinisches Kriterium zur Diagnosestellung notwendig ist. Café-au-lait-Flecken sind zumeist von Geburt an vorhanden, sodass bei Vorliegen eines Verwandten I° die Diagnose bereits gesichert ist. Im Rahmen von Neumutationen besteht zum einen noch keine Sensibilisierung des Untersuchers auf diskrete NF1-Befunde zu achten, sodass diese bei milder Ausprägung vermutlich auch häufig übersehen werden. Zum anderen treten weitere klinische Diagnosekriterien (zusätzlich zu Café-au-lait-Flecken) erst im Verlauf auf, sodass ohne eine genetische Untersuchung im Säuglings- und frühen Kleinkindalter häufig nur der V.a. eine NF1 geäußert werden kann. Dies entspricht den Angaben einschlägiger Literatur (Gomez und Batista 2015; Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009). Dass die Diagnose bei vorhandener Epilepsie ebenfalls früher erfolgt, wurde in bisherigen Studien noch nicht beschrieben. Jedoch ist fraglich, ob tatsächlich die Epilepsie in der Kohorte unserer Studie als ursächlich für die frühe Diagnosestellung angesehen werden darf. Sechs von sieben Patienten wiesen eine familiäre Form auf, sodass auch dieser Grund für den frühen Diagnosezeitpunkt verantwortlich sein könnte. Bei drei Kindern mit WS und NF1 führten diese frühen Anfälle, welche sich innerhalb des ersten Lebensjahres manifestieren, zur Diagnose NF1. Immerhin betrug die Prävalenz für ein WS innerhalb der Gesamtkohorte nahezu 6 %, während in bisherigen Studien eine Prävalenz bis 1 % angegeben wurde (Ruggieri et al. 2009). Da ein WS zumeist in einem Epilepsiezentrum behandelt wird, ist für die vorliegende Prävalenz ein Bias anzunehmen.

Bezüglich der Diagnosekriterien soll an dieser Stelle erwähnt werden, dass die Häufigkeit der einzelnen Symptome nicht das Alter der Patienten widerspiegeln. Einige Patienten wurden

während der Studiendurchführung aufgrund eines Umzugs oder des erreichten Erwachsenenalters nicht mehr in der Studienklinik betreut, sodass aktuelle körperliche Untersuchungsbefunde nicht vorlagen und entweder auf ältere Befunde oder anamnestische Angaben Bezug genommen wurde. Allerdings sollten die Diagnosekriterien nur der erneuten Bestätigung der Diagnose dienen, anderweitige Aussagen dürfen aus der vorliegenden deskriptiven Statistik der Diagnosekriterien nicht gezogen werden.

7.1.2 Epilepsien bei NF1

Epilepsie bei NF1 bildete den Mittelpunkt dieser Arbeit. Dabei bestand ein erster wichtiger Aspekt darin, die Prävalenz von Epilepsie (und damit von wiederholten, unprovokierten epileptischen Anfällen) bei NF1 zu erfassen. In dieser Studie lag die Prävalenz für Epilepsien mit 13,7 % im Bereich beschriebener Angaben. In einer erst vor kurzem veröffentlichten Studie von Pecoraro et al. (2017) wurde die Prävalenz für Epilepsien bei NF1 mit 14 % angegeben. Eine Reihe von Studien gibt allerdings geringere Prävalenzen an. Der in dieser Studie hohe Anteil an Epilepsiepatienten könnte einerseits durch das retrospektive Studiendesign sowie andererseits durch die Durchführung der Studie an einem Epilepsiezentrum und somit durch ein Bias bedingt sein. Diesbezüglich sei darauf hingewiesen, dass einzelne Kinder primär aufgrund epileptischer Anfälle und nicht aufgrund der NF1 in der hiesigen Neuropädiatrie vorstellig wurden. Andere, ebenfalls retrospektive sowie Single-Center-Studien, unterschieden sich von der hier vorliegenden Studie vor allem darin, dass die Stichprobe bei diesen bedeutend größer war, sodass einzelne Fälle deutlich weniger ins Gewicht fielen (Hsieh et al. 2011; Ostendorf et al. 2013). In der Studie von Hsieh et al. (2011) wurde von 37 Epilepsiepatienten innerhalb einer Gesamtkohorte von 630 NF1-Patienten berichtet (5,9 %), Ostendorf et al. (2013) gaben 51 Epilepsiepatienten unter 536 NF1-Patienten an (9,5 %). Außerdem sollte bedacht werden, dass das allgemeine Risiko für Epilepsie in der Bevölkerung ein Prozent beträgt, welches dann vermutlich auch für NF1-Patienten gilt. Damit wäre auch ein zufälliges, paralleles Auftreten von NF1 und Epilepsie in vereinzelt Fällen möglich. Insbesondere bestimmte generalisierte Epilepsieformen (IGE/GGE), wie z.B. die JME, wie sie bei einem Patienten vorlag, lassen an eine derartige Konstellation denken. Pecoraro et al. (2017) diskutierten ebenfalls ein Bias durch Zuweisung entsprechender Patienten zur untersuchenden Klinik. Zudem wurde ein erhöhtes Alter der Patienten als Ursache für die deutlich höhere Prävalenz im Vergleich zu vorherigen Studien aufgeführt. Mit zunehmendem Alter steigt das Tumorrisiko und damit das Risiko einer strukturellen Epilepsie im Zusammenhang mit intrazerebralen Tumoren. Das Alter der Patienten lag

in der Studie von Pecoraro et al. (2017) bei $18,2 \pm 15,8$ Jahren. In der vorliegenden pädiatrischen Untersuchung lag mit MD= 13 Jahren ein geringeres Alter vor, was vermutlich auf die Zuweisung an das hiesige Epilepsiezentrum der Kinderklinik zurückzuführen ist. Dies erhöht den Prozentsatz an Patienten mit Epilepsie bei NF1.

Des Weiteren wurde der Epilepsieverlauf, vor allem in Hinblick auf die Frage, in welchem Alter die Epilepsie beginnt und ob es zu anhaltender Anfallsfreiheit kommt, genauer betrachtet. Der Median für die Erstdiagnose der Epilepsie betrug $3 \frac{7}{12}$ Jahre und lag damit niedriger als in der Literatur angegeben. Allerdings war der älteste Patient in dieser Studie knapp 25 Jahre alt, während anderweitige Studien Betroffene bis ins hohe Erwachsenenalter einschlossen und sich in einigen Fällen die Epilepsie erst in höherem Alter manifestierte (Hsieh et al. 2011; Ostendorf et al. 2013; Kulkantrakorn und Geller 1998). Zum Zeitpunkt der Datenerfassung bestand bei 71,4 % (fünf von sieben Patienten) Anfallsfreiheit seit mindestens zwölf Monaten. Ähnliche Ergebnisse (bei ausschließlicher Betrachtung der Patienten mit mehrfach unprovokierten Anfällen) ergab eine Studie von Kulkantrakorn und Geller (1998), während die Daten für Anfallsfreiheit von Hsieh et al. (2011) und Vivarelli et al. (2003) unter 60 % lagen. 28,6 % der Patienten der vorliegenden Studie wurden unter einer antiepileptischen Monotherapie anhaltend anfallsfrei. Diese Daten sind vergleichbar mit den Resultaten von Ostendorf et al. (2013), welche bei 34 % ihrer Patienten eine gute Anfallskontrolle ohne Medikation oder unter Monotherapie vermerkten. Die Diskrepanz zu den beschriebenen 60 % anfallsfreier Patienten in Studien von Korf et al. (1993) und Kulkantrakorn und Geller (1998) ergibt sich vermutlich daraus, dass in letztgenannten beiden Studien auch Patienten mit Fieberkrämpfen und/oder einmaligem unprovokiertem Anfall Beachtung fanden. In der vorliegenden Kohorte kam es unter einer Zweifach-Kombinationstherapie in weiteren 42,8 % zum Sistieren der Anfälle. Vergleichbare Ergebnisse in der Literatur wurden nicht gefunden. Bezüglich der Anfallsformen ließ sich das durch mehrere Studien beschriebene äußerst heterogene Bild mit fokalen und generalisierten Anfällen sowie IS bestätigen. Im Gegensatz zu Ostendorf et al. (2013) fanden sich allerdings vermehrt primär generalisierte Anfälle (zwei von sieben Patienten). Dies kann möglicherweise darauf zurückgeführt werden, dass primär generalisierte Epilepsieformen eine deutliche Assoziation mit dem Kindes- und Jugendalter aufweisen und die Epilepsien mit Beginn im Erwachsenenalter, welche überwiegend fokaler Genese sind, in der vorliegenden Studie aufgrund des pädiatrischen Kollektivs nicht enthalten waren (Sidenvall et al. 1993; Hauser und Beghi 2008). Der Übergang einer generalisierten in eine fokale Epilepsie konnte, wie zuvor auch schon bei Kulkantrakorn und Geller (1998), nicht beobachtet werden.

7.1.2.1 West-Syndrom bei NF1

Die Prognose des WS bei NF1 scheint sich aufgrund des beobachteten äußerst günstigen Verlaufs deutlich von anderen neurokutanen Syndromen abzuheben (Motte et al. 1993). In der vorliegenden Arbeit fand sich eine Prävalenz von 5,9 % für ein WS bezogen auf die Gesamtkohorte. Ein ähnliches Ergebnis ergab eine Studie von Hsieh et al. (2011), während eine spezifische Studie zu NF1 und IS nur in 0,76 % ein WS feststellte (Ruggieri et al. 2009). Die letztgenannte Studie unterschied sich darin, dass sie zum einen ein multizentrisches als auch retro- und prospektives Studiendesign aufwies und die Stichprobe mit über 1000 NF1-Patienten deutlich größer war. Damit wäre ein Bias, wie bereits weiter oben zur allgemeinen Epilepsieprävalenz beschrieben, in der vorliegenden Studie denkbar. Ätiologisch ließ sich für das WS keine strukturelle Ursache eruieren. Diese Tatsache ließ bereits Motte et al. (1993) in Zusammenschau mit einer äußerst günstigen Prognose große Ähnlichkeiten mit der idiopathischen Form des WS erkennen. Dahingegen beschrieb Ruggieri et al. (2009) das WS bei NF1 als eine Mischung aus der symptomatischen und kryptogenen Form. Für eine idiopathische oder kryptogene Form sprach das sehr gute therapeutische Ansprechen bei allen drei betroffenen Kindern. Während Ruggieri et al. (2009) eine bessere Wirkung durch eine Behandlung mit Kortikosteroiden im Vergleich zu Vigabatrin beobachteten, ließ sich dies in der vorliegenden Studie nicht bestätigen. Ein Kind sprach sehr gut auf ACTH an. In einem weiteren Fall ließ sich auch durch eine zweimalige Stoßtherapie mit Prednison keine anhaltende Anfallsfreiheit erzielen, sodass letzten Endes die Eindosierung von Vigabatrin zum gewünschten Erfolg führte. Das dritte Kind erhielt direkt Vigabatrin. Damit fanden sich Parallelen zum TSC, bei welchem Vigabatrin als Medikament der ersten Wahl bei IS empfohlen wird (Bast und Wiemer-Kruel 2014). Somit kann in Zusammenschau aller Ergebnisse der verschiedenen Studien kein klarer Vorteil für Kortikosteroide oder Vigabatrin bei NF1 abgeleitet werden. In der hiesigen Klinik bevorzugen wir Prednisolon als orale Therapie. Diese Therapie verursacht keine Schmerzen und bei Erreichen von Anfallsfreiheit kann somit auf ACTH verzichtet werden. In der ICIS-Studie (Internationale Collaborative Infantile Spasms Study) wurde ACTH versus Prednisolon (Hormontherapie) mit und ohne Vigabatrin verglichen. Die Kombinationstherapie (hormonelle Therapie mit Vigabatrin) zeigte sich gegenüber einer rein hormonellen Therapie signifikant effektiver bezüglich des Erreichens einer raschen initialen Anfallsfreiheit (O'Callaghan et al. 2017). Allerdings ließ sich beim 18-Monate-Follow-up kein signifikanter Unterschied in Hinblick auf das Entwicklungs- und Epilepsie-Outcome nachweisen (O'Callaghan et al. 2018). Zwei Patienten der vorliegenden Studie mit IS litten zudem an dyskognitiven Anfällen, zum Teil auch mit

sekundärer Generalisierung. Diese traten bei einem zeitgleich zu IS auf, während sie sich beim anderen im weiteren Verlauf nach über zwölf Monaten Anfallsfreiheit nach IS entwickelten. Diesen Übergang von IS in andere Anfallsformen beschrieben auch Ruggieri et al. (2009) bei einzelnen Patienten, wohingegen in vielen Fällen, wie hier bei einer Patientin, im Verlauf keinerlei weitere epileptische Anfälle aufkamen. Des Weiteren wurde übereinstimmend mit Literaturangaben kein erhöhtes Risiko für Entwicklungsstörungen oder ein intellektuelles Defizit bei diesen Patienten beobachtet. Damit wäre streng genommen die Trias des WS nicht mehr erfüllt, aufgrund dessen besser von IS als vom WS gesprochen werden sollte. Der Verlauf des WS bzw. der IS bei NF1 mit dem guten Therapieansprechen ähnelt im Verlauf sehr dem idiopathischen WS. Da es sich jedoch bei NF1 um eine genetische sowie neurologische Erkrankung handelt, sollte besser von einer kryptogenen Form gesprochen werden (Ruggieri et al. 2009). Diesbezüglich wurde schon von Vigevano et al. (1993) eine genetische Prädisposition oder eine metabolische Reifestörung des Gehirns diskutiert.

7.1.3 Genetische Befunde des *NF1*-Gens

Bezüglich des Genotyps lagen 16 molekulargenetische Befunde vor, welche übereinstimmend mit der Literatur keinen Mutationshotspot und nicht denselben Mutationstyp aufwiesen (Fahsold et al. 2000; Nemethova et al. 2013). Zwei Mutationen (siehe Anhang A: Tabellen, *Tabelle A 3*) waren zuvor noch bei keinem Patienten beschrieben worden. Da die Klinik aber das typische Bild einer NF1 aufwies, können diese beiden nachgewiesenen Genveränderungen als pathogen angenommen werden und erweitern somit das bereits bekannte, enorme krankheitsverursachende Mutationsspektrum im *NF1*-Gen. Entsprechend den Angaben aus der Literatur erfolgten auch in der vorliegenden Kohorte genetische Untersuchungen gehäuft bei sporadischer NF1, da in diesem Fall insbesondere im Säuglings- und frühen Kleinkindalter die klinischen Diagnosekriterien noch keine Diagnosestellung zulassen (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009).

7.1.4 Entwicklung bei NF1

Zunächst sollte die Entwicklung der Kinder anhand der Schulbildung deskriptiv aufgezeigt werden. Die Studienlage zum Thema Schulleistung bei NF1 ist bisher sehr rar, sodass letzten Endes nur eine Arbeit von Krab et al. (2008) mit einer dänischen Kohorte zum Vergleich herangezogen werden konnte. Übereinstimmend zeigte sich, dass über die Hälfte der NF1-Patienten eine Regelschule besuchte, während etwa ein Drittel an einem spezialisierten Förderzentrum be-

schult wurde. Zusätzlich zeigte Krab et al. (2008) auf, dass 85 % der Kinder zusätzliche Förderung in der Schule aufgrund von Lern-, Sprach- oder Verhaltensproblemen sowie aufgrund von motorischen Defiziten erhielten. Letztere waren mit 42 % vergleichbar mit den Angaben zu Gleichgewichts- (58 %) und Koordinationsstörungen (38 %) in der vorliegenden NF1-Kohorte. Die Lern (73 %) - und Sprachprobleme (36 %) der dänischen Kohorte spiegeln sich in den entsprechenden sonderpädagogischen Förderschwerpunkten der vorliegenden Studie wider. In der vorliegenden Arbeit war alleinig die sonderpädagogische Förderung in der Schule von Bedeutung. Da Schulkonzepte inklusive entsprechender Fördermöglichkeiten schon national und insbesondere international sehr unterschiedlich gestaltet werden, existieren keine weiteren vergleichbaren Daten in der Literatur. Es sollten weitere Studien durchgeführt werden, um den allgemeinen Unterstützungs- und Förderbedarf für NF1-Patienten besser beschreiben zu können. Diese Informationen würden helfen, NF1-Patienten im klinischen Alltag besser zu betreuen und Fördermaßnahmen gezielter anbieten und durchführen zu können.

Zur weiteren Einschätzung der Entwicklung erfolgte die Erfassung multipler Variablen zu neuropsychologischen Defiziten im Kindesalter. Erstaunlicherweise fanden sich für alle neuropsychologischen Merkmale, Autismus ausgenommen, geringere Prävalenzen als in der Literatur für Kinder angegeben. Depression und ADHS mit knapp über 10 % in der Gesamtkohorte standen den beschriebenen 20 % bzw. 30-50 % aus der Literatur gegenüber (Klein-Tasman et al. 2014; Garg et al. 2015; Diggs-Andrews et al. 2013). Auch für mangelnde Impulskontrolle und Hyperaktivität als Merkmale eines ADHS lagen die Häufigkeiten in der vorliegenden Arbeit unter 30 %. Die Prävalenz für Autismus wird je nach Studie zwischen vier und 25 % angegeben, sodass die in dieser Stichprobe gefundene Prävalenz mit 13 % im mittleren Bereich lag (Garg et al. 2015; Gillberg und Forsell 1984). Übereinstimmend mit Literaturangaben fanden sich motorische Defizite mit 38 % für Koordinations- und 58 % für Gleichgewichtsstörungen und lagen somit ebenfalls im mittleren Bereich bereits vorhandener Daten (Iannuzzi et al. 2016). Im Allgemeinen sollte hierbei bedacht werden, dass die Auswertung dieser Variablen in der vorliegenden Studie auf den Angaben von den Familien basierten und keine gezielte Testung zur Evaluation durchgeführt wurde. Dass gerade die neuropsychologischen Merkmale im Gegensatz zu motorischen Problemen von bisherigen Literaturangaben abweichen, könnte daran liegen, dass die beschriebenen Variablen von den Familien oder vom Patienten selbst schwer einzuschätzen waren und somit die Beantwortung dieser Fragen einer hohen subjektiven Schwankungsbreite unterworfen war. Motorische Probleme zeigen sich offensichtlicher, wodurch diese von den Familien häufiger wahrgenommen werden könnten. Um genaue Daten zu erhalten,

wäre es daher sinnvoll, neuropsychologische Defizite anhand testpsychologisch validierter Befunde zu erheben. Darauf basierten zumeist die Ergebnisse einschlägiger Literatur (Klein-Tasman et al. 2014; Garg et al. 2015; Hyman et al. 2005). Zudem kann aber auch vermutet werden, dass neuropsychologische Probleme bei NF1 häufig unzureichend diagnostiziert werden. Es ist daher notwendig, das Verständnis und die Sensibilität für neuropsychologische Begleitsymptome bei NF1 zu erhöhen. Entsprechende Checklisten (vgl. TAND-Checkliste beim TSC) könnten hilfreich sein.

Zum Pflegebedarf von NF1-Patienten existieren bisher noch keine Daten. Die vorliegende Arbeit ergab, dass bei knapp einem Drittel eine Pflegestufe bestand, sodass Unterstützung auch in diesem Bereich nötig sein kann und keine Seltenheit darstellt. Bezüglich der Wohnsituation konnte keine weiterführende Aussage getroffen werden, da die Mehrheit der Patienten minderjährig war und noch bei den Eltern wohnte. Die Erfassung dieser Variablen stellt allerdings bei erwachsenen NF1-Patienten durchaus eine Relevanz zur Beschreibung der allgemeinen Lebenssituation dar.

Bezüglich entwicklungsbezogener Parameter lässt sich zusammenfassen, dass NF1-Patienten oftmals spezifische Probleme in verschiedenen Bereichen aufzuweisen scheinen. Viele Kinder mit NF1 benötigen im schulischen Bereich weiterführende Unterstützung, welche wiederum sehr unterschiedlich sein kann. Allerdings ließ sich darstellen, dass in etwa zwei Drittel der Fälle der Besuch einer Regelschule und damit ein normaler Bildungsweg, häufiger im unteren bis mittleren Bildungsbereich, möglich war. Eine ausgeprägte Retardierung bei NF1 scheint somit sehr selten zu sein (Kehrer-Sawatzki und Mautner 2009).

7.1.5 Zusammenhang von Epilepsie und Genetik bei NF1

In der vorliegenden Arbeit fanden sich bei keinem Epilepsiepatienten strukturelle cerebrale Läsionen, welche der Epilepsie ätiopathogenetisch zugrunde liegen könnten. UBOs traten sowohl bei Epilepsie- als auch Nicht-Epilepsiepatienten auf und ließen damit ebenfalls keine Korrelation erkennen. Die Genese der Epilepsien bei NF1 bleibt somit größtenteils ungeklärt. *NF1* kodiert für das Protein Neurofibromin, welches vor allem im ZNS und dort insbesondere während der Entwicklung stark exprimiert wird. Daraus ergab sich die Frage, ob nicht spezifische Mutationen im *NF1*-Gen epileptische Anfälle triggern könnten. Die Studienlage zu Untersuchungen zwischen Epilepsie bei NF1 und spezifischen *NF1*-Gen-Veränderungen ist rar. Konkrete Analysen hierzu existieren bisher nicht und in Studien zu Phänotyp-Genotyp-Korrelationen fanden sich keine Angaben zu Epilepsie. In der hier vorliegenden Kohorte fand sich kein Mutationshotspot und auch kein bevorzugter Mutationstyp unter den Epilepsiepatienten. Durch

die Limitation der Aussagekraft aufgrund der geringen Patientenzahl, kann die Findung eines Mutationshotspots eingeschränkt sein. Auch das Vorhandensein mehrerer Hotspots wäre denkbar, was ebenfalls nicht abschließend geklärt werden kann. Allerdings fiel auf, dass sechs von sieben Epilepsiepatienten eine familiäre NF1 aufwiesen, auch wenn sich kein signifikantes Ergebnis ergab. Dies stimmt mit der Studie von Ostendorf et al. (2013) überein, wobei jedoch das beschriebene betonte maternale Vererbungsmuster der NF1 unter Epilepsiepatienten durch die vorliegende Studie nicht bestätigt werden konnte. Eine familiäre Veranlagung für epileptische Anfälle konnte dahingegen, bis auf die Tatsache, dass von einem Geschwisterpaar beide an einer Epilepsie litten, nicht gefunden werden.

7.1.5.1 Trio Whole Exome Sequencing bei IS und NF1

7.1.5.1.1 Trio 1

Durch die Exomsequenzierung ließ sich bei der ersten Patientin eine höchstwahrscheinlich pathogene Variante im *KCNC2*-Gen nachweisen.

Das *KCNC2*-Gen (potassium voltage-gated channel subfamily C member 2) kodiert für ein gleichnamiges Protein und gehört zur Gruppe der spannungsabhängigen K^+ -Kanäle (Kv) der Kv3-Familie, weswegen es auch den Namen Kv 3.2 trägt. Bei dem Kv 3.2-Kanal handelt es sich wie bei dem Kv 3.1-Kanal (synonym: *KCNC1*) um einen verzögert gleichrichtenden K^+ -Kanal. Diese werden zusätzlich zu den auswärts gleichrichtenden K^+ -Kanälen (A-Kanal) im Rahmen einer stärkeren Depolarisation aktiviert. Da sie erst nach Erreichen des Ruhemembranpotentials wieder inaktiviert werden, spielen sie eine wichtige Rolle bei der Repolarisation (Kaczmarek und Zhang 2017; Pape et al. 2014, S.93). Während die Funktion von Kv 3.1 intracerebral betont ist, weist Kv 3.2 eine selektive Expression im Nervensystem auf (Kaczmarek und Zhang 2017). Zudem ist bekannt, dass diese beiden Kaliumkanäle die hochfrequente Aktivität vieler kortikaler und hippocampaler GABAerger Interneurone ermöglichen (Grabert und Wahle 2008). Vor diesem Hintergrund ist es gut vorstellbar, dass eine Fehlfunktion dieser verzögert gleichrichtenden K^+ -Kanäle zu einer länger anhaltenden Depolarisation führt und hierdurch die Entstehung epileptischer Anfälle begünstigt. Der wiederholte Nachweis einer *de novo* Mutation in Kv 3.1 bei mehreren nicht verwandten Menschen mit progressiver myoklonischer Epilepsie bestätigte den kausalen Zusammenhang von Kv 3.1 und der Entstehung epileptischer Anfälle (Muona et al. 2015). Mutationen in Kv 3.2 ließen sich bisher beim Menschen noch nicht als epilepsieauslösend nachweisen. Allerdings existiert eine Studie mit Kv 3.2 negativen Mäusen, bei denen eine verringerte Anfallsschwelle beschrieben werden konnte (Lau et al.

2000). Eine weitere Studie an Mäusen beschreibt den Zusammenhang von spannungsabhängigen Kaliumkanälen und der Anfallsaktivität. Hierbei zeigte sich, dass Kv 3.1b und Kv 3.2 in anfallssensiblen Wüstenrennmäusen signifikant geringer exprimiert werden als in anfallsresistenten Tieren. Diese Erkenntnisse weisen ebenfalls auf eine Beeinflussung der Pathogenese von Epilepsien durch Kv 3.2 hin (Lee et al. 2009).

Im Zusammenhang mit dem jetzigen Nachweis einer höchstwahrscheinlich pathogenen *de novo* Variante bei unserer Patientin, kann die Hypothese aufgestellt werden, dass es sich bei dem *KCNC2*-Gen um ein neues Epilepsiegen des Menschen handelt, welches im vorliegenden Fall zur Aufrechterhaltung der Epilepsie (aufgrund der Therapierefraktärität) beiträgt und sich diesbezüglich vom Verlauf der Epilepsien aller anderen Patienten in der vorliegenden Studie abhebt. Um diese Hypothese der Pathogenität von *KCNC2* zu bestätigen, wurden funktionelle Studien in *Xenopus laevis* Oozyten zum Vergleich von *KCNC2*-Wildtyp und *KCNC2*-Mutant (p.D167Y) eingeleitet. Hierbei zeigte sich eine signifikante Reduktion des Kaliumstromes im Vergleich zum Wildtyp, sodass ein deutlicher Loss-of-Function-Effekt der *de novo* Variante nachgewiesen werden konnte. Der Funktionsverlust des Kv 3.2-Kanals könnte somit eine neuronale Hyperexzitabilität bedingen und in einer Epilepsie münden. Hierdurch könnte der schwerwiegende, therapierefraktäre Epilepsieverlauf der Patientin erklärt werden. Der Aufbau einer *KCNC2*-Kohorte zur Erfassung des phänotypischen Spektrums unter Einschluss weiterer funktioneller Studien hat bereits begonnen, um die Auswirkungen von *KCNC2* als neues Epilepsiegen sowohl phänotypisch als auch funktionell zu untersuchen. Nach Abschluss dieser Untersuchung wird die Bedeutung von *KCNC2* als neues Epilepsiegen sichtbar werden.

7.1.5.1.2 Trio 2

Das *Corf85*-Gen kodiert für ein gleichnamiges Protein, dessen molekulare Funktion und medizinische Relevanz bisher völlig unklar ist. Es ist lediglich bekannt, dass es sich um ein rein intrazellulär lokalisiertes Protein handelt (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000155621-C9orf85/tissue>; abgerufen am 06.03.2019). Somit kann derzeit keine Aussage zur möglichen Pathogenität sowie Kausalität bezüglich der Entstehung epileptischer Anfälle getroffen werden.

7.1.5.1.3 Trio 3

Die Auswertung sowie Auswahl potenzieller epilepsieassoziierter Genvarianten bei Trio 3 war aufgrund der Konsanguinität der Eltern und der daraus resultierenden Vielfalt an Varianten deutlich erschwert. Das *AHDC1*-Gen wurde als einziges Gen der im Rahmen der Exomsequenzierung selektierten Genvarianten bereits im Zusammenhang mit epileptischen Anfällen bzw.

Epilepsien beschrieben. In erster Linie wird dieses Gen jedoch im Zusammenhang mit Entwicklungsstörungen und Autismus berichtet, u.a. auch als Ursache des Xia-Gibbs-Syndrom (synonym: AHDC1-related intellectual disability-obstructive sleep apnea-mild dysmorphism syndrome) (Yang et al. 2015; Xia et al. 2014). Der CADD phred score lag mit 13,72 im niedrigen Bereich, sodass eine Pathogenität der gefundenen Variante fraglich bleibt und ein Zusammenhang mit Epilepsie nicht abschließend geklärt werden kann. Das *RALY*-Gen kodiert für ein RNA-Bindungsprotein, welches eine wichtige Funktion im Rahmen der Tumorgenese durch die Steuerung der Transkript-Expression und Zellproliferation einnimmt (Cornella et al. 2017). Von einer Assoziation mit Entwicklungsstörungen oder Epilepsien wurde bisher in der Literatur nicht berichtet. Somit bleibt die Bedeutung dieser Genvariante für die Epilepsie bei unserem NF1-Patienten ungeklärt. Eine Aussage bezüglich des Eingreifens der Varianten im *ZNF282*- und im *FAM222A*-Gen in die Pathogenese von Epilepsien kann derzeit ebenfalls nicht getroffen werden, da bei beiden die Proteinfunktion sowie medizinische Relevanz laut aktuellem Wissensstand völlig unklar ist.

Letzten Endes kann in diesem Fall nicht beurteilt werden, ob eine einzelne der dargestellten Genvarianten oder aber die Kombination aus unterschiedlichen Genveränderungen oder auch anderweitige funktionelle Aspekte zur Entstehung der Epilepsie geführt hat bzw. beitragen haben.

7.1.5.1.4 Zusammenfassung Trio Whole Exome Sequencing bei NF1

Infantile Spasmen bei NF1-Patienten sind laut Literatur selten und zeigen häufig einen milden Verlauf (Ruggieri et al. 2009; Motte et al. 1993). Eindeutige zugrunde liegende strukturelle Ursachen der IS konnten bisher bei NF1-Patienten nicht identifiziert werden (Motte et al. 1993; Ruggieri et al. 2009) und lagen auch in der vorliegenden Studie bei keinem der drei Patienten mit NF1 und IS vor. Übereinstimmend mit den Literaturangaben zeigten zwei unserer Patienten ein Therapieansprechen und wurden rasch anfallsfrei. Eine Patientin zeigte einen für NF1 ungewöhnlich schweren Verlauf mit Übergang der IS in eine therapieresistente Epilepsie. Bei dieser Patientin konnten wir mittels Trio-Exom-Sequenzierung eine *de novo* Variante in *KCNC2* als neues Kandidatengen für Epilepsien identifizieren.

Unabhängig von NF1 stellen IS mit Therapieresistenz und fehlender struktureller Ursache eine Indikation für genetische Untersuchungen dar. Insbesondere durch Einsatz der Exom-Analyse kann die Ursache von IS in bis zu einem Drittel der Fälle geklärt werden (Dimassi et al. 2016;

Michaud et al. 2014). Unsere Ergebnisse zeigen, dass auch bei NF1-Patienten an weitere genetische Ursachen der Epilepsie gedacht werden muss. Insbesondere bei therapieresistentem Epilepsieverlauf sollten NF1-Patienten über die genetische Diagnostik bei NF1 hinaus hinsichtlich der Epilepsie genetisch untersucht werden. Neben einer Panel-Diagnostik, die bekannte Epilepsiegene untersucht, kann die Exom-Diagnostik helfen, neue Kandidatengene für Epilepsien zu identifizieren.

7.1.6 Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung bei NF1

7.1.6.1 Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten

Trotz fehlender Signifikanz ist bemerkenswert, dass fünf von sechs schulpflichtigen Epilepsiepatienten ein Förderzentrum besuchten. Diese deutliche Divergenz zum positiven Outcome der Epilepsie mit Erreichen von Anfallsfreiheit bei fünf der sieben Epilepsiepatienten überrascht, da ein rasches Ansprechen auf die antikonvulsive Therapie sich in der Regel positiv auf die weitere Entwicklung der Kinder auswirkt. Bei beiden Patienten mit IGE/GGE lag der Anfallsbeginn im 16. Lebensjahr, sodass die sensible Phase der frühkindlichen Hirnentwicklung bereits abgeschlossen war. Zusätzlich beeinflusste der späte Epilepsiebeginn den nahezu abgeschlossenen schulischen Bildungsweg kaum mehr. Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Vivarelli et al. (2003), in deren Studie mentale Retardierung stets mit einer therapieresistenten Epilepsie assoziiert war. Die Fallzahlen der hier vorliegenden Studie sind allerdings klein. Um den Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung bei NF1 trotz des guten therapeutischen Ansprechens auf eine antikonvulsive Medikation im Vergleich zu Nicht-Epilepsiepatienten weiterführend zu untersuchen, sind weitere Studien mit größeren Stichproben und multizentrischem Ansatz notwendig. Jedoch scheint das Entwicklungs-Outcome nicht nur durch eine therapieresistente Epilepsie negativ beeinflusst zu werden, eine multifaktorielle Genese ist anzunehmen. Störungen auf funktioneller Ebene wären denkbar und könnten eine Schnittstelle zwischen NF1, Epilepsie und Entwicklung darstellen, da sich auch die Epilepsien bei NF1 bisher nur teilweise durch genetische oder strukturelle Faktoren erklären lassen.

Ergänzend zur Einschätzung bzw. zu Schwierigkeiten in der Entwicklung wurden neuropsychologische und motorische Defizite erfasst. Diese traten in der Gruppe der Epilepsiepatienten nicht signifikant häufiger auf. Eine Ausnahme bildete die erhöhte Assoziation von Autismus zu NF1-Patienten mit Epilepsie, welche mit den Ergebnissen von van Eeghen et al. (2013a) übereinstimmte. Es ist schon lange bekannt, dass Epilepsie, insbesondere bei Therapieresistenz, häufig mit Autismus vergesellschaftet ist (van Eeghen et al. 2013a; Kanner 1943), während die

Prävalenz autistischer Merkmale bei NF1 in der Literatur unabhängig von Epilepsie einer großen Schwankungsbreite von vier bis 25 % unterliegt. Genauere Angaben zum parallelen Vorliegen einer Epilepsie bei NF1 wurden dabei nicht gemacht (Kelleher, R. J., 3rd und Bear 2008; Garg et al. 2015). Diese Hintergrundinformationen sind sehr wichtig, da Berechnungen dieser Arbeit zwar zu einem signifikanten Unterschied führten und auch der Phi-Koeffizient eine signifikant positive Korrelation von Autismus und Epilepsie bei NF1 ergab, allerdings keine therapierefraktäre Epilepsie bestand. Dieser Zusammenhang sollte kritisch hinterfragt werden, insbesondere da die Stichprobe von Epilepsiepatienten bei NF1 sehr klein war ($n = 7$). Weiterführende und spezifischere Studien mit einer größeren Kohorte wären daher sinnvoll.

7.1.6.2 Vergleich der Entwicklung bei NF1 mit und ohne Infantile Spasmen

Aussagen bezüglich signifikanter Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne IS konnten aufgrund der sehr geringen Patientenzahl ($n = 3$ mit IS) nicht getroffen werden. Anhand von Literaturangaben ist das Outcome der Patienten mit IS im Rahmen einer NF1 gut und unterscheidet sich nicht vom Outcome der Gesamtkohorte (Motte et al. 1993). Dies ließ zunächst auch das gute Ansprechen auf eine antikonvulsive Therapie mit Kortikosteroiden und/oder Vigabatrin in den vorliegenden drei Fällen vermuten. Nichtsdestotrotz zeigte sich bei zwei Patienten keine normale kognitive Entwicklung, sodass der Besuch eines Förderzentrums mit dem Schwerpunkt geistige Entwicklung notwendig war. Bei der dritten Patientin standen zwar aufgrund des geringen Alters noch keine schulischen Daten zur Verfügung, allerdings war bekannt, dass sie einen integrativen Kindergarten besuchte. Somit lag bei allen drei Patienten mit IS kein altersentsprechender Entwicklungsstand vor. Bis auf den letztbeschriebenen Fall, bei dem es zu einem Rezidiv der Anfälle kam, wäre noch eine normale bis leicht verzögerte Entwicklung zu erwarten gewesen, da durch die eingetretene und andauernde Anfallsfreiheit nur eine kurzzeitige Beeinträchtigung einer sensiblen Phase für die neuronale Entwicklung vorlag (Bourgeois et al. 1983; Thompson und Nelson 2001). Auch wenn sich hieraus keine statistisch validen Aussagen treffen lassen, stehen diese Ergebnisse in Widerspruch zu bisherigen Angaben der Literatur. Möglicherweise handelte es sich um eine Selektion besonders schwieriger Verläufe, sodass eine Behandlung an einem Epilepsiezentrum, wie es dieses Studienzentrum repräsentierte, indiziert war. Zudem sollte auch beachtet werden, dass Ruggieri et al. (2009) in zwei der zehn beschriebenen Fälle einen Übergang in ein LGS beschrieben, sodass nicht von einem generell guten Outcome bei IS gesprochen werden kann. Größere Kohorten mit NF1 und IS sollten anhand multizentrischer Studien untersucht werden, um statistisch objektivierbare und va-

lide Aussagen treffen zu können und den hier widersprüchlichen Daten eines guten Ansprechens auf die antikonvulsive Therapie mit einhergehender nicht altersentsprechend normaler Entwicklung nachzugehen.

7.2 Tuberoöse Sklerose Complex (TSC)

7.2.1 Erstdiagnose und klinische Diagnosekriterien

Die Diagnosestellung beim TSC basiert in der Regel auf den klinischen Diagnosekriterien. In der vorliegenden Studie betrug das mittlere Lebensalter bei Diagnosestellung 1 2/12 Jahre. Auffällig war die deutlich frühere Diagnosestellung bei sporadischen Fällen im Vergleich zum familiären TSC. Dies mag darin begründet sein, dass in der Gruppe des sporadischen TSC 50 % IS aufwiesen und gerade diese sehr häufig als Erstsymptom zur Diagnosestellung führen (Curatolo et al. 2001). Dahingegen waren nur in knapp 30 % der familiären Fälle IS vorhanden. Zudem kann an dieser Stelle angemerkt werden, dass eine Familiengründung in der Regel mit einem eher positivem Entwicklungsergebnis assoziiert ist, sodass aufgrund milderer Verlaufsformen der Erkrankung eine spätere Diagnosestellung diskutiert werden kann.

7.2.2 Epilepsien beim TSC

Epilepsie stellt das häufigste neurologische Symptom des TSC dar und betrifft nahezu alle Patienten (34 von 35 Patienten). Nur ein Patient des vorliegenden TSC-Kollektivs erlitt keine epileptischen Anfälle, sodass die Epilepsieprävalenz mit den höheren Angaben (96,2 %) der Literatur übereinstimmte (Jozwiak et al. 2000). Die geringe Prävalenz von 60 % in einer Studie von Webb et al. (1991) mag darauf zurückzuführen sein, dass es sich nur um familiäre TSC-Fälle handelte, sodass ein direkter Vergleich mit der hier vorliegenden Studie nicht möglich ist. In dieser Studie lag der Epilepsiebeginn übereinstimmend mit bisherigen Literaturangaben in der frühen Kindheit (Jozwiak et al. 2000; Kotulska et al. 2014). Bei allen 34 Epilepsiepatienten der vorliegenden TSC-Kohorte ereignete sich der erste Anfall innerhalb der ersten vier Lebensjahre, bei 25 Patienten (73,5 %) lag dieser sogar im ersten Lebensjahr. In einer vergleichbaren Studie von Chu-Shore et al. (2010) war der Anteil an Epilepsiepatienten mit Beginn im ersten Lebensjahr mit 63,2 % etwas niedriger. Bezüglich dieser Differenz kann darauf verwiesen werden, dass in der genannten Studie der Anteil an Patienten mit IS im Vergleich zu der hier vorliegenden Arbeit geringer war (37 % vs. 50 %) und der Beginn dieses Anfallstypus in der Regel im Säuglingsalter liegt (Hsieh et al. 2013). Zudem sind die Fallzahlen insgesamt als gering zu

bezeichnen. Des Weiteren ließ sich das äußerst heterogene Bild der Anfallsmuster beim TSC mit dem Auftreten von fokalen und generalisierten Anfällen als auch IS bestätigen (Chu-Shore et al. 2010; Holmes et al. 2007). Auch in dem hier vorliegenden Kollektiv zeigten über 90 % der Patienten fokale, zumeist dyskognitive, Anfälle, wobei es allerdings häufig nicht bei einem einzelnen Anfallstypus blieb. So lagen bei 44 % der Epilepsiepatienten multiple Anfallstypen vor, wobei IS nicht dazugerechnet wurden. Die Prävalenz für IS lag in der vorliegenden Studie mit 50 % etwas höher als die Angaben einschlägiger Literatur (Overwater et al. 2015). Dies ist möglicherweise darin begründet, dass das Studienzentrum gleichzeitig ein Epilepsiezentrum darstellte und schwierige Säuglingsepilepsien wie das WS zumeist in Zentren behandelt werden. IS als singuläres Anfallsmuster traten nur in einem Fall (3 %) auf, genauso wie in der Studie von Chu-Shore et al. (2010) (3,6 %), sodass in weiteren 47 % der Epilepsiepatienten der hier vorliegenden Studie entweder zeitgleich zu IS oder im Verlauf der Epilepsie weitere Anfallstypen hinzukamen. Somit lässt sich der etwas geringere Anteil an Patienten mit multiplen Anfallstypen (44 %) im Vergleich zu den Daten von Chu-Shore et al. (2010) (53 %) möglicherweise auf den höheren Anteil an IS-Patienten zurückführen. IS werden vom klinischen Bild aufgrund der bilateralen Anfälle häufig als generalisierte Anfälle bezeichnet, auch wenn sie in der aktuellen ILAE-Klassifikation weder zu den generalisierten noch zu den fokalen Anfällen gezählt werden. Somit basiert die Aussage von Kulkantrakorn und Geller (1998), die einen Übergang generalisierter in fokale Anfälle im Rahmen eines TSC beschrieben, womöglich auf der damaligen Zuordnung von IS zu generalisierten Anfällen. Basierend auf der Tatsache, dass es sich im Rahmen des TSC um eine strukturelle Epilepsie handelt, sollte besser von einem fokalen Ursprung der Anfälle ausgegangen werden (Curatolo et al. 2001; Holmes et al. 2007). Generalisierte Anfälle, wobei IS nicht hinzugerechnet wurden, treten in aller Regel durch sekundäre Generalisierung auf. Dabei zeigten sich in der vorliegenden Arbeit unterschiedlichste generalisierte Anfallsmuster, mit der Ausnahme von typischen Absencen, sodass sich auch diesbezüglich Übereinstimmungen zu bisherigen Literaturangaben fanden (Holmes et al. 2007). Wie bereits Chu-Shore et al. (2010) in 6 % der TSC-Fälle mit Epilepsie die Entwicklung eines Lennox-Gastaut-Syndroms beschrieben, war dieses auch in der hier vorliegenden Studie bei drei der 34 Epilepsiepatienten (8,8 %) nachweisbar. Dabei sollte bedacht werden, dass die Diagnosestellung eines Lennox-Gastaut-Syndroms aufgrund der sich überschneidenden Symptome mit anderen Epilepsiesyndromen nicht einfach ist. Die Beobachtung der multiplen Anfallstypen in Zusammenhang mit der häufig assoziierten mentalen Retardierung und Therapieresistenz der Epilepsie lassen in einigen weiteren Fällen ein LGS vermuten. So lag auch in der genannten Vergleichsstudie in weiteren 21 % ein fragliches LGS vor (Chu-Shore et al. 2010).

Das Erreichen von Anfallsfreiheit von TSC-Patienten ist häufig schwierig. Wie in der Literatur vorbeschrieben, fanden sich auch in der vorliegenden Studie therapierefraktäre Epilepsien in über 50 % der Fälle. Insbesondere für Patienten mit WS ist das Epilepsie-Outcome relativ schlecht. Laut Chu-Shore et al. (2010) liegt eine Therapierefraktärität in 75 % vor. Das Risiko für diese Patienten ein LGS zu entwickeln ist gegenüber TSC-Patienten ohne WS deutlich erhöht. Diese Angaben zu Patienten mit WS ließen sich in der vorliegenden Studie mit einer Therapierefraktärität von 71 % (zwölf Patienten) bestätigen. Das erhöhte Risiko für ein LGS nach vorausgegangenem WS im Vergleich zu Patienten ohne WS zeigte sich in der vorliegenden Arbeit zwar nicht signifikant unterschiedlich, nichtsdestotrotz fiel auf, dass in allen drei LGS-Fällen ein WS in der Vorgeschichte nachweisbar war. Allerdings ist darauf hinzuweisen, dass immerhin knapp 60 % der Patienten mit WS zunächst initial für mindestens sechs Monate anfallsfrei wurden, von diesen erlitten jedoch 60 % ein Rezidiv im Verlauf. Etwa ein Viertel der Patienten mit IS erreichte eine anhaltende Anfallsfreiheit, was sich mit Angaben aus der Literatur deckt (Overwater et al. 2015). Zudem war das Erreichen von Anfallsfreiheit bei Patienten mit IS nicht signifikant schlechter als bei Patienten, welche keine IS aufwiesen. Diese Daten sollten somit in Aufklärungsgesprächen mit Eltern bezüglich der Prognose und des Verlaufs der Erkrankung nicht außer Acht gelassen werden.

Auch bei Patienten mit Anfallsfreiheit gestaltete sich die medikamentöse Therapie nicht einfach. So betrug der Zeitraum, in dem epileptische Anfälle auftraten, im Mittel mehrere Jahre (MD = 2,9 Jahre) und beinhaltete zumeist auch eine mehrfache Modifikation der medikamentösen Therapie. Es sollte bedacht werden, dass auch bei Vorliegen einer pharmakorefraktären Epilepsie das Erreichen einer Anfallsfreiheit heutzutage nicht unmöglich ist. Als neuartiger Therapieansatz kamen bei einigen Patienten mit therapierefraktärer Epilepsie mTOR-Inhibitoren zum Einsatz, wodurch in zwei Fällen Anfallsfreiheit erzielt werden konnte. Ob in den weiteren 13 Fällen zumindest eine Reduktion der Anfallsfrequenz erreicht werden konnte, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht erfasst, da dies Gegenstand einer eigenständigen Studie darstellte. Ebenso wurde die Dauer der Everolimustherapie nicht berücksichtigt. Daten zu den genauen Auswirkungen von mTOR-Inhibitoren auf die Epilepsie bei TSC-Patienten werden derzeit noch erfasst. Der Einsatz dieser spezifischen Therapie ermöglicht es, die Prognose von einigen Patienten mit therapierefraktärer Epilepsie im Rahmen eines TSC maßgeblich zu verbessern.

7.2.3 Genetische Befunde des *TSC1*- und *TSC2*-Gens

Entsprechend den Angaben in der Literatur ließ sich sowohl auf dem *TSC1*- als auch auf dem *TSC2*-Gen kein Mutationshotspot nachweisen (Napolioni und Curatolo 2008). Die ungleiche Verteilung von *TSC2*-Mutationen in 85 % der Fälle gegenüber 15 % an *TSC1*-Mutationen stimmte ebenfalls mit den Angaben vieler vorangegangener Studien überein (Dabora et al. 2001; Lee et al. 2014; Curatolo et al. 2015). Eine gleichmäßige Verteilung von *TSC1*- und *TSC2*-Mutationen beim familiären TSC ließ sich hingegen nicht bestätigen (Au et al. 2007). Von fünf vorliegenden Mutationsnachweisen familiärer TSC-Fälle fanden sich vier auf dem *TSC2*-Gen. *De novo* Mutationen konnte bei 14 Patienten (46 %) durch Elternuntersuchung gesichert werden, während bei weiteren acht Patienten Unklarheit bei nicht erfolgter elterlicher Gendiagnostik bestand. In dieser Gruppe werden sich bei fehlenden Symptomen bei Familienmitgliedern weitere Patienten mit *de novo* Mutationen befinden. Diese Zahlen wären dann im Einklang mit Literaturberichten, die einen Anteil von 60-80 % an *de novo* Fällen beschreiben (Au et al. 2007; Dabora et al. 2001). Bezüglich vergleichender Untersuchungen in Hinblick auf Zusammenhänge von Epilepsie und genetischen Befunden sei auf Abschnitt 7.2.5, S.86 verwiesen.

7.2.4 Entwicklung beim TSC

Ebenso wie beim NF1 Kollektiv wurde die Entwicklung der TSC-Patienten deskriptiv anhand der Schulausbildung erfasst. Diese ergab, dass über 80 % der Kinder ein Förderzentrum besuchten, wobei der Förderschwerpunkt geistige Entwicklung mit Abstand am häufigsten vorlag. Einschlägige Literatur zur Erfassung der Schulausbildung bei TSC-Patienten existiert nach derzeitigem Kenntnisstand nicht. Bisherige Studien untersuchten neuropsychologische Aspekte der Erkrankung, im Vergleich zur vorliegenden Arbeit, zumeist anhand neuropsychologischer Testverfahren deutlich differenzierter. Somit konnte keine der bisherigen Studien für einen direkten Vergleich herangezogen werden. Allerdings finden sich in der Literatur vielfältige Daten bezüglich mentaler Retardierung bei TSC-Patienten. Der Anteil an Patienten, welche eine mentale Retardierung, definiert mit einem IQ unter 70, aufweisen, lag bei etwa 50 %. Die Zahlen für schwere bis schwerste mentale Retardierung wurde mit etwa 30 % angegeben (Vries et al. 2015; Prather und Vries 2004). Da die optimale Beschulung mental retardierter Kinder, vermutlich bis auf seltene Ausnahmen, einer umfassenden sonderpädagogischen Förderung bedarf, kann angenommen werden, dass diese zumeist in einem Förderzentrum betreut werden, auch wenn im Zeitalter der Inklusion der Besuch einer Regelschule nicht ausgeschlossen werden

darf. Doch auch dann sind sonderpädagogische Fördermaßnahmen unbedingt erforderlich. Zusätzlich gibt es weitere TSC-Patienten, die aufgrund körperlicher Einschränkungen oder Teilleistungsschwächen sowie in Kombination mit psychischen Komorbiditäten gegebenenfalls von einer speziellen schulischen Förderung profitieren. Daher ist anzunehmen, dass sich die erhobenen Daten, wenn auch nur grob übertragbar, kongruent zu den bisherigen Erkenntnissen verhalten.

Neuropsychiatrische Erkrankungen bei TSC-Patienten stehen seit einiger Zeit im Fokus aktueller Forschungsprojekte. Die sogenannte „TAND-Checkliste“ existiert erst seit wenigen Jahren und soll insbesondere die betreuenden Ärzte vermehrt für die Erfassung von Komorbiditäten sensibilisieren (Vries et al. 2015). Im Vordergrund steht die Bewältigung von Problemen wie allgemeiner Unruhe sowie Konzentrations- und Aufmerksamkeitsstörungen (Vries et al. 2015; Chung et al. 2011). Dies zeigte sich auch an den erhobenen Daten dieser Studie, Konzentrationsstörungen lagen mit knapp 90 % als häufigstes neuropsychologisch/-psychiatrisches Symptom vor. Große Beachtung sollte daneben den Autismus-Spektrums-Störungen geschenkt werden, welche mit über 50 % bei TSC-Patienten zu finden sind (Davis et al. 2017; Gipson und Johnston 2017). Dies wird für die vorliegende Studie bestätigt. Aggressive Verhaltensweisen waren mit einem Anteil von 40 % nicht selten, auch diese Häufigkeiten sind der einschlägigen Literatur zu entnehmen (Gipson und Johnston 2017). Somit entsprachen die Einschätzungen der Familien, bezüglich neuropsychologischer/-psychiatrischer Befunde, sehr gut den bisherigen Literaturangaben.

Ebenso wie bei der NF1-Kohorte existieren bezüglich des Pflegebedarfs nach aktuellem Kenntnisstand keine vergleichbaren Daten. Bei zwei Drittel aller Patienten lag eine Pflegestufe vor, sodass eine entsprechende Unterstützung auch in diesem Bereich eine bedeutende Rolle spielt und eine deutliche Entlastung für die betroffenen Familien darstellen kann. Auch die Notwendigkeit für eine dauerhafte Betreuung wurde bei knapp 70 % der TSC-Patienten angegeben. Somit stellt die Notwendigkeit einer dauerhaften Betreuung eine weitere Säule im interdisziplinären Versorgungsmanagement von TSC-Patienten dar und bedarf der Initiierung adäquater Unterstützung und Hilfe im familiären Umfeld zur Entlastung familiärer Strukturen. Allerdings ist es möglich, dass bezüglich der dauerhaften Betreuung ein Bias besteht, da kleine Kinder selbstverständlich eine dauerhafte Betreuung durch die Eltern brauchen. Daher wären Nachuntersuchungen aller Patienten des Studienkollektivs nach Erlangung der Volljährigkeit sinnvoll, dann könnte die Lebenssituation in Hinblick auf eine selbstständige Lebensführung besser beurteilt werden.

7.2.5 Zusammenhang von Epilepsie und Genetik beim TSC

7.2.5.1 Vergleich von familiärem mit sporadischem TSC bezüglich Epilepsie

In der vorliegenden Arbeit wurden die familiären und sporadischen TSC-Fälle in Hinblick auf den Epilepsieverlauf miteinander verglichen. Einschlägige Literatur zum Vergleich der erhobenen Ergebnisse liegt nach aktuellem Kenntnisstand nicht vor. Es zeigte sich, dass Patienten mit familiärem TSC eine signifikant bessere Prognose bezüglich des Epilepsieverlaufs aufwiesen als Patienten mit sporadischem TSC. Bei Patienten mit familiärem TSC zeigte sich dabei nicht nur signifikant häufiger eine anhaltende Anfallsfreiheit, sondern auch ein signifikant kürzeres Anfallsintervall. Zudem sinkt die relative Wahrscheinlichkeit für die Entwicklung einer Epilepsie mit 83 % pro Zeiteinheit signifikant gegenüber dem sporadischen TSC. Dass die familiäre TSC-Form als günstiger Prognosefaktor für den Epilepsieverlauf angesehen werden kann, könnte darauf zurückzuführen sein, dass familiäre Formen vermutlich eine generell mildere phänotypische Ausprägung (insbesondere mit fehlender oder nur milder mentaler Retardierung) mit der Fähigkeit zur Reproduktion und damit zur autosomal-dominanten Vererbung der Erkrankung mit sich bringen.

7.2.5.2 Vergleich familiäre Epilepsie mit sporadischer Epilepsie

Trotz eines nicht-signifikanten Ergebnisses in der Cox-Regression fiel auf, dass fünf der sechs Patienten (83 %) mit familiärer Epilepsie, d.h. mit einem Verwandten ersten Grades mit Epilepsie, anhaltend anfallsfrei wurden, während der Anteil in der Vergleichsgruppe (ohne Verwandte ersten Grades mit Epilepsie/sporadische Epilepsie) mit nur 37 % Anfallsfreiheit (zehn von 27 Patienten) deutlich geringer ausfiel. Fraglich bleibt, ob aufgrund der geringen Anzahl an Patienten überhaupt eine Signifikanz hätte erreicht werden können. Dies wäre eine mögliche Erklärung für die nachgewiesene Tendenz, dass genetische Komponenten, und nicht nur die strukturellen Ursachen in Form von (sub)kortikalen Tubera, subependymalen Knoten und Riesenzellastrozytomen, den Epilepsieverlauf stärker als gedacht beeinflussen. Da in drei Fällen mit erstgradig Verwandten mit Epilepsie auch ein TSC vorlag, kann nicht beurteilt werden, ob ein Zusammenhang zwischen familiärer Epilepsie oder familiärem TSC und therapeutischem Ansprechen oder ggf. eine Kombination aus beiden Faktoren eine Rolle spielt. Es ist möglich, dass leichtere Epilepsieverläufe verbunden mit entwicklungsprognostisch besserem Outcome und geringerem Risiko einer mentalen Retardierung eher eine Reproduktionsfähigkeit ermöglichen und sich somit mildere Verlaufsformen der Epilepsien herausselektieren. Angaben in der Literatur bezüglich dieser erhobenen Daten existieren nach dem aktuellen Kenntnisstand nicht.

Weiterführende Studien sollten initiiert werden, um diesbezüglich mögliche prognostisch relevante Faktoren an größeren Studienkollektiven zu erfassen.

7.2.5.3 Vergleich *TSC1*- mit *TSC2*-Mutationen

Die bestehende Annahme aus bereits vorhandenen Studien, dass *TSC2*-Mutationen gehäuft mit Epilepsien assoziiert sind, ließ sich nicht bestätigen (Curatolo et al. 2015; Chu-Shore et al. 2010). Allerdings könnte dies insbesondere darauf zurückgeführt werden, dass in dem vorliegenden Studienkollektiv ein deutliches Missverhältnis bezüglich der Anzahl an nachgewiesenen pathogenen *TSC1*-/*TSC2*-Mutationen vorlag. Drei Patienten zeigten eine *TSC1*-Mutation (15 %) und 23 Patienten eine *TSC2*-Mutation (85 %). Alle genetisch untersuchten Patienten hatten eine Epilepsie. Bei dem einzigen TSC-Patienten ohne Epilepsie lag kein genetischer Untersuchungsbefund vor. In Hinblick auf den Epilepsieverlauf ließ sich bestätigen, dass die Epilepsie bei *TSC2*-Patienten in der Regel früher beginnt. Die Annahme, dass Therapieversuche bei *TSC2*-Mutationen häufig frustriert verlaufen, ließ sich in der vorliegenden Stichprobe nicht beobachten. Die Cox-Regression bezüglich anhaltender Anfallsfreiheit ergab dabei keinen signifikanten Unterschied. In absoluten Zahlen betrachtet zeigte sich jedoch bei Beobachtungsende immerhin bei drei von vier *TSC1*-Patienten eine anhaltende Anfallsfreiheit. Somit bestand eine Tendenz, die wiederum im Einklang mit den Literaturangaben stand (Chu-Shore et al. 2010; Anfallsfreiheit bei 34 von 122 Patienten mit *TSC2*-Mutation vs. 17 von 50 Patienten mit *TSC1*-Mutation). Die kleinere Fallzahl könnte Ursache fehlender Signifikanzen sein. Weitere Untersuchungen mit größeren Stichproben sollten folgen.

7.2.5.4 Vergleich unterschiedlicher *TSC2*-Mutationen

Die einzelnen Mutationstypen des *TSC2*-Gens wurden miteinander verglichen. Van Eeghen et al. (2013b) und van Eeghen et al. (2012) beschrieben bei zentralen Missense-Mutationen (Exon 23 bis 33) eine eher günstige Epilepsieprognose, was sich in mehrfacher Hinsicht in der vorliegenden Studie bestätigen ließ. Zwei Patienten wiesen eine Mutation in dieser Region auf. Die Epilepsie begann bei beiden erst jenseits des ersten Lebensjahres, das Anfallsintervall betrug nur wenige Monate und bei Beobachtungsende bestand anhaltende Anfallsfreiheit. Zudem traten keine IS auf. Die gleichen Merkmale zeigten sich bei einem Patienten mit einer Missense-Mutation auf Exon 16, sodass möglicherweise krankheitsverursachende *TSC2*-Missense-Mutationen generell eine günstigere Epilepsieprognose unter den *TSC2*-Mutationen mit sich bringen könnten. Diese Angaben stellten einen deutlichen Kontrast zum Epilepsieverlauf bei ande-

ren *TSC2*-Mutationstypen dar. Sowohl bei Deletionen und Duplikationen als auch bei Insertionen und Nonsense-Mutationen lag der Epilepsiebeginn bis auf einen Fall im ersten Lebensjahr und das Anfallsintervall umfasste mehrere Jahre. Auch IS stellten keine Seltenheit dar. Spezielle Studien, welche den Epilepsieverlauf der verschiedenen Mutationstypen innerhalb des *TSC2*-Gens untersuchten, wurden nach dem aktuellen Wissensstand bisher nicht durchgeführt. Die zugrundeliegende *TSC2*-Mutation könnte jedoch als aussagekräftiger Prognosefaktor des Epilepsieverlaufs das ärztliche Handeln bezüglich des Einsatzes therapeutischer Optionen beeinflussen. Während bei Missense-Mutationen weiterhin klassische Antikonvulsiva als rasche, Erfolg versprechende Therapie eingesetzt werden könnten, würden Patienten mit anderweitigen Mutationstypen oder Variationen in dem Gen ggf. von einer früheren Eskalation der antikonvulsiven Therapie profitieren. Denkbar wäre z.B. auch ein frühzeitiger Einsatz von mTOR-Inhibitoren. Wünschenswert wären vergleichbare Studien zur Bestätigung der in der vorliegenden Arbeit gefundenen Zusammenhänge zwischen *TSC2*-Mutationen und Epilepsieverlauf. Auch Unterschiede zum Epilepsieverlauf unter den *TSC1*-Mutationstypen könnten relevant sein.

7.2.5.5 Vergleich genetischer Faktoren beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen

Während bisherige Studien ein häufigeres Auftreten von IS bei zugrundeliegenden *TSC2*-Mutationen im Vergleich zu *TSC1*-Mutationen fanden (Lee et al. 2014; Chu-Shore et al. 2010), ließen sich *TSC2*-Mutationen in der vorliegenden Studie im Vergleich zu *TSC1*-Mutationen nicht signifikant häufiger bei IS nachweisen. Auch bezüglich zugrundeliegender Mutationstypen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die Prävalenz von IS bzw. des WS. Möglicherweise liegen diesen Ergebnissen ähnliche Ursachen, wie sie bereits unter Abschnitt 7.2.5.3, S. 87 dargestellt wurden, zugrunde. Die bisher bestehenden Literaturangaben basieren auf recht großen Studienkollektiven mit übereinstimmenden Ergebnissen, sodass diese Aussagen als valide angenommen werden können (Chu-Shore et al. 2010; Curatolo et al. 2015; Lewis et al. 2004). Die Stichprobenzahl für IS in dieser Studie ist im Vergleich eher klein ($n = 17$ vs. $n = 110$ (Chu-Shore et al. 2010) vs. $n = 41$ (Lewis et al. 2004)). Allerdings ist zu erwähnen, dass bei Patienten mit Missense-Mutationen auf dem *TSC2*-Gen keine IS auftraten. Missense-Mutationen im *TSC1*-Gen fanden sich bei dem vorliegenden Studienkollektiv nicht. Diese Erkenntnisse stimmen mit den Literaturangaben eines mildereren phänotypischen Verlaufes bei zentralen Missense-Mutationen überein (van Eeghen et al. 2012; van Eeghen et al. 2013b). Diesbezüglich sei auch nochmals auf Abschnitt 7.2.5.4, S.87 verwiesen. Größere Stichproben und gleich großen Subkollektive (*TSC1* und *TSC2*) wären auch hier wünschenswert.

7.2.6 Zusammenhang von Epilepsie und Entwicklung beim TSC

7.2.6.1 Vergleich der Entwicklung von Epilepsie- und Nicht-Epilepsiepatienten

In der vorliegenden Arbeit wurden neben Zusammenhängen zwischen genetischen Faktoren und Epilepsie auch solche zwischen Entwicklung und Epilepsie untersucht. Herauszuheben ist, dass der einzige TSC-Patient des Studienkollektivs ohne Epilepsie, als Einziger ein Gymnasium besuchte und bis auf Konzentrationsschwierigkeiten keine neuropsychologischen oder motorischen Defizite aufwies. Dieser Einzelfall verdeutlicht, dass das Auftreten einer Epilepsie die Komorbiditäten der Patienten wesentlich beeinflussen und in bedeutendem Maße zu den häufig ausgeprägten Entwicklungsstörungen mit mentaler Retardierung und damit assoziierten neuropsychologischen Problemen beitragen kann (Freitag 2007).

Dieser TSC-Patient ohne Epilepsie mit unauffälliger Entwicklung und einer hervorragenden schulischen Laufbahn stellt ohne Frage einen Einzelfall dar und erlaubt daher keine statistischen Aussagen. Nichtsdestotrotz zeigt uns dieses Beispiel, dass sich auch TSC-Patienten völlig normal entwickeln können und die Epilepsie als negativer Prognosefaktor besondere Aufmerksamkeit ärztlichen Handelns bedarf. Eine suffiziente und rasche Epilepsiekontrolle ist eine der wichtigsten Therapieansätze dieses neurokutanen Syndroms. Ein Ansatz, der nicht nur die Epilepsie bekämpft, sondern sich auch auf die zukünftige Entwicklung der TSC-Kinder maßgeblich auswirkt. In diesem Zusammenhang wird aktuell der frühe Einsatz von mTOR-Inhibitoren diskutiert. Die untere Altersgrenze für diese Medikamentengruppe ist noch nicht streng definiert.

7.2.6.2 Vergleich der Entwicklung von anfallsfreien und nicht anfallsfreien Patienten

Hinsichtlich der Schullaufbahn gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen den anfallsfreien und nicht-anfallsfreien Patienten. Anfallsfreiheit wurde bei den TSC-Patienten in der vorliegenden Kohorte erst mit einem mittleren Alter von 5,5 Jahren erreicht, die mittlere Dauer des Anfallsintervalls betrug 4,5 Jahre. Der Epilepsiebeginn lag in der Gruppe, die anfallsfrei wurde, bei MD = 11/12 Jahre. Die Gruppe, die nicht anfallsfrei wurde, begann mit der Epilepsie im Alter von MD = 4/12 Jahren. Somit war sowohl bei anfallsfreien als auch bei nicht-anfallsfreien Patienten die entwicklungsneurologisch sensible Phase von epileptischen Anfällen geprägt. Die Beeinträchtigung dieser entwicklungsneurologisch wichtigen Zeitspanne in den ersten Lebensjahren erklärt möglicherweise, dass in der vorliegenden Kohorte sowohl bei nicht-anfallsfreien als auch bei anfallsfreien Patienten häufig ausgeprägte mentale und kognitive Defizite gefunden wurden. Dies stellt eine mögliche Erklärung dafür dar, dass sich zwischen den

beiden Subgruppen (anfallsfrei vs. nicht anfallsfrei) kein signifikanter Unterschied bezüglich des Erhalts von Fördermaßnahmen oder des Besuchs eines Förderzentrums zeigte (Bourgeois et al. 1983; Thompson und Nelson 2001). Diese Erklärung wird von den Daten einer erst kürzlich veröffentlichten Studie von Capal et al. (2017) gestützt, welche insbesondere das Auftreten epileptischer Anfälle innerhalb des ersten Lebensjahres als negativen prognostischen Entwicklungsfaktor aufführten. Capal et al. (2017) zeigten weiterhin, dass Anfallsfreiheit maßgeblich zu einem verbesserten kognitiven Outcome führt, während Anfallsreduktion die Entwicklungsprognose nicht wesentlich verbesserte. In der vorliegenden Arbeit waren immerhin zehn Patienten mit IS für mindestens sechs Monate anfallsfrei, davon trat bei vier Patienten im Verlauf kein Rezidiv auf. Das genaue Alter bei Erreichen dieser erstmaligen Anfallsfreiheit wurde nicht erfasst, sodass fraglich bleibt, ob diese noch innerhalb des ersten Lebensjahres erreicht werden konnte. Das Alter bei und die Dauer der Anfallsfreiheit sowie auch die Tatsache, ob die Anfallsfreiheit anhaltend bestand, wären somit wichtig zu erfassen. Während Capal et al. (2017) das Alter bei Anfallsbeginn als wichtigsten Einflussfaktor für die Entwicklung angaben, zeigte eine Studie von Bolton et al. (2015), dass IS und das Auftreten eines Status epilepticus im Vergleich zum Epilepsiebeginn eine deutlich größere Rolle bezüglich des Auftretens neurokognitiver Defizite spielen. Das Auftreten eines Status epilepticus wurde in der vorliegenden Arbeit nicht erfasst, sodass ein möglicher Einfluss auf die erhobenen Ergebnisse unklar bleibt.

Neuropsychologische und motorische Defizite waren in dem TSC-Kollektiv dieser Studie häufig. Diese Angaben müssen aber mit Vorsicht bewertet werden, da sie auf anamnestischen Angaben und nicht immer auf psychologischen Testverfahren beruhten. Gerade bei schwerer mentaler Retardierung ist die Beantwortung von einigen Aspekten wie z.B. das Vorhandensein einer Lese-Rechtschreibschwäche bei einem Kind, das nicht lesen und rechnen kann, nicht möglich bzw. auch nicht sinnvoll, gleiches gilt für die Erfassung anderer Merkmale, wie z.B. einer Depression. Begleiterkrankungen sind vermutlich eher unterdiagnostiziert, hier wären routinemäßige professionelle psychologische Testverfahren mit der Darstellung objektivierbarer Ergebnisse sinnvoll. Trotz dieser limitierenden Faktoren fanden sich in der Gruppe mit therapieresistenter Epilepsie signifikant häufiger neuropsychologische Komorbiditäten in Form von Hyperaktivität, Aggressivität und Autismus. Ein erhöhtes Risiko für Autismus-Spektrums-Erkrankungen konnte auch in bisherigen Studien nachgewiesen werden und verdeutlicht somit die positive Korrelation von Epilepsien, neurokognitiven Defiziten und autistischen Störungen, wie sie vielfach in der Literatur beschrieben wurde (Capal et al. 2017; Vries et al. 2005; Gipson und Johnston 2017; van Eeghen et al. 2013a).

7.2.6.3 Vergleich der Entwicklung beim TSC mit und ohne Infantile Spasmen

Beim Vergleich von TSC-Patienten mit und ohne IS hinsichtlich der Auswirkungen auf die Entwicklung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Dies widerspricht einigen bisherigen Studien, welche das Auftreten von IS als wichtigen prognostischen Faktor für die weitere Entwicklung der Kinder darlegten (Bolton et al. 2015; Chu-Shore et al. 2010). Diese abweichenden Ergebnisse der vorliegenden Arbeit könnte in einem Bias begründet sein, da es sich bei dem Studienzentrum um ein Epilepsiezentrum handelte. Es könnte sich somit um eine selektierte Patientengruppe mit besonders therapieschwierigen Epilepsien unabhängig vom Vorliegen von IS handeln. Auch ohne IS lag der Epilepsiebeginn bei sieben von 17 Patienten innerhalb des ersten Lebensjahres. Dies würde wiederum die Ergebnisse der Studie von Capal et al. (2017) stützen, welche den Epilepsiebeginn gegenüber dem Auftreten von IS als wichtigeren Prognosefaktor einschätzten. Zudem wurden fünf Patienten mit IS anhaltend anfallsfrei, sodass nicht die IS an sich, sondern eher die Therapieresistenz der epileptischen Anfälle, das Entwicklungs-Outcome beeinflussen (van Eeghen et al. 2013a).

8 Zusammenfassung

Trotz der bereits umfangreichen Literatur zu Epilepsien beim TSC konnten aus der vorliegenden Arbeit einige neue Erkenntnisse gewonnen werden. Genetische Faktoren dürften dabei durchaus eine wesentliche prognostische Rolle bezüglich des Krankheitsverlaufs und des Epilepsieverlaufs spielen. (Zentrale) Missense-Mutationen weisen hierbei einen phänotypisch milderen Verlauf auf, was sich auch auf die Epilepsie übertragen lässt. Ein eher später Epilepsiebeginn, ein kurzes Anfallsintervall, das Erreichen von Anfallsfreiheit und das Fehlen von IS sind bedeutsame Faktoren, welche entsprechende Auswirkungen auf die weitere Entwicklung der Kinder haben können. Patienten mit familiärem TSC zeigen im Vergleich zur sporadischen Form einen milderen Epilepsieverlauf. Dieses Wissen kann im klinischen Alltag das therapeutische Management möglicherweise verbessern. Antikonvulsive Medikamente greifen in diesen Fällen häufig sehr gut. Bei anderweitigen Mutationen sollte ggf. eine schnellere Eskalation der Therapie erfolgen. Dem Einsatz von mTOR-Inhibitoren kommt in Zukunft mit Sicherheit mehr und mehr Bedeutung zu. Bezüglich des Zeitpunktes dieser Therapie mit all seinen Risiken im Kleinkindesalter dauert die Diskussion an. Seit 2017 ist Everolimus ab zwei Jahren offiziell zur Behandlung von refraktären TSC-assozierten Epilepsien zugelassen (Franz et al. 2018). In ausgewählten Fällen könnte ggf. ein noch früherer Einsatz die Entwicklung der Kinder durch das

Erreichen von Anfallsfreiheit während der sensiblen Phase der Hirnentwicklung positiv beeinflussen. Eine ausführliche Evaluation ist hierfür unter Beachtung des bestehenden Nebenwirkungsprofils notwendig, um eine möglichst gut umschriebene Zielgruppe formulieren zu können.

Im Gegensatz zum TSC zeigen die meisten NF1-Patienten mit Epilepsie, selbst bei IS, ein recht gutes Ansprechen auf eine medikamentöse antikonvulsive Therapie. Allerdings scheint die Entwicklung dieser Kinder trotzdem häufig beeinträchtigt zu sein, wobei die Ursachen hierfür bisher nicht geklärt sind und zum Teil auch im Widerspruch zu bisherigen Literaturangaben stehen. In einem Fall mit Auftreten von IS und initial gutem Therapieansprechen, jedoch mit Übergang in eine therapierefraktäre Epilepsie im Verlauf (im Unterschied zu den beiden anderen Fällen mit IS) ließ sich mittels Trio Whole Exome Sequencing ein neues Kandidatengen für Epilepsien, das *KCNC2*-Gen, nachweisen. Assoziierte genetische Varianten außerhalb des *NF1*-Gens könnten insbesondere im Falle einer Therapierefraktärität, welche bei NF1-Patienten bisher eher selten beobachtet wurde, eine Rolle spielen und ggf. auch therapeutische Konsequenzen nach sich ziehen. Therapieresistente Epilepsien bei NF1-Patienten sollten Kliniker dafür sensibilisieren, genetische Untersuchungen zur weiteren Ursachenabklärung zu veranlassen. Die Exomsequenzierung stellt eine gute Methode dar, sowohl Varianten in bekannten Epilepsiegenen als auch mögliche neue Kandidatengene für Epilepsien zu identifizieren. Funktionelle Studien zeigen einen deutlichen loss-of-function Effekt der identifizierten *de novo* *KCNC2*-Variante und bestärken die Hypothese einer klinischen Relevanz dieses Gens in der Epileptogenese. Der Aufbau einer *KCNC2*-Patientenkohorte mit Durchführung weiterer funktioneller Studien der individuellen *KCNC2*-Genvarianten findet derzeit statt, um *KCNC2* als neues Epilepsiegen zu bestätigen und um das phänotypische Spektrum zu erfassen.

9 Literaturverzeichnis

- Alkindy, A.; Chuzhanova, N.; Kini, U.; Cooper, D. N.; Upadhyaya, M. (2012): Genotype-phenotype associations in neurofibromatosis type 1 (NF1). an increased risk of tumor complications in patients with NF1 splice-site mutations? In: *Human genomics* 6, S. 12. DOI: 10.1186/1479-7364-6-12.
- Antonio, J. R.; Goloni-Bertollo, E. M.; Tridico, L. A. (2013): Neurofibromatosis. chronological history and current issues. In: *Anais brasileiros de dermatologia* 88 (3), S. 329–343. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20132125.
- Ars, E.; Serra, E.; Garcia, J.; Kruyer, H.; Gaona, A.; Lazaro, C.; Estivill, X. (2000): Mutations affecting mRNA splicing are the most common molecular defects in patients with neurofibromatosis type 1. In: *Human molecular genetics* 9 (2), S. 237–247.
- Au, Kit Sing; Williams, Aimee T.; Roach, E. Steve; Batchelor, Lori; Sparagana, Steven P.; Delgado, Mauricio R. et al. (2007): Genotype/phenotype correlation in 325 individuals referred for a diagnosis of tuberous sclerosis complex in the United States. In: *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics* 9 (2), S. 88–100.
- Bast, T.; Wiemer-Kruel, A. (2014): Rationale Epilepsiebehandlung bei tuberöser Sklerose. In: *Nervenheilkunde* 33, S. 356–361.
- Ben-Ari, Y.; Cherubini, E.; Corradetti, R.; Gaiarsa, J. L. (1989): Giant synaptic potentials in immature rat CA3 hippocampal neurones. In: *The Journal of physiology* 416, S. 303–325.
- Ben-Salem, S.; Al-Shamsi, A. M.; Ali, B. R.; Al-Gazali, L. (2014): The mutational spectrum of the NF1 gene in neurofibromatosis type I patients from UAE. In: *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery* 30 (7), S. 1183–1189. DOI: 10.1007/s00381-013-2352-9.
- Berg, A. T.; Berkovic, S. F.; Brodie, M. J.; Buchhalter, J.; Cross, J. H.; van Emde Boas, W. et al. (2010): Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies. report of the ILAE Commission on Classification and Terminology, 2005-2009. In: *Epilepsia* 51 (4), S. 676–685. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2010.02522.x.
- Bolton, P. F.; Clifford, M.; Tye, C.; MacLean, C.; Humphrey, A.; Le Marechal, K. et al. (2015): Intellectual abilities in tuberous sclerosis complex: risk factors and correlates from the

- Tuberous Sclerosis 2000 Study. In: *Psychological medicine* 45 (11), S. 2321–2331. DOI: 10.1017/S0033291715000264.
- Bortz, Jürgen; Schuster, Christof (2010): Statistik. Für Human-und Sozialwissenschaftler: Springer-Verlag.
- Bourgeois, B. F.; Prensky, A. L.; Palkes, H. S.; Talent, B. K.; Busch, S. G. (1983): Intelligence in epilepsy: a prospective study in children. In: *Annals of neurology* 14 (4), S. 438–444. DOI: 10.1002/ana.410140407.
- Capal, Jamie K.; Bernardino-Cuesta, Beatriz; Horn, Paul S.; Murray, Donna; Byars, Anna Weber; Bing, Nicole M. et al. (2017): Influence of seizures on early development in tuberous sclerosis complex. In: *Epilepsy & behavior : E&B* 70 (Pt A), S. 245–252. DOI: 10.1016/j.yebeh.2017.02.007.
- Chen, Tim T.; Klassen, Tara L.; Goldman, Alica M.; Marini, Carla; Guerrini, Renzo; Noebels, Jeffrey L. (2013): Novel brain expression of ClC-1 chloride channels and enrichment of CLCN1 variants in epilepsy. In: *Neurology* 80 (12), S. 1078–1085. DOI: 10.1212/WNL.0b013e31828868e7.
- Chung, Thomas K.; Lynch, Elizabeth R.; Fiser, Cheryl J.; Nelson, Daniel A.; Agricola, Karen; Tudor, Cynthia et al. (2011): Psychiatric comorbidity and treatment response in patients with tuberous sclerosis complex. In: *Annals of clinical psychiatry : official journal of the American Academy of Clinical Psychiatrists* 23 (4), S. 263–269.
- Chu-Shore, C. J.; Major, P.; Camposano, S.; Muzykewicz, D.; Thiele, E. A. (2010): The natural history of epilepsy in tuberous sclerosis complex. In: *Epilepsia* 51 (7), S. 1236–1241. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02474.x.
- Cornella, Nicola; Tebaldi, Toma; Gasperini, Lisa; Singh, Jarnail; Padgett, Richard A.; Rossi, Annalisa; Macchi, Paolo (2017): The hnRNP RALY regulates transcription and cell proliferation by modulating the expression of specific factors including the proliferation marker E2F1. In: *The Journal of biological chemistry* 292 (48), S. 19674–19692. DOI: 10.1074/jbc.M117.795591.
- Cross, J. H. (2005): Neurocutaneous syndromes and epilepsy-issues in diagnosis and management. In: *Epilepsia* 46 Suppl 10, S. 17–23. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2005.00353.x.
- Curatolo, P.; Seri, S.; Verdecchia, M.; Bombardieri, R. (2001): Infantile spasms in tuberous sclerosis complex. In: *Brain & development* 23 (7), S. 502–507.

Curatolo, Paolo (2003): Tuberous sclerosis complex: from basic science to clinical phenotypes. International Review of Child Neurology Series. London: Mac Keith Press for the International Child Neurology Association.

Curatolo, Paolo; Moavero, Romina; Roberto, Denis; Graziola, Federica (2015): Genotype/Phenotype Correlations in Tuberous Sclerosis Complex. In: *Seminars in pediatric neurology* 22 (4), S. 259–273. DOI: 10.1016/j.spn.2015.10.002.

Dabora, S. L.; Jozwiak, S.; Franz, D. N.; Roberts, P. S.; Nieto, A.; Chung, J. et al. (2001): Mutational analysis in a cohort of 224 tuberous sclerosis patients indicates increased severity of TSC2, compared with TSC1, disease in multiple organs. In: *American journal of human genetics* 68 (1), S. 64–80. DOI: 10.1086/316951.

Davis, Peter E.; Filip-Dhima, Rajna; Sideridis, Georgios; Peters, Jurriaan M.; Au, Kit Sing; Northrup, Hope et al. (2017): Presentation and Diagnosis of Tuberous Sclerosis Complex in Infants. In: *Pediatrics*. DOI: 10.1542/peds.2016-4040.

Descheemaeker, M. J.; Roelandts, K.; Raedt, T. de; Brems, H.; Fryns, J. P.; Legius, E. (2004): Intelligence in individuals with a neurofibromatosis type 1 microdeletion. In: *American journal of medical genetics. Part A* 131 (3), S. 325–326. DOI: 10.1002/ajmg.a.30346.

Diggs-Andrews, K. A.; Tokuda, K.; Izumi, Y.; Zorumski, C. F.; Wozniak, D. F.; Gutmann, D. H. (2013): Dopamine deficiency underlies learning deficits in neurofibromatosis-1 mice. In: *Annals of neurology* 73, S. 309–315.

Dilworth, Joshua T.; Kraniak, Janice M.; Wojtkowiak, Jonathan W.; Gibbs, Richard A.; Borch, Richard F.; Tainsky, Michael A. et al. (2006): Molecular targets for emerging anti-tumor therapies for neurofibromatosis type 1. In: *Biochemical pharmacology* 72 (11), S. 1485–1492. DOI: 10.1016/j.bcp.2006.04.010.

Dimassi, S.; Labalme, A.; Ville, D.; Calender, A.; Mignot, C.; Boutry-Kryza, N. et al. (2016): Whole-exome sequencing improves the diagnosis yield in sporadic infantile spasm syndrome. In: *Clinical genetics* 89 (2), S. 198–204. DOI: 10.1111/cge.12636.

Dulac, O.; Plouin, P.; Jambaque, I. (1993): Predicting favorable outcome in idiopathic West syndrome. In: *Epilepsia* 34 (4), S. 747–756.

Fahsold, Raimund; Hoffmeyer, Sven; Mischung, Claudia; Gille, Christoph; Ehlers, Christian; Küçükceylan, Nazan et al. (2000): Minor Lesion Mutational Spectrum of the Entire NF1 Gene Does Not Explain Its High Mutability but Points to a Functional Domain Upstream of

the GAP-Related Domain. In: *The American Journal of Human Genetics* 66 (3), S. 790–818. DOI: 10.1086/302809.

Ferner, R. E.; Huson, S. M.; Thomas, N.; Moss, C.; Willshaw, H.; Evans, D. G. et al. (2007): Guidelines for the diagnosis and management of individuals with neurofibromatosis 1. In: *Journal of medical genetics* 44 (2), S. 81–88. DOI: 10.1136/jmg.2006.045906.

Franz, David N.; Lawson, John A.; Yapici, Zuhul; Brandt, Christian; Kohrman, Michael H.; Wong, Michael et al. (2018): Everolimus dosing recommendations for tuberous sclerosis complex-associated refractory seizures. In: *Epilepsia* 59 (6), S. 1188–1197. DOI: 10.1111/epi.14085.

Franz, David Neal; Belousova, Elena; Sparagana, Steven; Bebin, E. Martina; Frost, Michael; Kuperman, Rachel et al. (2013): Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. In: *Lancet (London, England)* 381 (9861), S. 125–132. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)61134-9.

Freitag, Hedwig (2007): Diagnose Epilepsie - Einfluss auf die kognitive Entwicklung. In: *Epileptologie* (24), S. 2–7.

Gales, Jordan; Prayson, Richard A. (2017): Hippocampal sclerosis and associated focal cortical dysplasia-related epilepsy in neurofibromatosis type I. In: *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 37, S. 15–19. DOI: 10.1016/j.jocn.2016.10.048.

Garg, S.; Plasschaert, E.; Descheemaeker, M. J.; Huson, S.; Borghgraef, M.; Vogels, A. et al. (2015): Autism spectrum disorder profile in neurofibromatosis type I. In: *Journal of autism and developmental disorders* 45 (6), S. 1649–1657. DOI: 10.1007/s10803-014-2321-5.

Gillberg, C.; Forsell, C. (1984): Childhood psychosis and neurofibromatosis--more than a coincidence? In: *Journal of autism and developmental disorders* 14 (1), S. 1–8.

Gipson, Tanjala T.; Johnston, Michael V. (2017): New insights into the pathogenesis and prevention of tuberous sclerosis-associated neuropsychiatric disorders (TAND). In: *F1000Research* 6. DOI: 10.12688/f1000research.11110.1.

Gohma, Hiroshi; Kuramoto, Takashi; Matalon, Reuben; Surendran, Sankar; Tying, Stephen; Kitada, Kazuhiro et al. (2007): Absence-like and tonic seizures in aspartoacylase/attractin double-mutant mice. In: *Experimental animals* 56 (2), S. 161–165.

- Gomez, M. R.; Sampson, J. R.; Whittemore, Vicky H. (1988): Tuberous Sclerosis. Neurologic and psychiatric features. 2. Aufl. Philadelphia: Lippincott-Raven.
- Gomez, Martha; Batista, Oriana (2015): Molecular diagnosis as a strategy for differential diagnosis and at early ages of neurofibromatosis type 1 (NF1). In: *Revista medica de Chile* 143 (10), S. 1320–1330. DOI: 10.4067/S0034-98872015001000011.
- Goodrick, Steven (2015): The road to Vogt's triad. In: *The Lancet. Neurology* 14 (7), S. 690. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00108-8.
- Grabert, J.; Wahle, P. (2008): Neuronal activity and TrkB ligands influence Kv3.1b and Kv3.2 expression in developing cortical interneurons. In: *Neuroscience* 156 (3), S. 618–629. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2008.08.008.
- Griffiths, S.; Thompson, P.; Frayling, I.; Upadhyaya, M. (2007): Molecular diagnosis of neurofibromatosis type 1. 2 years experience. In: *Familial cancer* 6 (1), S. 21–34. DOI: 10.1007/s10689-006-9001-3.
- Gromova, M.; Gerinec, A. (2008): Ocular manifestations of neurofibromatosis 1--m. Recklinghausen. In: *Bratislavské lekárske listy* 109 (6), S. 259.
- Hauser, W. Allen; Beghi, Ettore (2008): First seizure definitions and worldwide incidence and mortality. In: *Epilepsia* 49 Suppl 1, S. 8–12. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2008.01443.x.
- Heinemann, N. (2012): Langzeituntersuchung von Kindern und Jugendlichen mit sogenannten selbstlimitierenden Epilepsien. Dissertation. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel. Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Klinik für Neuropädiatrie. Online verfügbar unter http://macau.uni-kiel.de/servlets/MCRFileNodeServlet/dissertation_derivate_00004491/NoraHeinemannPromotion102012.pdf;jsessionid=1CA81DE096E40F913180D28AA8F5A5B0, zuletzt geprüft am 12.02.2017.
- Herzog, A. (2013): Tuberöse Sklerose Complex (TSC) - eine Einführung für Eltern. 1. Aufl. Unter Mitarbeit von S. Hoffmann und S. Welz. Hg. v. Tuberöse Sklerose Deutschland e. V. Wiesbaden.
- Holmes, G. L.; Stafstrom, C. E.; Tuberous Sclerosis Study, Group (2007): Tuberous sclerosis complex and epilepsy. recent developments and future challenges. In: *Epilepsia* 48 (4), S. 617–630. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01035.x.

- Hsieh, D. T.; Jennesson, M. M.; Thiele, E. A. (2013): Epileptic spasms in tuberous sclerosis complex. In: *Epilepsy research* 106 (1-2), S. 200–210. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2013.05.003.
- Hsieh, H. Y.; Fung, H. C.; Wang, C. J.; Chin, S. C.; Wu, T. (2011): Epileptic seizures in neurofibromatosis type 1 are related to intracranial tumors but not to neurofibromatosis bright objects. In: *Seizure* 20 (8), S. 606–611. DOI: 10.1016/j.seizure.2011.04.016.
- Huang, Jingxiang; Manning, Brendan D. (2008): The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. In: *The Biochemical journal* 412 (2), S. 179–190. DOI: 10.1042/BJ20080281.
- Hyman, S. L.; Shores, A.; North, K. N. (2005): The nature and frequency of cognitive deficits in children with neurofibromatosis type 1. In: *Neurology* 65 (7), S. 1037–1044. DOI: 10.1212/01.wnl.0000179303.72345.ce.
- Iannuzzi, S.; Albaret, J. M.; Chignac, C.; Faure-Marie, N.; Barry, I.; Karsenty, C.; Chaix, Y. (2016): Motor impairment in children with Neurofibromatosis type 1. Effect of the comorbidity with language disorders. In: *Brain & development* 38 (2), S. 181–187. DOI: 10.1016/j.braindev.2015.08.001.
- IBM SPSS Statistics for Windows (2012). Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.
- Ievglevskiy, O.; Isaev, D.; Netsyk, O.; Romanov, A.; Fedoriuk, M.; Maximyuk, O. et al. (2016): Acid-sensing ion channels regulate spontaneous inhibitory activity in the hippocampus: possible implications for epilepsy. In: *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 371 (1700). DOI: 10.1098/rstb.2015.0431.
- Imbard, A.; Pasmant, E.; Sabbagh, A.; Luscan, A.; Soares, M.; Goussard, P. et al. (2015): NF1 single and multi-exons copy number variations in neurofibromatosis type 1. In: *Journal of human genetics* 60 (4), S. 221–224. DOI: 10.1038/jhg.2015.6.
- Jansen, F. E.; van Huffelen, A. C.; van Rijen, P. C.; Leijten, F. S.; Jennekens-Schinkel, A.; Gosselaar, P. et al. (2007a): Epilepsy surgery in tuberous sclerosis. the Dutch experience. In: *Seizure* 16 (5), S. 445–453. DOI: 10.1016/j.seizure.2007.03.001.
- Jansen, Floor E.; van Huffelen, Alexander C.; Algra, Ale; van Nieuwenhuizen, Onno (2007b): Epilepsy surgery in tuberous sclerosis: a systematic review. In: *Epilepsia* 48 (8), S. 1477–1484. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01117.x.

Jdila, Marwa Ben; Issa, Abir Ben; Khabou, Boudour; Rhouma, Bochra Ben; Kamoun, Fatma; Ammar-Keskes, Leila et al. (2017): Novel mutations in the CDKL5 gene in complex genotypes associated with West syndrome with variable phenotype: First description of somatic mosaic state. In: *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 473, S. 51–59. DOI: 10.1016/j.cca.2017.08.001.

Joinson, C.; O'Callaghan, F. J.; Osborne, J. P.; Martyn, C.; Harris, T.; Bolton, P. F. (2003): Learning disability and epilepsy in an epidemiological sample of individuals with tuberous sclerosis complex. In: *Psychological medicine* 33 (2), S. 335–344.

Jones, A. C.; Daniells, C. E.; Snell, R. G.; Tachataki, M.; Idziaszczyk, S. A.; Krawczak, M. et al. (1997): Molecular genetic and phenotypic analysis reveals differences between TSC1 and TSC2 associated familial and sporadic tuberous sclerosis. In: *Human molecular genetics* 6 (12), S. 2155–2161.

Jozwiak, S.; Schwartz, R. A.; Janniger, C. K.; Bielicka-Cymerman, J. (2000): Usefulness of diagnostic criteria of tuberous sclerosis complex in pediatric patients. In: *Journal of child neurology* 15 (10), S. 652–659.

Kaczmarek, Leonard K.; Zhang, Yalan (2017): Kv3 Channels: Enablers of Rapid Firing, Neurotransmitter Release, and Neuronal Endurance. In: *Physiological reviews* 97 (4), S. 1431–1468. DOI: 10.1152/physrev.00002.2017.

Kalra, Veena; Gulati, Sheffali; Pandey, Ravindra Mohan; Menon, Shaji (2002): West syndrome and other infantile epileptic encephalopathies--Indian hospital experience. In: *Brain & development* 24 (2), S. 130–139.

Kanner, Leo (1943): Autistic disturbances of affective contact: publisher not identified.

Kehrer-Sawatzki, H.; Mautner, V-F (2009): Klinik und Genetik der Neurofibromatose Typ 1. In: *medizinische genetik* 21 (4), S. 519–531.

Kelleher, R. J., 3rd; Bear, M. F. (2008): The autistic neuron. troubled translation? In: *Cell* 135 (3), S. 401–406. DOI: 10.1016/j.cell.2008.10.017.

Kellermann, Tanja S.; Bonilha, Leonardo; Lin, Jack J.; Hermann, Bruce P. (2015): Mapping the landscape of cognitive development in children with epilepsy. In: *Cortex; a journal devoted to the study of the nervous system and behavior* 66, S. 1–8. DOI: 10.1016/j.cortex.2015.02.001.

- Klein-Tasman, B. P.; Janke, K. M.; Luo, W.; Casnar, C. L.; Hunter, S. J.; Tonsgard, J. et al. (2014): Cognitive and psychosocial phenotype of young children with neurofibromatosis-1. In: *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 20 (1), S. 88–98. DOI: 10.1017/s1355617713001227.
- Kluwe, L.; Siebert, R.; Gesk, S.; Friedrich, R. E.; Tinschert, S.; Kehrer-Sawatzki, H.; Mautner, V. F. (2004): Screening 500 unselected neurofibromatosis 1 patients for deletions of the NF1 gene. In: *Human mutation* 23 (2), S. 111–116. DOI: 10.1002/humu.10299.
- Korf, B. R.; Carrazana, E.; Holmes, G. L. (1993): Patterns of seizures observed in association with neurofibromatosis 1. In: *Epilepsia* 34 (4), S. 616–620.
- Kossoff, Eric H.; Thiele, Elizabeth A.; Pfeifer, Heidi H.; McGrogan, Jane R.; Freeman, John M. (2005): Tuberous sclerosis complex and the ketogenic diet. In: *Epilepsia* 46 (10), S. 1684–1686. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2005.00266.x.
- Kotulska, K.; Jurkiewicz, E.; Domanska-Pakiela, D.; Grajkowska, W.; Mandera, M.; Borkowska, J.; Jozwiak, S. (2014): Epilepsy in newborns with tuberous sclerosis complex. In: *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*. DOI: 10.1016/j.ejpn.2014.06.009.
- Kozlowski, Piotr; Roberts, Penelope; Dabora, Sandra; Franz, David; Bissler, John; Northrup, Hope et al. (2007): Identification of 54 large deletions/duplications in TSC1 and TSC2 using MLPA, and genotype-phenotype correlations. In: *Human genetics* 121 (3-4), S. 389–400. DOI: 10.1007/s00439-006-0308-9.
- Krab, L. C.; Aarsen, F. K.; Goede-Bolder, A. de; Catsman-Berrevoets, C. E.; Arts, W. F.; Moll, H. A.; Elgersma, Y. (2008): Impact of neurofibromatosis type 1 on school performance. In: *Journal of child neurology* 23 (9), S. 1002–1010. DOI: 10.1177/0883073808316366.
- Krueger, D. A.; Northrup, H.; International Tuberous Sclerosis Complex Consensus, Group (2013a): Tuberous sclerosis complex surveillance and management. recommendations of the 2012 International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Conference. In: *Pediatric neurology* 49 (4), S. 255–265. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.002.
- Krueger, D. A.; Wilfong, A. A.; Holland-Bouley, K.; Anderson, A. E.; Agricola, K.; Tudor, C. et al. (2013b): Everolimus treatment of refractory epilepsy in tuberous sclerosis complex. In: *Annals of neurology* 74 (5), S. 679–687. DOI: 10.1002/ana.23960.

- Kuckartz, U., Rädiker, S., Ebert, Th., Schehl, J.: Statistik - Eine verständliche Einführung. 2. Aufl.: Springer.
- Kulkantrakorn, K.; Geller, T. J. (1998): Seizures in neurofibromatosis 1. In: *Pediatric neurology* 19 (5), S. 347–350.
- Kurlemann, G.; Fiedler, B. (2013): Tuberöse-Sklerose-Komplex-Erkrankung. In: *Kinderärztliche Praxis* 84 (6), S. 350–364.
- Kwan, P.; Arzimanoglou, A.; Berg, A. T.; Brodie, M. J.; Allen Hauser, W.; Mathern, G. et al. (2010a): Definition of drug resistant epilepsy. consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. In: *Epilepsia* 51 (6), S. 1069–1077. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x.
- Kwan, P.; Arzimanoglou, A.; Berg, A. T.; Brodie, M. J.; Hauser, W. A.; Mathern, G. et al. (2010b): Definition der pharmakoresistenten Epilepsie. Konsensusvorschlag der ad hoc-Task Force der ILAE-Kommission für Therapeutische Strategien. In: *Aktuelle Neurologie* 37 (08), S. 372–381.
- Lau, D.; Vega-Saenz de Miera, E C; Contreras, D.; Ozaita, A.; Harvey, M.; Chow, A. et al. (2000): Impaired fast-spiking, suppressed cortical inhibition, and increased susceptibility to seizures in mice lacking Kv3.2 K⁺ channel proteins. In: *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 20 (24), S. 9071–9085.
- Lee, J. S.; Lim, B. C.; Chae, J. H.; Hwang, Y. S.; Seong, M. W.; Park, S. S.; Kim, K. J. (2014): Mutational analysis of paediatric patients with tuberous sclerosis complex in Korea. genotype and epilepsy. In: *Epileptic disorders : international epilepsy journal with videotape* 16 (4), S. 449–455. DOI: 10.1684/epd.2014.0712.
- Lee, Sang-Moo; Kim, Ji-Eun; Sohn, Jong-Hee; Choi, Hui-Chul; Lee, Ju-Sang; Kim, Sung-Hun et al. (2009): Down-regulation of delayed rectifier K⁺ channels in the hippocampus of seizure sensitive gerbils. In: *Brain research bulletin* 80 (6), S. 433–442. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2009.07.016.
- Lewis, J. C.; Thomas, H. V.; Murphy, K. C.; Sampson, J. R. (2004): Genotype and psychological phenotype in tuberous sclerosis. In: *Journal of medical genetics* 41 (3), S. 203–207.
- Madhavan, D.; Schaffer, S.; Yankovsky, A.; Arzimanoglou, A.; Renaldo, F.; Zaroff, C. M. et al. (2007): Surgical outcome in tuberous sclerosis complex. a multicenter survey. In: *Epilepsia* 48 (8), S. 1625–1628. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01112.x.

- Marchuk, D. A.; Saulino, A. M.; Tavakkol, R.; Swaroop, M.; Wallace, M. R.; Andersen, L. B. et al. (1991): cDNA cloning of the type 1 neurofibromatosis gene. complete sequence of the NF1 gene product. In: *Genomics* 11 (4), S. 931–940.
- McDaniel, Sharon S.; Rensing, Nicholas R.; Thio, Liu Lin; Yamada, Kelvin A.; Wong, Michael (2011): The ketogenic diet inhibits the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. In: *Epilepsia* 52 (3), e7-11. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2011.02981.x.
- Michaud, Jacques L.; Lachance, Mathieu; Hamdan, Fadi F.; Carmant, Lionel; Lortie, Anne; Diadori, Paola et al. (2014): The genetic landscape of infantile spasms. In: *Human molecular genetics* 23 (18), S. 4846–4858. DOI: 10.1093/hmg/ddu199.
- Monteiro, T.; Garrido, C.; Pina, S.; Choro, R.; Carrilho, I.; Figueiroa, S. et al. (2014): [Tuberous sclerosis. Clinical characteristics and their relationship to genotype/phenotype.]. In: *Anales de pediatria*. DOI: 10.1016/j.anpedi.2014.03.022.
- Motte, J.; Billard, C.; Fejerman, N.; Sfaello, Z.; Arroyo, H.; Dulac, O. (1993): Neurofibromatosis type one and West syndrome. a relatively benign association. In: *Epilepsia* 34 (4), S. 723–726.
- Muona, Mikko; Berkovic, Samuel F.; Dibbens, Leanne M.; Oliver, Karen L.; Maljevic, Snezana; Bayly, Marta A. et al. (2015): A recurrent de novo mutation in KCNC1 causes progressive myoclonus epilepsy. In: *Nature genetics* 47 (1), S. 39–46. DOI: 10.1038/ng.3144.
- Napolioni, Valerio; Curatolo, Paolo (2008): Genetics and molecular biology of tuberous sclerosis complex. In: *Current genomics* 9 (7), S. 475–487. DOI: 10.2174/138920208786241243.
- Nellist, Mark; Brouwer, Rutger W. W.; Kockx, Christel E. M.; van Veghel-Plandsoen, Monique; Withagen-Hermans, Caroline; Prins-Bakker, Lida et al. (2015): Targeted Next Generation Sequencing reveals previously unidentified TSC1 and TSC2 mutations. In: *BMC medical genetics* 16, S. 10. DOI: 10.1186/s12881-015-0155-4.
- Nemethova, M.; Bolcekova, A.; Ilencikova, D.; Durovcikova, D.; Hlinkova, K.; Hlavata, A. et al. (2013): Thirty-nine novel neurofibromatosis 1 (NF1) gene mutations identified in Slovak patients. In: *Annals of human genetics* 77 (5), S. 364–379. DOI: 10.1111/ahg.12026.
- NIH (1988): National Health Consensus Development Conference Statement. neurofibromatosis. Bethesda, MD, USA, July 13-15, 1987. In: *Neurofibromatosis* 1 (3), S. 172–178.

Northrup, H.; Krueger, D. A.; International Tuberous Sclerosis Complex Consensus Group (2013): Tuberous sclerosis complex diagnostic criteria update. *Pediatr Neurol* 0887-8994 (4), S. 243–254. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2013.08.001.

Novartis Media Relations (2017): Novartis drug Votubia (R) receives EU approval to treat refractory partial-onset seizures in patients with TSC. Unter Mitarbeit von Althoff E. und Neufeld J. Hg. v. Novartis. Online verfügbar unter <http://www.novartis.com/news/media-releases/novartis-drug-votubiar-receives-eu-approval-treat-refractory-partial-onset>, zuletzt geprüft am 21.07.2017.

O'Callaghan, F. J. K.; Harris, T.; Joinson, C.; Bolton, P.; Noakes, M.; Presdee, D. et al. (2004): The relation of infantile spasms, tubers, and intelligence in tuberous sclerosis complex. In: *Archives of disease in childhood* 89 (6), S. 530–533.

O'Callaghan, Finbar J. K.; Edwards, Stuart W.; Alber, Fabienne Dietrich; Cortina Borja, Mario; Hancock, Eleanor; Johnson, Anthony L. et al. (2018): Vigabatrin with hormonal treatment versus hormonal treatment alone (ICISS) for infantile spasms: 18-month outcomes of an open-label, randomised controlled trial. In: *The Lancet. Child & adolescent health* 2 (10), S. 715–725. DOI: 10.1016/S2352-4642(18)30244-X.

O'Callaghan, Finbar J. K.; Edwards, Stuart W.; Alber, Fabienne Dietrich; Hancock, Eleanor; Johnson, Anthony L.; Kennedy, Colin R. et al. (2017): Safety and effectiveness of hormonal treatment versus hormonal treatment with vigabatrin for infantile spasms (ICISS): a randomised, multicentre, open-label trial. In: *The Lancet. Neurology* 16 (1), S. 33–42. DOI: 10.1016/S1474-4422(16)30294-0.

Ostendorf, A. P.; Gutmann, D. H.; Weisenberg, J. L. (2013): Epilepsy in individuals with neurofibromatosis type 1. In: *Epilepsia* 54, S. 1810–1814.

Overwater, Iris E.; Bindels-de Heus, Karen; Rietman, Andre B.; Hoopen, Leontine W. ten; Vergouwe, Yvonne; Moll, Henriette A.; Wit, Marie-Claire Y. de (2015): Epilepsy in children with tuberous sclerosis complex: Chance of remission and response to antiepileptic drugs. In: *Epilepsia* 56 (8), S. 1239–1245. DOI: 10.1111/epi.13050.

Pape, Hans-Christian; Kurtz, Armin; Silbernagl, Stefan (Hg.) (2014): *Physiologie*. 7. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

Pasmant, E.; Sabbagh, A.; Spurlock, G.; Laurendeau, I.; Grillo, E.; Hamel, M. J. et al. (2010): NF1 microdeletions in neurofibromatosis type 1. from genotype to phenotype. In: *Human mutation* 31 (6), E1506-18. DOI: 10.1002/humu.21271.

Pecoraro, Anthony; Arehart, Eric; Gallentine, William; Radtke, Rodney; Smith, Edward; Pizoli, Carolyn et al. (2017): Epilepsy in neurofibromatosis type 1. In: *Epilepsy & behavior : E&B* 73, S. 137–141. DOI: 10.1016/j.yebeh.2017.05.011.

Pinna, V.; Lanari, V.; Daniele, P.; Consoli, F.; Agolini, E.; Margiotti, K. et al. (2014): p.Arg1809Cys substitution in neurofibromin is associated with a distinctive NF1 phenotype without neurofibromas. In: *European journal of human genetics : EJHG*. DOI: 10.1038/ejhg.2014.243.

Prather, P.; Vries, P. J. de (2004): Behavioral and cognitive aspects of tuberous sclerosis complex. In: *Journal of child neurology* 19 (9), S. 666–674.

QIAGEN® (Hg.) (2015): QIAamp® DNA Blood Midi/Maxi Handbook. For large-scale genomic and viral DNA purification from whole blood, plasma, serum, body fluids, and lymphocytes. Online verfügbar unter <https://www.google.de/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjxlZWx5NnVAhWBbhQK-HequAe0QFgg0MAI&url=https%3A%2F%2Fwww.qiagen.com%2Fch%2Fresources%2Fdownload.aspx%3Fid%3D62a200d6-faf4-469b-b50f-2b59cf738962%26lang%3Den&usg=AFQjCNGNfJh2ENsIE9YpPGjhyQvRtzCUZQ>, zuletzt geprüft am 15.08.2017.

Riccardi, V. M.; Wald, J. S. (1987): Discounting an adverse maternal effect on severity of neurofibromatosis. In: *Pediatrics* 79 (3), S. 386–393.

Ruggieri, M.; Iannetti, P.; Clementi, M.; Polizzi, A.; Incorpora, G.; Spalice, A. et al. (2009): Neurofibromatosis type 1 and infantile spasms. In: *Child's nervous system : ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery* 25 (2), S. 211–216. DOI: 10.1007/s00381-008-0706-5.

Russo, Emilio; Citraro, Rita; Constanti, Andrew; Sarro, Giovambattista de (2012): The mTOR signaling pathway in the brain: focus on epilepsy and epileptogenesis. In: *Molecular neurobiology* 46 (3), S. 662–681. DOI: 10.1007/s12035-012-8314-5.

- Sampson, J. R.; Maheshwar, M. M.; Aspinwall, R.; Thompson, P.; Cheadle, J. P.; Ravine, D. et al. (1997): Renal cystic disease in tuberous sclerosis: role of the polycystic kidney disease 1 gene. In: *American journal of human genetics* 61 (4), S. 843–851. DOI: 10.1086/514888.
- Shepherd, C. W.; Houser, O. W.; Gomez, M. R. (1995): MR findings in tuberous sclerosis complex and correlation with seizure development and mental impairment. In: *AJNR. American journal of neuroradiology* 16 (1), S. 149–155.
- Sidenvall, R.; Forsgren, L.; Blomquist, H. K.; Heijbel, J. (1993): A community-based prospective incidence study of epileptic seizures in children. In: *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 82 (1), S. 60–65.
- Stafstrom, Carl E.; Staedtke, Verena; Comi, Anne M. (2017): Epilepsy Mechanisms in Neurocutaneous Disorders: Tuberous Sclerosis Complex, Neurofibromatosis Type 1, and Sturge-Weber Syndrome. In: *Frontiers in neurology* 8, S. 87. DOI: 10.3389/fneur.2017.00087.
- Stephenson, J. B. (1988): A study of TS seizures using visual recording techniques (abstract). In: *Tuberous Sclerosis Symposium* Nottingham, 15-16 September 1988.
- Thiele, E. A. (2004): Managing epilepsy in tuberous sclerosis complex. In: *Journal of child neurology* 19 (9), S. 680–686.
- Thompson, R. A.; Nelson, C. A. (2001): Developmental science and the media. Early brain development. In: *The American psychologist* 56 (1), S. 5–15.
- Tyburczy, Magdalena E.; Dies, Kira A.; Glass, Jennifer; Camposano, Susana; Chekaluk, Yvonne; Thorner, Aaron R. et al. (2015): Mosaic and Intronic Mutations in TSC1/TSC2 Explain the Majority of TSC Patients with No Mutation Identified by Conventional Testing. In: *PLoS genetics* 11 (11), e1005637. DOI: 10.1371/journal.pgen.1005637.
- van Eeghen, A. M.; Black, M. E.; Pulsifer, M. B.; Kwiatkowski, D. J.; Thiele, E. A. (2012): Genotype and cognitive phenotype of patients with tuberous sclerosis complex. In: *European journal of human genetics : EJHG* 20 (5), S. 510–515. DOI: 10.1038/ejhg.2011.241.
- van Eeghen, A. M.; Pulsifer, M. B.; Merker, V. L.; Neumeier, A. M.; van Eeghen, E. E.; Thibert, R. L. et al. (2013a): Understanding relationships between autism, intelligence, and epilepsy. a cross-disorder approach. In: *Developmental medicine and child neurology* 55 (2), S. 146–153. DOI: 10.1111/dmcn.12044.

van Eeghen, Agnies M.; Nellist, Mark; van Eeghen, Elmer E.; Thiele, Elizabeth A. (2013b): Central TSC2 missense mutations are associated with a reduced risk of infantile spasms. In: *Epilepsy research* 103 (1), S. 83–87. DOI: 10.1016/j.eplepsyres.2012.07.007.

van Slegtenhorst, M.; Hoogt, R. de; Hermans, C.; Nellist, M.; Janssen, B.; Verhoef, S. et al. (1997): Identification of the tuberous sclerosis gene TSC1 on chromosome 9q34. In: *Science (New York, N.Y.)* 277 (5327), S. 805–808.

van Slegtenhorst, M.; Nellist, M.; Nagelkerken, B.; Cheadle, J.; Snell, R.; van den Ouweland, A. et al. (1998): Interaction between hamartin and tuberlin, the TSC1 and TSC2 gene products. In: *Human molecular genetics* 7 (6), S. 1053–1057.

van Slegtenhorst, M.; Verhoef, S.; Tempelaars, A.; Bakker, L.; Wang, Q.; Wessels, M. et al. (1999): Mutational spectrum of the TSC1 gene in a cohort of 225 tuberous sclerosis complex patients: no evidence for genotype-phenotype correlation. In: *Journal of medical genetics* 36 (4), S. 285–289.

Vigevano, F.; Fusco, L.; Cusmai, R.; Claps, D.; Ricci, S.; Milani, L. (1993): The idiopathic form of West syndrome. In: *Epilepsia* 34 (4), S. 743–746.

Vignoli, A.; La Briola, F.; Turner, K.; Scornavacca, G.; Chiesa, V.; Zambrelli, E. et al. (2013): Epilepsy in TSC. certain etiology does not mean certain prognosis. In: *Epilepsia* 54 (12), S. 2134–2142. DOI: 10.1111/epi.12430.

Vivarelli, R.; Grosso, S.; Calabrese, F.; Farnetani, M.; Di Bartolo, R.; Morgese, G.; Balestri, P. (2003): Epilepsy in Neurofibromatosis 1. In: *Journal of Child Neurology* 18 (5), S. 338–342. DOI: 10.1177/08830738030180050501.

Vries, P. de; Humphrey, A.; McCartney, D.; Prather, P.; Bolton, P.; Hunt, A. (2005): Consensus clinical guidelines for the assessment of cognitive and behavioural problems in Tuberous Sclerosis. In: *European child & adolescent psychiatry* 14 (4), S. 183–190. DOI: 10.1007/s00787-005-0443-1.

Vries, Petrus J. de; Whittemore, Vicky H.; Leclezio, Loren; Byars, Anna W.; Dunn, David; Ess, Kevin C. et al. (2015): Tuberous sclerosis associated neuropsychiatric disorders (TAND) and the TAND Checklist. In: *Pediatric neurology* 52 (1), S. 25–35. DOI: 10.1016/j.pediatr-neurol.2014.10.004.

- Wang, Doris D.; Kriegstein, Arnold R. (2009): Defining the role of GABA in cortical development. In: *The Journal of physiology* 587 (Pt 9), S. 1873–1879. DOI: 10.1113/jphysiol.2008.167635.
- Webb, D. W.; Fryer, A. E.; Osborne, J. P. (1991): On the incidence of fits and mental retardation in tuberous sclerosis. In: *Journal of medical genetics* 28 (6), S. 395–397.
- Weiner, Howard L.; Carlson, Chad; Ridgway, Emily B.; Zaroff, Charles M.; Miles, Daniel; LaJoie, Josiane; Devinsky, Orrin (2006): Epilepsy surgery in young children with tuberous sclerosis: results of a novel approach. In: *Pediatrics* 117 (5), S. 1494–1502. DOI: 10.1542/peds.2005-1206.
- Whelan, Harry; Harmelink, Matthew; Chou, Erica; Sallowm, Delphin; Khan, Nadir; Patil, Rachit et al. (2017): Complex febrile seizures-A systematic review. In: *Disease-a-month : DM*. DOI: 10.1016/j.disamonth.2016.12.001.
- Wiegand, G.; May, T. W.; Ostertag, P.; Boor, R.; Stephani, U.; Franz, D. N. (2013): Everolimus in tuberous sclerosis patients with intractable epilepsy. a treatment option? In: *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society* 17 (6), S. 631–638. DOI: 10.1016/j.ejpn.2013.06.002.
- Wong, Michael (2008): Mechanisms of epileptogenesis in tuberous sclerosis complex and related malformations of cortical development with abnormal glioneuronal proliferation. In: *Epilepsia* 49 (1), S. 8–21. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2007.01270.x.
- Xia, Fan; Bainbridge, Matthew N.; Tan, Tiong Yang; Wangler, Michael F.; Scheuerle, Angela E.; Zackai, Elaine H. et al. (2014): De novo truncating mutations in AHDC1 in individuals with syndromic expressive language delay, hypotonia, and sleep apnea. In: *American journal of human genetics* 94 (5), S. 784–789. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.04.006.
- Xu, W.; Yang, X.; Hu, X.; Li, S. (2014): Fifty-four novel mutations in the NF1 gene and integrated analyses of the mutations that modulate splicing. In: *International journal of molecular medicine* 34 (1), S. 53–60. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1756.
- Yang, Hui; Douglas, Ganka; Monaghan, Kristin G.; Retterer, Kyle; Cho, Megan T.; Escobar, Luis F. et al. (2015): De novo truncating variants in the AHDC1 gene encoding the AT-hook DNA-binding motif-containing protein 1 are associated with intellectual disability and developmental delay. In: *Cold Spring Harbor molecular case studies* 1 (1), a000562. DOI: 10.1101/mcs.a000562.

Yap, Yoon-Sim; McPherson, John R.; Ong, Choon-Kiat; Rozen, Steven G.; Teh, Bin-Tean; Lee, Ann S. G.; Callen, David F. (2014): The NF1 gene revisited – from bench to bedside. In: *Oncotarget* 5 (15), S. 5873–5892.

Yeung, R. S. (2002): Tuberous sclerosis as an underlying basis for infantile spasm. In: *International review of neurobiology* 49, S. 315–332.

Zaghlool, Ammar; Halvardson, Jonatan; Zhao, Jin J.; Etemadikhah, Mitra; Kalushkova, Antonia; Konska, Katarzyna et al. (2016): A Role for the Chromatin-Remodeling Factor BAZ1A in Neurodevelopment. In: *Human mutation* 37 (9), S. 964–975. DOI: 10.1002/humu.23034.

Zhang, Bo; Zou, Jia; Rensing, Nicholas R.; Yang, Meihua; Wong, Michael (2015): Inflammatory mechanisms contribute to the neurological manifestations of tuberous sclerosis complex. In: *Neurobiology of disease* 80, S. 70–79. DOI: 10.1016/j.nbd.2015.04.016.

10 Anhänge

10.1 Anhang A: Tabellen

Tabelle A 1: Fehlende Werte der einzelnen NF1-Variablen, N = 51.

Variable¹	Fehlende Werte
Fragebogen	22
Zeitpunkt der Erstdiagnose	2
Neurofibrome	1
Optikusgliom	9
Sphenoiddysplasie	7
Myelinvakuolisierungen	7
Aktuelle Anfallshäufigkeit	1
Schulform	1
Förderschwerpunkt	7
Integrativer Platz	8
Schulbegleitung	11
Schulabschluss	2
Aktuelle Wohnsituation	16
Dauerhafte Betreuung	25
Pflegestufe	23
Konzentrationsschwierigkeiten	23
Lese-Rechtschreib-Schwäche	25
Hyperaktivität	25
ADHS	27
Wahrnehmungsstörung	26
Mangelnde Impulskontrolle	25
Aggressivität	26
Depression	24
Autismus	28
Koordinationsprobleme	25
Gleichgewichtsprobleme	25
Andere	31

Variable¹	Fehlende Werte
Verwandte II° mit NF1	3
Verwandte I° mit Epilepsie	2
Verwandte II° mit Epilepsie	2
Genetik Patient	4
Genetik paternal	4
Genetik maternal	4
Genetik Geschwister	4
Mutationstyp	35

¹ Es wurden nur Variablen mit fehlenden Werten aufgelistet

Tabelle A 2: Fehlende Werte der einzelnen TSC-Variablen.

Variable¹	Fehlende Werte
Fragebogen	10
Retinale Hamartome	4
Angiomyolipome	1
Retinaler achromatischer Fleck	6
Multiple renale Zysten	2
Dyskognitive Anfälle	2
Aktuelle Anfallshäufigkeit	2
Beginn Anfallsfreiheit	1
Dauer Anfallsfreiheit	1
Rezidiv	1
Anzahl Medikamente insgesamt	1
Anzahl aktueller Medikamente	1
Schulform	1
Förderschwerpunkt	1
Integrativer Platz	7
Schulbegleitung	6
Schulabschluss	1
Aktuelle Wohnsituation	7
Dauerhafte Betreuung	9
Pflegestufe	10

Variable ¹	Fehlende Werte
Konzentrationschwierigkeiten	14
Lese-Rechtschreib-Schwäche	20
Hyperaktivität	16
ADHS	17
Wahrnehmungsstörung	16
Mangelnde Impulskontrolle	16
Aggressivität	15
Depression	20
Autismus	16
Koordinationsprobleme	16
Gleichgewichtsprobleme	16
Andere	23
Verwandte I° mit TSC	2
Verwandte II° mit TSC	2
Verwandte I° mit Epilepsie	1
Verwandte II° mit Epilepsie	1
Genetik Patient	2
Genetik paternal	2
Genetik maternal	2
Genetik Geschwister	5
<i>TSC1</i> - oder <i>TSC2</i> -Mutation	6
Mutationstyp	6
Familiär/sporadisch	13

¹ Es wurden nur Variablen mit fehlenden Werten aufgelistet

Tabelle A 3: Darstellung aller vorliegenden genetischen Befunde des NF1-Gens detektiert durch Gensequenzierung oder MLPA-Analyse.

ID	M/W	RefSeq	Exon	MutCDNA	MutProt	Mutationstyp	Patho.	Fam./Spo.
1	M	NM_000267.1	Exon 13	c.2033dup	p.Ile679Aspfs*21	Duplikation	Pathogen	Sporadisch
3	M	Unbekannt	Exon 18	c.3080_3081insGA	p.Asp1027Glufs*10	Insertion	Pathogen	Sporadisch
5	M	Unbekannt	Intron 8	c.1185+1G>T	-	Spleißmutation	Pathogen	Sporadisch
6	M	NM_000267.3	Exon 14	c.1541_1542delAG	p.Gln514Argfs*43	Deletion	Pathogen	Familiär
7 ^a	W	NM_000267.3	Exon 14	c.1541_1542delAG	p.Gln514Argfs*43	Deletion	Pathogen	Familiär
9	W	NM_000267.3	Exon 30	-	-	Duplikation	Unklar	Familiär
10 ^a	W	NM_000267.3	Exon 30	-	-	Duplikation	Unklar	Familiär
12	W	NM_000267.3	Intron 3	c.288+1G>T	-	Spleißmutation	Pathogen	Sporadisch
13	W	NM_000267.3	Exon 40	c.5851delAins(A)2	p.Thr1951Asnfs*5 ^x	Indel	Unklar	Familiär
14 ^b	M	NM_000267.3	Exon 43	c.7563_7564delAA	p.Ser2522Phefs*2	Deletion	Pathogen	Familiär
16	M	Unbekannt	Exon 13	c.2034_2035insG	p.Ile679Aspfs*21 (wenn NM_000267)	Insertion	Pathogen	Sporadisch
18	W	NM_000267.3	-	Negativ	-	-	-	Sporadisch
19	W	Unbekannt	Exon 12-58	-	-	Deletion	Pathogen	Familiär
21	M	NM_000267.3	Exon 7	c.910C>T	p.Arg304*	Nonsense	Pathogen	Sporadisch
24	W	NM_000267.3	Exon 22	c.3826C>T	p.Arg1276*	Nonsense	Pathogen	Sporadisch
25	M	NM_000267.3	Alle Exone	-	-	1,4Mb-Mikrodele- tion	Pathogen	Sporadisch
26	M	Unbekannt	Alle Exone	-	-	Deletion	Pathogen	Sporadisch

ID	M/W	RefSeq	Exon	MutCDNA	MutProt	Mutationstyp	Patho.	Fam./Spo.
28	M	Unbekannt	29 v. 60 Exons neg.	Negativ	-	-	-	Familiär
30*	M	NM_000267.3	Exon 42	c.6341C>T	p.Thr2114Ile	Missense	Pathogen	Sporadisch
34	W	NM_000267.3	Exon 22	c.3827G>A	p.Arg1276Gln	Missense	Pathogen	Sporadisch
36	W	Unbekannt	Exon 7	c.962_969del	p.Ala321Valfs*6	Deletion	Pathogen	Familiär
46 ^a	W	NM_000267	Exon 21	c.2709G>A	p.Val903=	Substitution	Pathogen	Familiär
47	M	NM_000267	Exon 21	c.2709G>A	p.Val903=	Substitution	Pathogen	Familiär

^a Geschwisterkind mit indirektem Mutationsnachweis, ^b indirekter Mutationsnachweis durch maternale Untersuchung, ^x entspricht p.T1972Nfs*5 für NM 001042492.2

ID = Identifikationsnummer, M = männlich, W = weiblich, RefSeq = Referenzsequenz, MutCDNA = Mutation auf cDNA-Ebene, MutProt = Mutation auf Proteinebene, Patho. = Pathogenität, Fam. = Familiär, Spo. = Sporadisch, del = Deletion, dup = Duplikation, ins = Insertion, fs = frameshift, * = Stopcodon

Tabelle A 4: Häufigkeiten der erfassten Variablen zu genetischen Faktoren getrennt für NF1-Patienten mit (n = 7) und NF1-Patienten ohne Epilepsie (n = 44).

	NF1 mit Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
	Häufigkeiten absolut / %	Häufigkeiten absolut / %
Verwandte I° mit NF1	6 / 86	22 / 50
Verwandte II° mit NF1	0	9 / 21
Verwandte I° mit Epilepsie	3 / 43	3 / 7 %
Verwandte II° ohne Epilepsie	1 / 14	0

Tabelle A 5: Häufigkeiten der erfassten Variablen zum schulischen und beruflichen Werdegang getrennt für NF1-Patienten mit (n = 7) und NF1-Patienten ohne Epilepsie (n = 44).

	NF1 mit Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
	Häufigkeiten absolut / %	Häufigkeiten absolut / %
Besuchte Schule	n = 7	n = 44
Zu klein	1 / 14	9 / 21
Grundschule	0	8 / 18
Hauptschule	1 / 14	9 / 21
Realschule	0	3 / 7
Gymnasium	0	4 / 9
Förderschule	5 / 71	6 / 14
Andere	0	4 / 9
Unbekannt	0	1 / 2
Geistige Entwicklung	3	3
Motorische & körperliche Entwicklung	2	4
Lernen	2	5
Sprache	2	2
Soziale & emotionale Entwicklung	1	0
Integrationsplatz	0	6
Schulbegleitung	1	2
I-Platz & Schulbegleitung	1	2

	NF1 mit Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
	Häufigkeiten absolut / %	Häufigkeiten absolut / %
Schulabschluss	n = 6	n = 35
Noch in der Schule	2	23
Hauptschulabschluss	1	5
Realschulabschluss	0	2
Abitur	0	1
Förderschulabschluss	2	1
Kein Abschluss	1	1
Unbekannt	0	2
Nachschulische Bildung	n= 4	n = 12
Studium	0	1
Berufsausbildung	1	6
Berufs(aus)bildende Maßnahmen	0	3
Erwerb eines weiteren Schulabschlusses	0	2
Keine	3	0
Unbekannt	0	0

Tabelle A 6: Häufigkeiten der erfassten Variablen zu Auffälligkeiten im Bereich kognitive Funktionen, Verhalten und Motorik getrennt für NF1-Patienten mit und NF1-Patienten ohne Epilepsie.

	NF1 mit Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
	Häufigkeiten absolut	Häufigkeiten absolut
Konzentrationsschwierigkeiten	3	16
Lese-Rechtschreibschwäche	3	15
Hyperaktivität	1	6
ADHS	0	3
Wahrnehmungsstörung	0	10
Mangelnde Impulskontrolle	2	4
Aggressivität	2	3
Depression	1	2

	NF1 mit Epilepsie (n = 7)	NF1 ohne Epilepsie (n = 44)
	Häufigkeiten absolut	Häufigkeiten absolut
Autismus	2	1
Koordinationsprobleme	0	10
Gleichgewichtsprobleme	1	14
Andere	0	4

Tabelle A 7: Häufigkeiten der erfassten Variablen zum Lebensumfeld getrennt für NF1-Patienten mit und NF1-Patienten ohne Epilepsie.

	NF1 mit Epilepsie	NF1 ohne Epilepsie
	Häufigkeiten absolut / %	Häufigkeiten absolut / %
Wohnsituation	n = 7	n = 28
Elternhaus	4	26
Wohngemeinschaft	1	1
Alleinlebend	1	0
Betreutes Wohnen	1	0
Andere	0	1
Betreuungssituation	n = 5	n = 21
Notwendigkeit einer dauerhaften Betreuung	3	4
Pflegesituation	n = 4	n = 24
Pflegestufe gesamt	2	6
Pflegestufe 0	1	1
Pflegestufe 1	0	4
Pflegestufe 2	0	1
Pflegestufe 3	1	0

Tabelle A 8: Korrelationen zwischen den untersuchten Variablen aus der Kategorie 4 („Verhalten“) des Fragebogens.

Variable	n	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
N		28	26	26	24	25	26	25	27	23	26	26
1. Konzentrationsschwierigkeiten	28		.724*	.185	.311	.586*	.375	.115	.221	.263	.244	.218
2. Lese-Rechtschreib-Schwäche	26	.724*		.131	.255	.496*	.320	-.229	.175	.293	-.069	.135
3. Hyperaktivität	26	.185	.131		.655*	.387	.656*	.596*	.363	.671*	.164	.145
4. ADHS	24	.311	.255	.655*		.463	.737*	.265	.552	.447	.000	.112
5. Wahrnehmungsstörung	25	.586*	.496*	.387	.463		.530*	.013	.292	.397	.350	.121
6. Mangelnde Impulskontrolle	26	.375	.320	.656*	.737*	.530*		.500*	.527*	.671*	.042	.121
7. Aggressivität	25	.115	-.229	.596*	.265	.013	.500*		.590*	.671*	.346	.151
8. Depression	27	.221	.175	.363	.552	.292	.527*	.590*		.690	.272	.261
9. Autismus	23	.263	.293	.671*	.447	.397	.671*	.671*	.690		.090	-.047
10. Koordinationsprobleme	26	.244	-.069	.164	.000	.350	.042	.346	.272	.090		.650*
11. Gleichgewichtsprobleme	26	.218	.135	.145	.112	.121	.121	.151	.261	-.047	.650*	

Anmerkung: Alle Variablen wurden kodiert mit 0 = Merkmal liegt nicht vor und 1 = Merkmal liegt vor. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Phi, da dieser bei zwei nominalverteilten Variablen angewendet werden kann.

* $p < .050$; ** $p < .001$ (zweiseitig).

Exaktes Signifikanzniveau, falls $> 20\%$ der Zellen mit erwarteten Häufigkeiten < 5 (entspricht Ergebnissen des exakten Tests nach Fisher mit Vierfelder-Tafel) (Kuckartz, U., Rädiker, S., Ebert, Th., Schehl, J.).

Tabelle A 9: Darstellung aller vorliegenden genetischen Befunde des TSC1- und TSC2-Gens detektiert durch Gensequenzierung und/oder MLPA-Analyse.

ID	M/W	RefSeq	Gen	Exon	MutCDNA	MutProt	MutTyp	Patho.	Fam./Spo.
1	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 26	c.3094C>T	p.Arg1032*	Nonsense	Pathogen	Unbekannt
2	W	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 34	c.4067delG	p.Gly1356Alafs*27	Deletion	Pathogen	<i>De novo</i>
3	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 39	c.5034C>G	p.Tyr1678*	Nonsense	Pathogen	<i>De novo</i>
4	W	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 40	c.5086dupG	p.Asp1696Glyfs*10	Duplikation	Pathogen	<i>De novo</i>
6	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 33	c.4066G>T	p.Glu1350*	Nonsense	Pathogen	<i>De novo</i>
			<i>TSC2</i>	Intron 39	IVS39+59_62delT- GAG*	-	Deletion	Unklar	Paternal
7	W	AF013168.1	<i>TSC1</i>	Exon 17	c.2110_2111delTA	p.Tyr704*	Deletion	Pathogen	Unbekannt
8	M	Unbekannt	<i>TSC1</i>	Exon 18	c.2313insAT	-	Insertion	Pathogen	Unbekannt
9	W	NM_000368.4 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 12	c.1284delC	p.Tyr429Ilefs*20	Deletion	H.w. pa- thogen	<i>De novo</i>
10	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 16	c.1831C>T	p.Arg611Trp	Missense	Pathogen	Klinisch paternal
11	M	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 34	c.4289G>A	p.Trp1430*	Nonsense	Pathogen	<i>De novo</i>
11	M	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Intron 11	c.1257+108_1257+109- insG*	-	Insertion	Unklar	<i>De novo</i>

ID	M/W	RefSeq	Gen	Exon	MutCDNA	MutProt	MutTyp	Patho.	Fam./Spo.
12	W	Unbekannt	<i>TSC2</i>	Exon 32	?	-	Insertion	Unklar	Unbekannt
13	M	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>); NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 16- 29	-	-	Deletion	Pathogen	Unbekannt
14	M	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 19	c.2126G>A	p.Trp703*	Nonsense	Pathogen	<i>De novo</i>
14	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>)	<i>TSC1</i>	Exon 7	c.753G>A*	p.Val178Ile	Missense	Unklar	<i>De novo</i>
15	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC1</i>	Exon 21	c.2893_2894insA	p.Asp903*	Insertion	Pathogen	Maternal
17	W	NM_000368.3 (<i>TSC1</i>)	<i>TSC1</i>	-	Kein Nachweis einer pathogenen Mutation	-	-	-	-
17	W	NM_000548.3 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	-	Kein Nachweis einer pathogenen Mutation	-	-	-	-
18	M	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 14	c.1372C>T	p.Arg458*	Nonsense	Pathogen	<i>De novo</i>
19	W	Unbekannt	<i>TSC1</i>	-	Kein Nachweis einer pathogenen Mutation	-	-	-	-
19	W	Unbekannt	<i>TSC2</i>	-	Kein Nachweis einer pathogenen Mutation	-	-	-	-
20	M	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 36	c.4736dupG	p.Arg1580Profs*23	Duplikation	Pathogen	Unbekannt
21	W	Unbekannt	<i>TSC2</i>	Intron 16 à Exon 17 ^a	IVS16+2T>C	p.?616*	Transition mit Insertion	Pathogen	<i>De novo</i>

ID	M/W	RefSeq	Gen	Exon	MutCDNA	MutProt	MutTyp	Patho.	Fam./Spo.
24	W	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 34	c.4541_4542delCC	?	Deletion	Pathogen	<i>De novo</i>
25	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>)	<i>TSC1</i>	Exon 15	c.1888_1891delAAAG	?	Deletion	Pathogen	Unbekannt
26	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 33	c.4356_4363delTT- CCAGCT	?	Deletion	Pathogen	<i>De novo</i>
28	M	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 36	c.4751delT	?	Deletion	Pathogen	Maternal
29	W	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 30	c.3629G>A	p.Gly1204Glu	Missense	Pathogen	Maternal
30	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon & Intron 40)	c.5252_5259+19del27	-?	Deletion	Pathogen	Unbekannt
30	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>		c.2580T>C	p.Phe860Phe	Substitution	Unklar	Unbekannt
30	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>		c.2639+44G>C		Transversion	Unklar	Unbekannt
30	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>		c.2979G>A	p.Thr993Thr	Substitution	Unklar	Unbekannt
30	W	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>		c.4005+84C>T		Transition	Unklar	Unbekannt
31	W	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 29	c.3349delG	p.Gln1118Serfs*73	Deletion	Pathogen	<i>De novo</i>
33	M	NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 40	c.5238_5255dup	p.His1746_Arg1751- dup	Duplikation	Pathogen	<i>De novo</i>

ID	M/W	RefSeq	Gen	Exon	MutCDNA	MutProt	MutTyp	Patho.	Fam./Spo.
34	W	Unbekannt	<i>TSC2</i>	Exon 40	c.5256_5273delCAT- CAAGCGGCTCCG- CCA	p.His1746Gln & p.1747_1752delIle- LysArgLeuArgGln	Deletion	Unklar	<i>De novo</i>
35	M	NM_000368 (<i>TSC1</i>); NM_000548 (<i>TSC2</i>)	<i>TSC2</i>	Exon 33	c.4489C>G	p.Pro1497Ala	Missense	Pathogen	Maternal

^a die Transition T → C in Intron 16 führt zu aberrantem Spleißen der Transkripte mit der Insertion von 46 bp des Introns 16 zwischen die Exons 16 und 17. Diese Insertion bewirkt eine Verschiebung des Leserasters und einen vorzeitigen Abbruch der Proteinbiosynthese am Codon 616 im Exon 17.

ID = Identifikationsnummer, M = männlich, W = weiblich, RefSeq = Referenzsequenz, MutCDNA = Mutation auf cDNA-Ebene, MutProt = Mutation auf Proteinebene, Patho. = Pathogenität, H.w. = Höchstwahrscheinlich, Fam. = Familiär, Spo. = Sporadisch, del = Deletion, dup = Duplikation, ins = Insertion, fs = frameshift, * = Stopcodon

Tabelle A 10: Korrelationen zwischen den untersuchten Variablen aus der Kategorie 4 („Verhalten“) des Fragebogens.

Variable	n	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
N		21	15	19	18	19	19	20	15	19	19	19
1. Konzentrationsschwierigkeiten	21		-.101	.250	^	.357	.387	.387	.213	.272	.270	.293
2. Lese-Rechtschreib-Schwäche	15	-.101		.389	^	.389	.289	.289	.354	.537	.458	.300
3. Hyperaktivität	19	.250	.389		.537	.354	.745*	.713*	.417	.452	.337	.822
4. ADHS	18	^	^	.537		^	.333	^	^	.277	^	^
5. Wahrnehmungsstörung	19	.357	.389	.354	^		.633*	.633*	.548	.607*	.887**	.516
6. Mangelnde Impulskontrolle	19	.387	.289	.745*	.333	.633*		1.000**	.555	.683*	.514	.878**
7. Aggressivität	20	.387	.289	.713*	^	.633*	1.000**		.555	.700*	.383	.764*
8. Depression	15	.213	.354	.417	^	.548	.555	.555		.395	.548	.640
9. Autismus	19	.272	.537	.452	.277	.607*	.683*	.700*	.395		.524	.595*
10. Koordinationsprobleme	19	.270	.458	.337	^	.887**	.514	.383	.548	.524		.663*
11. Gleichgewichtsprobleme	19	.293	.300	.822	^	.516	.878**	.764*	.640	.595*	.633*	

Anmerkung. Alle Variablen wurden kodiert mit 0 = Merkmal liegt nicht vor und 1 = Merkmal liegt vor. Die Berechnung erfolgte mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten nach Phi, da dieser bei zwei nominalverteilten Variablen angewendet werden kann.

* $p < .050$; ** $p < .001$ (zweiseitig). ^ keine Berechnung von Statistiken, da die Variable eine Konstante ist.

Exaktes Signifikanzniveau, falls $> 20\%$ der Zellen mit erwarteten Häufigkeiten < 5 (entspricht Ergebnissen des exakten Tests nach Fisher mit Vierfelder-Tafel) (Kuckartz, U., Rädiker, S., Ebert, Th., Schehl, J.).

10.2 Anhang B: Abbildungen

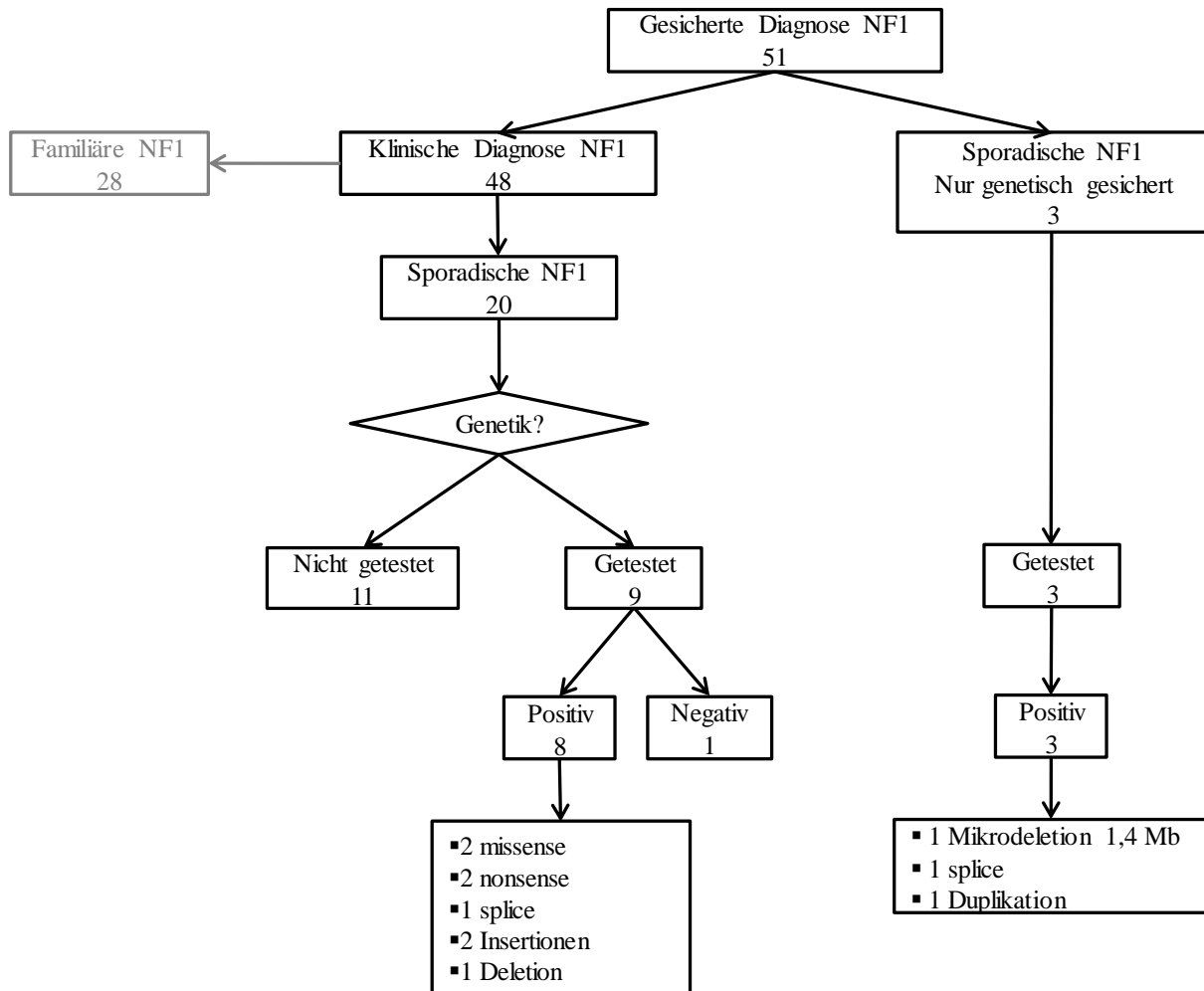


Abbildung B 1: Flussdiagramm der vorhandenen genetischen Befunde sporadischer NF1 mit positiven sowie negativen Befunden und den Mutationstypen.

Mb = Megabasen. Negativ getestet bedeutet, dass sowohl eine Sequenzierung als auch MLPA-Diagnostik durchgeführt wurde. Unter „nicht getestet“ werden in dieser Graphik zusammengefasst: nicht getestete Personen, Personen, bei denen anamnestisch Unklarheit über die Durchführung von Mutationsanalysen bestand, sowie Personen, bei denen anamnestisch eine genetische Untersuchung stattfand, der Befund allerdings nicht vorliegt.

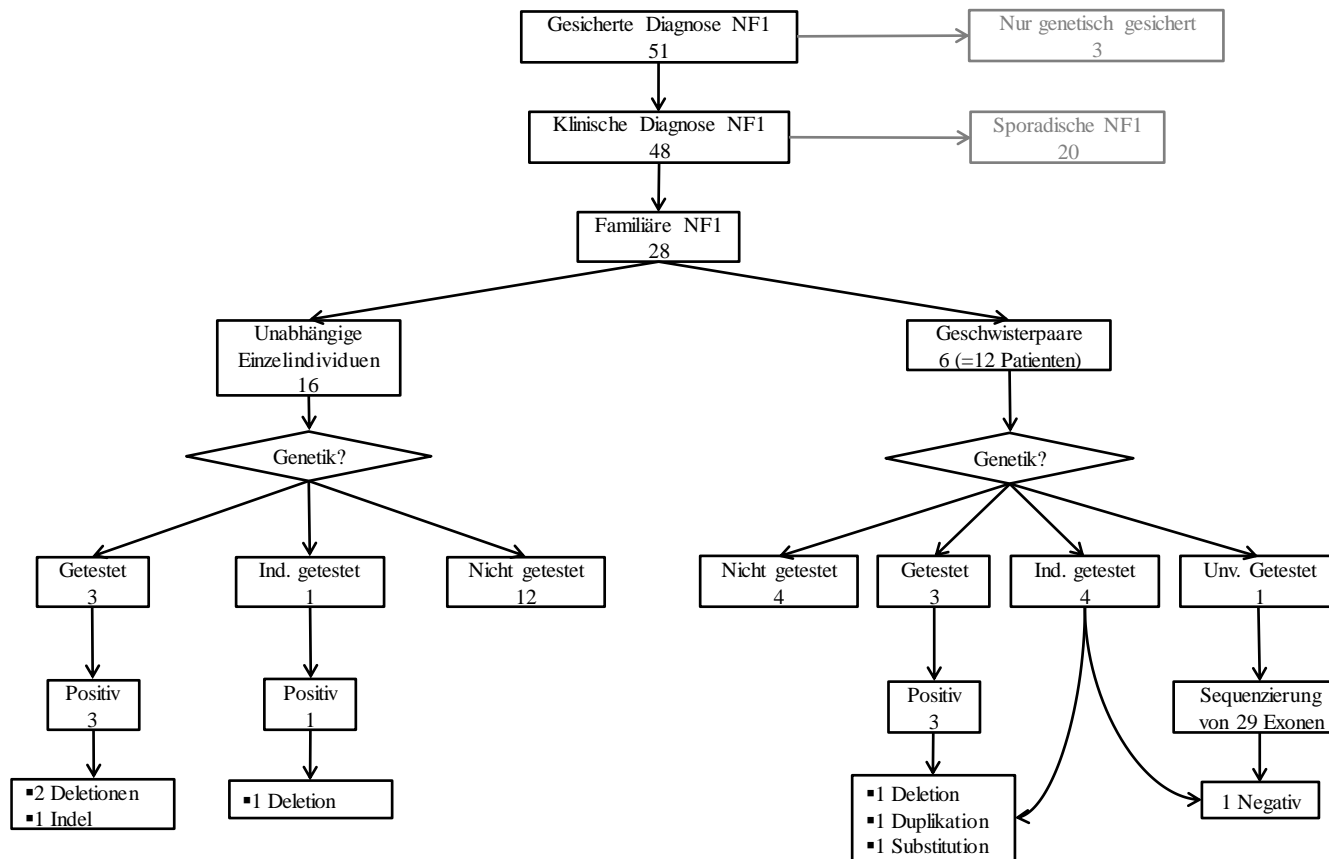


Abbildung B 2: Flussdiagramm der vorhandenen genetischen Befunde familiärer NF1 mit positiven sowie negativen Befunden und den Mutationstypen. Hierbei wird nochmals unterschieden zwischen unabhängigen Einzelindividuen der Stichprobe und Geschwisterpaaren innerhalb der Studie.

Ind. = indirekt, Unv. = unvollständig.

Die Anzahl der (indirekt und/oder unvollständig) getesteten Personen entspricht der Anzahl vorliegender genetischer Befunde. Unter „nicht getestet“ werden in dieser Graphik zusammengefasst: nicht getestete Personen, Personen, bei denen anamnestisch Unklarheit über die Durchführung von Mutationsanalysen bestand, sowie Personen, bei denen anamnestisch eine genetische Untersuchung stattfand, der Befund allerdings nicht vorliegt. Auf der linken Seite entspricht „indirekt getestet“ in einem Fall dem maternalen Befund, auf der rechten Seite Ergebnissen von Geschwistern.

10.3 Anhang C: Fragebögen

Fragebogen für PatientInnen mit Neurofibromatose Typ 1

Untersuchung von Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen mit Neurofibromatose in Hinblick auf Epilepsie, Entwicklung und Genetik

Der Fragebogen besteht aus sieben Kategorien:

1. Persönliche Daten
2. Epilepsie
3. Entwicklung
4. Verhalten
5. Lebensumfeld
6. Familie
7. Genetik/Vererbung

Bitte achten Sie auf die folgenden Erläuterungen zum Ausfüllen des Bogens:

- Bei Ja/Nein Antworten bitte das Zutreffende ankreuzen. In der darauffolgenden Zeile finden sich oft Antwortmöglichkeiten, die sich auf das „Ja“ bzw. „Nein“ beziehen. Diese sind durch Ankreuzen oder als freier Text zu beantworten.
- Mehrfachnennungen sind möglich.
- Bei Auswahl der Antwortmöglichkeit „Andere“ finden Sie zusätzlich Platz zur näheren Ausführung in Form von Freitextantworten.
- Achten Sie darauf, dass sich die Fragen auf den Patienten selbst beziehen.

Bitte wenden!

1. Persönliche Daten des Patienten

- 1.1. Name, Vorname: _____
- 1.2. Geburtsdatum: _____
- 1.3. Alter in Jahren: _____
- 1.4. Geschlecht: weiblich männlich
- 1.5. In welchem Alter wurde die Diagnose einer Neurofibromatose gestellt? (Bitte in Jahren angeben.) _____
- 1.6. Findet eine ärztliche Weiterbehandlung statt? Ja Nein

Wenn Sie „ja“ angekreuzt haben und damit einverstanden sind, dass wir Ihren Arzt/Ihre Ärztin kontaktieren, geben Sie bitte die Zeitspanne der Weiterbehandlung und Namen sowie Adresse des Arztes/ der Ärztin an und unterschreiben Sie die Einverständniserklärung am Ende dieses Bogens.

Kinderarzt: _____

Hausarzt: _____

Facharzt: _____

Krankenhaus: _____

- 1.7. Sind Sie damit einverstanden, dass wir Sie telefonisch kontaktieren?
Ja Nein

Wenn Sie „ja“ angekreuzt haben, geben Sie bitte eine aktuelle Telefonnummer an.

2. Epilepsie

- 2.1. Sind epileptische Anfälle aufgetreten? Ja Nein

Falls „nein“ zutreffend, weiter bei 3. *Entwicklung*

- 2.2. Welche Epilepsie-Diagnose wurde gestellt?

2.3. In welchem Alter ereignete sich der erste Anfall? (Bitte in Jahren angeben.)

2.4. Treten/Traten generalisierte und/ oder fokale Anfälle auf?

generalisiert fokal weiß nicht

2.5. Treten/Traten Fieberkrämpfe auf? Ja Nein

2.6. Ist schon einmal ein Grand mal-Anfall aufgetreten? Ja Nein

2.7. Treten/Traten Absencen auf? Ja Nein

2.8. Wie viele Anfälle treten aktuell pro Monat auf?

Keine 1-10 11-30 über 30

Wenn „Keine“ als Antwort angekreuzt wurde, seit wie vielen Monaten/Jahren

treten keine Anfälle mehr auf? _____

2.9. Gab es Zeiträume von >6 Monaten, in denen keine Anfälle aufgetreten sind?

Ja Nein

Wenn „ja“ bitte Zeitraum nennen. _____

2.10. Werden aktuell antiepileptische Medikamente eingenommen? Ja Nein

Wenn „ja“, welche? _____

Wenn „nein“, seit wann werden keine antiepileptischen Medikamente mehr

eingenommen? _____

2.10.1. Welche antiepileptischen Medikamente kamen in der Vergangenheit bereits zum

Einsatz? _____

Bitte wenden!

3. Entwicklung

3.1. Welche Schule wird/ wurde besucht?

Hauptschule Realschule Gymnasium
Förderschule keine, da noch zu jung

Anderer und zwar: _____

Falls „Förderschule“ zutreffend, welcher Förderschwerpunkt liegt hierbei vor?

Lernen Sprache emotionale & soziale Entwicklung
Hören Sehen Autismus
Geistige Entwicklung körperliche und motorische Entwicklung

3.2. Sind/ Waren während der Schulzeit besondere Fördermaßnahmen notwendig?

Ja Nein

Wenn „ja“, welche? Integrationsplatz Schulbegleitung

Anderer und zwar: _____

3.3. Welcher Schulabschluss wurde erreicht?

Hauptschulabschluss Realschulabschluss Abitur
Förderschulabschluss keinen noch in der Schule

Anderer Schulabschluss _____

3.4. Wird/Wurde eine nachschulische Bildung durchgeführt? Ja Nein

Wenn „ja“, welche: Berufsausbildung Studium

Anderer: _____

3.5. Wurde bereits eine nachschulische Bildung abgeschlossen? Ja Nein

Wenn „ja“, welche: _____

4. Verhalten

4.1. Sind folgende Auffälligkeiten aufgetreten?

Konzentrationsschwierigkeiten	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Lese-Rechtschreibschwäche (LRS)	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Hyperaktivität	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
ADHS	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Wahrnehmungsstörung	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Mangelnde Impulskontrolle	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Aggressivität	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Depression	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Autismus	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Koordinationsprobleme	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Gleichgewichtsprobleme	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>
Andere	Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/>

und zwar: _____

4.2. Hat eine psychologische Untersuchung stattgefunden? Ja Nein

Wenn „ja“ bitten wir um Ihr Einverständnis zur Anforderung des psychologischen Berichtes. Wenn Sie damit einverstanden sind, unterschreiben Sie bitte die Einverständniserklärung am Ende dieses Bogens.

5. Lebensumfeld

5.1. Welche Wohnsituation besteht aktuell?

Elternhaus Wohngemeinschaft Alleinlebend
Pflegeheim Betreutes Wohnen
Andere _____

5.2. Ist eine dauerhafte Betreuung notwendig? Ja Nein

5.3. Ist die Einstufung in eine Pflegestufe erfolgt? Ja Nein

Wenn „ja“, welche? 1 2 3

Bitte wenden!

6. Familie

6.1. Gibt es Verwandte 1. Grades (Eltern, Geschwister, Kinder) des Patienten, die an

Neurofibromatose Typ 1 erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.2. Gibt es Verwandte 2. Grades (Großeltern, Tanten, Onkel) des Patienten, die an

Neurofibromatose Typ 1 erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.3. Gibt es Verwandte 1. Grades (Eltern, Geschwister, Kinder) des Patienten, die an

Epilepsie erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.4. Gibt es Verwandte 2. Grades (Großeltern, Tanten, Onkel) des Patienten, die an

Epilepsie erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

7. Genetik/Vererbung

7.1. Wurde beim Patienten eine genetische Untersuchung durchgeführt?

Ja Nein weiß nicht

Wenn „ja“ bitten wir um Ihr Einverständnis zur Anforderung des genetischen Befundes. Wenn Sie damit einverstanden sind, unterschreiben Sie bitte die Einverständniserklärung am Ende dieses Bogens.

7.2. Wurden weitere Familienmitglieder genetisch untersucht?

Ja Nein weiß nicht

Wenn „ja“, wer wurde untersucht? _____

Vielen Dank für Ihre Mühe!

Fragebogen für PatientInnen mit Tuberöser Sklerose

Untersuchung von Kindern, Jugendlichen und Erwachsenen mit Tuberöser Sklerose in Hinblick auf Epilepsie, Entwicklung und Genetik

Der Fragebogen besteht aus sieben Kategorien:

1. Persönliche Daten
2. Epilepsie
3. Entwicklung
4. Verhalten
5. Lebensumfeld
6. Familie
7. Genetik/Vererbung

Bitte achten Sie auf die folgenden Erläuterungen zum Ausfüllen des Bogens:

- Bei Ja/Nein Antworten bitte das Zutreffende ankreuzen. In der darauffolgenden Zeile finden sich oft Antwortmöglichkeiten, die sich auf das „Ja“ bzw. „Nein“ beziehen. Diese sind durch Ankreuzen oder als freier Text zu beantworten.
- Mehrfachnennungen sind möglich.
- Bei Auswahl der Antwortmöglichkeit „Andere“ finden Sie zusätzlich Platz zur näheren Ausführung in Form von Freitextantworten.
- Achten Sie darauf, dass sich die Fragen auf den Patienten selbst beziehen.

Bitte wenden!

1. Persönliche Daten des Patienten

- 1.1. Name, Vorname: _____
- 1.2. Geburtsdatum: _____
- 1.3. Alter in Jahren: _____
- 1.4. Geschlecht: weiblich männlich
- 1.5. In welchem Alter wurde die Diagnose einer Tuberösen Sklerose gestellt? (Bitte in Jahren angeben.) _____
- 1.6. Findet eine ärztliche Weiterbehandlung statt? Ja Nein

Wenn Sie „ja“ angekreuzt haben und damit einverstanden sind, dass wir Ihren Arzt/Ihre Ärztin kontaktieren, geben Sie bitte die Zeitspanne der Weiterbehandlung und Namen sowie Adresse des Arztes/ der Ärztin an und unterschreiben Sie die Einverständniserklärung am Ende dieses Bogens.

Kinderarzt: _____

Hausarzt: _____

Facharzt: _____

Krankenhaus: _____

- 1.7. Sind Sie damit einverstanden, dass wir Sie telefonisch kontaktieren?
Ja Nein

Wenn Sie „ja“ angekreuzt haben, geben Sie bitte eine aktuelle Telefonnummer an.

2. Epilepsie

- 2.1. Sind epileptische Anfälle aufgetreten? Ja Nein

Falls „nein“ zutreffend, weiter bei 3. *Entwicklung*

- 2.2. Welche Epilepsie-Diagnose wurde gestellt?

3. Entwicklung

3.1. Welche Schule wird/ wurde besucht?

Hauptschule Realschule Gymnasium
Förderschule keine, da noch zu jung

Anderer und zwar: _____

Falls „Förderschule“ zutreffend, welcher Förderschwerpunkt liegt hierbei vor?

Lernen Sprache emotionale & soziale Entwicklung
Hören Sehen Autismus
Geistige Entwicklung körperliche und motorische Entwicklung

3.2. Sind/ Waren während der Schulzeit besondere Fördermaßnahmen notwendig?

Ja Nein

Wenn „ja“, welche? Integrationsplatz Schulbegleitung

Anderer und zwar: _____

3.3. Welcher Schulabschluss wurde erreicht?

Hauptschulabschluss Realschulabschluss Abitur
Förderschulabschluss keinen noch in der Schule

Anderer Schulabschluss _____

3.4. Wird/Wurde eine nachschulische Bildung durchgeführt? Ja Nein

Wenn „ja“, welche: Berufsausbildung Studium

Anderer: _____

3.5. Wurde bereits eine nachschulische Bildung abgeschlossen? Ja Nein

Wenn „ja“, welche: _____

6. Familie

6.1. Gibt es Verwandte 1. Grades (Eltern, Geschwister, Kinder) des Patienten, die an

Tuberöser Sklerose erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.2. Gibt es Verwandte 2. Grades (Großeltern, Tanten, Onkel) des Patienten, die an

Tuberöser Sklerose erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.3. Gibt es Verwandte 1. Grades (Eltern, Geschwister, Kinder) des Patienten, die an

Epilepsie erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

6.4. Gibt es Verwandte 2. Grades (Großeltern, Tanten, Onkel) des Patienten, die an

Epilepsie erkrankt sind? Ja Nein

Wenn „ja“, wer? _____

7. Genetik/Vererbung

7.1. Wurde beim Patienten eine genetische Untersuchung durchgeführt?

Ja Nein weiß nicht

Wenn „ja“ bitten wir um Ihr Einverständnis zur Anforderung des genetischen Befundes. Wenn Sie damit einverstanden sind, unterschreiben Sie bitte die Einverständniserklärung am Ende dieses Bogens.

7.2. Wurden weitere Familienmitglieder genetisch untersucht?

Ja Nein weiß nicht

Wenn „ja“, wer wurde untersucht? _____

Vielen Dank für Ihre Mühe!

11 Danksagung

Danken möchte ich allen teilnehmenden Patienten und Patientinnen sowie den Eltern und Familien. Ohne ihre Unterstützung wäre wissenschaftliche Arbeit wie diese nicht möglich. Ich danke zahlreichen Familien für persönliche Gespräche und ein persönliches Kennenlernen, sie haben mir viel auf meinen Weg für die klinische Arbeit mitgegeben.

Ich danke Frau Privatdozentin Dr. Hiltrud Muhle, die mir diese Doktorarbeit ermöglicht hat. Ihre Begeisterung und hervorragende Betreuung haben mein wissenschaftliches Interesse über diese Arbeit hinaus geweckt, sodass ich der Forschung weiterhin sehr verbunden bin und diese inzwischen Teil meines beruflichen Werdeganges geworden ist. Vielen Dank für die Unterstützung über viele Jahre.

Herrn Professor Dr. Ulrich Stephani danke ich für die Gelegenheit, dass ich meine Doktorarbeit in seiner Abteilung schreiben durfte. Sie haben mich währenddessen stets auf vielfältige Weise unterstützt.

Ich danke Frau Manuela Pendziwiat, die mir die Basiskenntnisse der Exomsequenzierung und -auswertung lehrte. Vielen Dank für die umfassende Unterstützung bei der Auswertung der Exomdaten und die ständig vorhandene Hilfsbereitschaft beim Lösen unterschiedlichster Fragestellungen.

Weiterhin danke ich Frau Professorin Dr. Yvonne Weber und Herrn Niklas Schwarz vom Hertie-Institut für klinische Hirnforschung in Tübingen für die Durchführung der funktionellen Studien zu *KCNC2* und die gute Zusammenarbeit.

Herrn Dr. Christoph Borzikowsky vom Institut für Medizinische Informatik und Statistik in Kiel danke ich für die Unterstützung durch seine kompetente statistische Beratung.

Zuletzt möchte ich ganz besonders meinen Eltern und meinen Geschwistern danken, die mich auf meinem bisherigen Weg stets unterstützt und einen wichtigen Teil für das Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Vielen Dank, dass ich mich immer auf euch verlassen kann.

12 Lebenslauf und Publikationen

Persönliche Daten

Annika Verena Rademacher

Geburtsdatum/-ort: 13.01.1991 in Geislingen an der Steige

Nationalität: Deutsch

Ausbildung

12/2016	Approbation als Ärztin
10/2010-12/2016	Studium der Humanmedizin, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
06/2010	Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife

Klinischer Werdegang

Seit 02/2017	Ärztin in Weiterbildung, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin II, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel Komm. Direktor: PD Dr. Andreas van Baalen
--------------	--

Promotion

05/2014 – 03/2019	Dissertationsthema: „Epilepsieverläufe bei neurokutanen Syndromen unter Berücksichtigung von Phänotyp- und Genotyp-Korrelation“, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin II, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Betreuerin: PD Dr. Hiltrud Muhle
06/2020	Mündliche Promotionsprüfung

Forschungsprofil

Epilepsien bei neurokutanen Syndromen

Genetik der Epilepsien im Kindes- und Jugendalter

Wissenschaftlicher Werdegang

- Seit 02/2018 Rekrutierung und Phänotypisierung einer Patientenkohorte zur Untersuchung eines neuen Kandidatengens für Epilepsien unter der Leitung von PD Dr. Hiltrud Muhle
Begleitende funktionelle Studien durch Niklas Schwarz, Hertie-Institut für klinische Hirnforschung, Universität Tübingen, unter der Leitung von Prof. Dr. Yvonne Weber
- Seit 02/2017 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Arbeitsgruppe „Pädiatrische Epilepsiegenetik“ unter der Leitung von PD Dr. Hiltrud Muhle
- 02/2017 – 08/2019 Wissenschaftliche Mitarbeiterin des Projektes „EPItect – pflegerische Unterstützung epilepsieerkrankter Menschen durch sensorische Anfallsdetektion“ am Standort Kiel,
Verbundkoordinator: Klinik für Epileptologie, Universitätsklinikum Bonn, Sprecher: PD Dr. Rainer Surges

Publikationen

- Rademacher, A., Schwarz, N., Seiffert, S., Pendziwiat, M., Rohr, A., van Baalen, A., Helbig, I., Weber, Y., & Muhle, H. (2020). Whole-Exome Sequencing in NF1-Related West Syndrome Leads to the Identification of *KCNC2* as a Novel Candidate Gene for Epilepsy. *Neuropediatrics*, 10.1055/s-0040-1710524. Advance online publication. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1710524>
- Schewe, D. M., Lenk, L., Vogiatzi, F., Winterberg, D., Rademacher, A. V., Buchmann, S., Henry, D., Bergmann, A. K., Cario, G., & Cox, M. C. (2019). Larotrectinib in TRK fusion-positive pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood advances*, 3(22), 3499–3502. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2019000700>
- Epi25 Collaborative. Electronic address: s.berkovic@unimelb.edu.au, & Epi25 Collaborative (2019). Ultra-Rare Genetic Variation in the Epilepsies: A Whole-Exome Sequencing Study of 17,606 Individuals. *American journal of human genetics*, 105(2), 267–282. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.05.020>

Helbig, I., Lopez-Hernandez, T., Shor, O., Galer, P., Ganesan, S., Pendziwiat, M., Rademacher, A., Ellis, C. A., Hümpfer, N., Schwarz, N., Seiffert, S., Peeden, J., Shen, J., Štěrbová, K., Hammer, T. B., Møller, R. S., Shinde, D. N., Tang, S., Smith, L., Poduri, A., ... GRIN Consortium (2019). A Recurrent Missense Variant in *AP2MI* Impairs Clathrin-Mediated Endocytosis and Causes Developmental and Epileptic Encephalopathy. *American journal of human genetics*, 104(6), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.04.001>

Rademacher A, Schwarz N, Pendziwiat M, et al. Epilepsy in neurofibromatosis type 1: Seizure modulation by a potassium channel defect. Epileptic Channelopathies: 3rd Dianalund International Conference on Epilepsy. 2018 June 28-29, Sørup Herregård, Ringsted, Denmark. Abstract.

Rademacher A, Pendziwiat M, van Baalen A, et al. The spectrum of epilepsy phenotypes and genetic modifiers in neurofibromatosis type 1. American Epilepsy Society (AES) Annual Meeting 2017. 2017 Dec 01-05, Washington D.C. District of Columbia. Abstract Database. AES-net.org.

Rademacher A, Wiegand G, van Baalen A, et al. Epilepsieverlauf bei Neurofibromatose Typ 1. 53. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Epileptologie. 2016 Mar 02-05, Jena, Germany. Online Abstract supplement. *Z. Epileptol.* (2016) 29(Suppl 1):1. <https://doi.org/10.1007/s10309-016-0043-8>