

**Diplomarbeit**

**Genetik und Pathomechanismus von autosomal  
rezessiv vererbten Formen der primären  
Mikrozephalie (MCPH)**

**Mutationen spezifischer Gene für MCPH und deren physiologische  
Bedeutung bei der Gehirnentwicklung, Genotyp-Phänotyp  
Korrelation**

eingereicht von

**Bernhard Lang**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde  
(Dr.med.univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt am

**Institut für Humangenetik**

unter der Anleitung von

**Assoz. Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr.rer.nat. Christian Windpassinger**

und

**ao.Univ.-Prof. Mag. Dr.rer.nat. Dr.scient.med. Erwin Petek**

Linz, am 11.04.2017

### *Eidesstattliche Erklärung*

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Linz, am 11.04.2017*

*Bernhard Lang eh.*

# Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei meinem Betreuer, **Assoz. Prof. Priv.-Doz. Mag. Dr.rer.nat. Christian Windpassinger** für die Mühe, Arbeit und Zeit, die seinerseits in die Arbeit investiert wurden, bedanken. Danke für die Expertise und die unkomplizierte, gute Betreuung!

Besonders möchte ich meinen lieben Eltern, **Martin Lang** und **Martina Lang** danken. Danke für eure liebevolle Begleitung, stetige Unterstützung und Ermutigung während meines gesamten Lebensweges sowie für die Ermöglichung meines Medizinstudiums. Ich bin froh, euch als Eltern zu haben!

Weiters möchte ich mich bei meinem Bruder, **Dipl.-Ing. Christian Lang, BSc.** bedanken. Mit deiner ruhigen Art, deinem Fleiß und Engagement bist du ein großes Vorbild für mich.

Außerdem möchte ich meinem Onkel und Firmpaten **Dr. Wolfgang Lang** danken. Durch deine Ruhe, deine Empathie und dein großes Fachwissen bist du ebenfalls ein Vorbild für mich.

Besonderer Dank gilt auch meiner Partnerin **Mag.rer.nat. Anita Johanna Bertalan**. Danke für deine treue, liebevolle Begleitung, deine stetige Unterstützung und deine motivierenden Worte!

Nicht zuletzt gilt meinen guten Freunden größter Dank. Eure Freundschaft machte das Medizinstudium und das Studentenleben wesentlich leichter und amüsanter.

## Inhaltsverzeichnis

I.	Abkürzungen.....	VIII
II.	Datenbanken.....	XI
III.	Nomenklatur.....	XI
IV.	Abbildungsverzeichnis .....	XIII
V.	Tabellenverzeichnis .....	XIII
VI.	Zusammenfassung.....	XIV
VII.	Abstract.....	XV
1	Einleitung.....	1
2	Klinik von autosomal rezessiv vererbten Formen der primären Mikrozephalie.....	2
2.1	Definition und Ätiologie der Mikrozephalie.....	2
2.2	Klinisches Erscheinungsbild von MCPH.....	3
2.3	Diagnostik.....	4
2.4	PatientInnenmanagement und -begleitung.....	6
3	MCPH im Vergleich zu syndromalen Erkrankungen mit Mikrozephalie .....	7
3.1	Seckel-Syndrom .....	9
3.2	Meier-Gorlin-Syndrom .....	10
3.3	Mikrozephaler osteodysplastischer primordialer Kleinwuchs Typ 2....	11
3.4	Konklusion des Vergleichs .....	12
4	Grundlagen der Entwicklung des zentralen Nervensystems.....	13
4.1	Neurulation .....	13
4.2	Neurogenese.....	13
4.3	Störungen der Neurogenese bei Mikrozephalie .....	14
5	Strategien zur Auffindung von krankheitsverursachenden Genen.....	15
5.1	Traditionelle Methoden zur Detektion von Krankheitsgenen .....	15
5.2	Next-Generation Sequencing Technologie.....	16

5.2.1	Prinzipien und Abläufe des NGS .....	17
5.3	Strategien zur Auffindung von krankheitsversursachenden Genen mittels exome sequencing .....	18
5.3.1	Homozygotie-Strategie .....	19
6	Genloci der MCPH und zugehörige Proteine aus physiologischer und pathophysiologischer Sicht .....	20
6.1	MCPH1 - <i>Microcephalin</i> .....	21
6.1.1	Genstruktur .....	21
6.1.2	Proteinstruktur und -funktion .....	22
6.1.3	Pathogene Allel-Varianten .....	22
6.2	MCPH2 - <i>WDR62</i> .....	23
6.2.1	Genstruktur .....	23
6.2.2	Proteinstruktur und -funktion .....	23
6.2.3	Pathogene Allel-Varianten .....	24
6.3	MCPH3 - <i>CDK5RAP2</i> .....	25
6.3.1	Genstruktur .....	25
6.3.2	Proteinstruktur und -funktion .....	25
6.3.3	Pathogene Allel-Varianten .....	26
6.4	MCPH4 - <i>KNL1</i> .....	26
6.4.1	Genstruktur .....	26
6.4.2	Proteinstruktur und -funktion .....	26
6.4.3	Pathogene Allel-Varianten .....	27
6.5	MCPH5 - <i>ASPM</i> .....	27
6.5.1	Genstruktur .....	27
6.5.2	Proteinstruktur und -funktion .....	27
6.5.3	Pathogene Allel-Varianten .....	28
6.6	MCPH6 - <i>CENPJ</i> .....	28
6.6.1	Genstruktur .....	28

6.6.2	Proteinstruktur und -funktion .....	28
6.6.3	Pathogene Allel-Varianten.....	29
6.7	MCPH7 - <i>STIL</i> .....	29
6.7.1	Genstruktur.....	29
6.7.2	Proteinstruktur und -funktion .....	29
6.7.3	Pathogene Allel-Varianten.....	30
6.8	MCPH8 - <i>CEP135</i> .....	30
6.8.1	Genstruktur.....	30
6.8.2	Proteinstruktur und -funktion .....	30
6.8.3	Pathogene Allel-Varianten.....	30
6.9	MCPH9 - <i>CEP152</i> .....	30
6.9.1	Genstruktur.....	30
6.9.2	Proteinstruktur und -funktion .....	31
6.9.3	Pathogene Allel-Varianten.....	31
6.10	MCPH10 - <i>ZNF335</i> .....	31
6.10.1	Genstruktur.....	31
6.10.2	Proteinstruktur und -funktion .....	31
6.10.3	Pathogene Allel-Varianten.....	32
6.11	MCPH11 - <i>PHC1</i> .....	32
6.11.1	Genstruktur.....	32
6.11.2	Proteinfunktion .....	32
6.11.3	Pathogene Allel-Varianten.....	32
6.12	MCPH12 - <i>CDK6</i> .....	33
6.12.1	Genstruktur.....	33
6.12.2	Proteinstruktur und -funktion .....	33
6.12.3	Pathogene Allel-Varianten.....	33
6.13	MCPH13 - <i>CENPE</i> .....	33

6.13.1	Genstruktur.....	33
6.13.2	Proteinstruktur und -funktion .....	33
6.13.3	Pathogene Allel-Varianten.....	34
6.14	MCPH14 - SASS6 .....	34
6.14.1	Genstruktur.....	34
6.14.2	Proteinstruktur und -funktion .....	34
6.14.3	Pathogene Allel-Varianten.....	34
6.15	MCPH15 - MFSD2A .....	35
6.15.1	Genstruktur.....	35
6.15.2	Proteinstruktur und -funktion .....	35
6.15.3	Pathogene Allel-Varianten.....	35
6.16	MCPH16 - ANKLE2 .....	35
6.16.1	Genstruktur.....	35
6.16.2	Proteinstruktur und -funktion .....	35
6.16.3	Pathogene Allel-Varianten.....	36
6.17	MCPH17 - CIT .....	36
6.17.1	Genstruktur.....	36
6.17.2	Proteinstruktur und -funktion .....	36
6.17.3	Pathogene Allel-Varianten.....	37
7	Genotyp-Phänotyp Korrelation .....	37
7.1	Beeinträchtigung der Zentrosomen .....	37
7.2	Beeinträchtigung der Spindel-Orientierung und Zytokinese .....	40
7.3	Beeinträchtigung der Kinetochoren .....	42
7.4	Beeinträchtigung der Transkriptions-Regulierung .....	43
7.5	Beeinträchtigung der DNA-Schadensantwort und der Zellzyklus-Kontrolle .....	44
7.6	Beeinträchtigung der Zellzyklus-Kontrolle .....	45

7.7	Beeinträchtigung der Wiederaufbaus der Kernhülle .....	46
7.8	Beeinträchtigung des Stofftransportes über die Blut-Hirn-Schranke...	46
8	Diskussion und Ausblick .....	47
9	Quellenverzeichnis .....	51

## I. Abkürzungen

AD	autosomal dominanter Erbgang
al.	aliae (Femininum) beziehungsweise alii (Maskulinum) = andere
ANKLE2	Ankyrin Repeat- and Lem Domain-Containing Protein 2
AR	autosomal rezessiver Erbgang
ASPM	abnormal spindle microtubule assembly
ATM	ataxia telangiectasia mutated serine/threonine kinase
ATP	Adenosintriphosphat
ATR	ataxia telangiectasia and Rad3 related serine/threonine kinase
BANF1	barrier to autointegration factor 1
bds.	beidseits
BMI1	B lymphoma Mo-MLV insertion region 1 homolog (mouse)
BRIT1	breast cancer susceptibility gene C terminus-repeat inhibitor of human telomerase repeat transcriptase expression 1
bp	Basenpaare
BUB1B	BUB1 mitotic checkpoint serine/threonine kinase B
C-terminal	Carboxy-terminal
CASC5	cancer susceptibility candidate 5
CBX2	chromobox 2
CDK5RAP2	CDK5 regulatory subunit associated protein 2
CDK	cyclin-dependent kinase
CENPE	centromere protein E
CENPJ	centromere protein J
CEP63	centrosomal protein 63kD
CEP135	centrosomal protein 135kD
CEP152	centrosomal protein 152kD
CEP215	centrosomal protein 215kD
CHEK1	checkpoint kinase 1
CIT	citron rho-interacting serine/threonine kinase
CMA	chromosomale Mikroarray-Analyse
CPAP	centrosomal p4.1 -associated protein
CRIK	citron rho-interacting kinase
dbSNP	Database of Short Genetic Variation
DDX11	DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His) Box Helicase 11
DHA	Docosahexaenoic acid = Docosahexaensäure
Dlg1	Drosophila disc large tumor suppressor
DNA	deoxyribonucleic acid = Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
ddNTPs	Didesoxyribonukleosidtriphosphate
E2F1	E2F transcription factor 1

EFTUD2	elongation factor Tu GTP-binding domain-containing 2
ERCC	Excision Repair Cross-Complementation Group
FANC	Fanconi Anemia, complementation group
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
IGF1R	Insulin-like growth factor receptor
IQ-Motiv	Isoleucin-Glutamin-Motiv
IUGR	intrauterine growth retardation = intrauterine Wachstumsretardierung
kb	Kilobasen
kD	Kilodalton
KNL1	kinetochore scaffold 1
LAP2	lamina-associated polypeptide 2
LEM	LAP2, Emerin, MAN1
LIG4	Ligase IV, DNA, ATP-dependent
LPC	Lysophosphatidylcholine
MAN1	MHC class 1 antigen
MCPH	microcephaly primary hereditary
MFSD2A	major facilitator superfamily domain containing 2A
MGORS	Meier-Gorlin-Syndrom
MIR17HG	micro RNA 17 host gene
MOPD2	microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type 2
MYCN	V-Myc Avian Myelocytomatosis viral oncogene neuroblastoma derived homolog
N-terminal	Amino-terminal
NDE1	nudE neurodevelopment protein 1
NBN	Nibrin
NGS	Next-Generation Sequencing
NHEJ1	nonhomologous end-joining factor 1
NRSF	Neuron-Restrictive Silencer Factor
OFC	occipito-frontal circumference
PCGF2	polycomb group ring finger 2
PDZ	PSD95, Dlg1, zo-1
PGBP1	Polyglutamine Binding Protein 1
PHC1	polyhomeotic homolog 1
PISA	present in sas6
PLK4	polo like kinase 4
PP2A	Protein Phosphatase 2A
PSD95	post-synaptic density protein
RB	Retinoblastom-Protein
REST	RE1-Silencing Transcription factor
Rho	Ras homologue
RNA	ribonucleic acid

RNU4ATAC	RNA, U4atac small nuclear (U12-dependent splicing)
S.	Seite
SAS6	spindle assembly 6 homolog (C. elegans)
SASS6	SAS-6 centriolar assembly protein
SCKL	Seckel-Syndrom
SCL	stem-cell leukemia
SD	standard deviations
SNP	single nucleotide polymorphism
STIL	SCL/TAL1 interrupting locus
STORCH	Syphilis; Toxoplasmose; Other; Röteln; Cytomegalievirus, Chlamydien, Coxsackie-Virus; Herpes-Simplex-Viren, Hepatitis-B-Virus, Hepatitis-C-Virus, HIV
St.p.	status post
SWI/SNF	SWItch/Sucrose Non-Fermentable
SZ	subventrikuläre Zone
TAL1	T-cell acute lymphocytic leukemia protein 1
VRK1	vaccinia related kinase 1
VZ	ventrikuläre Zone
WD	Tryptophan - Asparaginsäure
WDR62	WD repeat domain 62
WES	whole exome sequencing
WGS	whole genome sequencing
Wnt	Wingless, Int-1
XC	X-chromosomaler Erbgang
XR	X-chromosomal-rezessiver Erbgang
ZNF335	zinc finger protein 335
ZNS	zentrales Nervensystem
zo-1	zonula occludens-1 Protein

## II. Datenbanken

1. PubMed (1)
2. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM® (2)
3. The Human Gene Mutation Database (HGMD®) (3)
4. Ensembl release 86 - Oct 2016 © (4)

## III. Nomenklatur

Nomenklatur zur Beschreibung von Sequenz-Varianten (5)

1. Referenzsequenzen

<b>Ebene</b>	<b>Präfix</b>	<b>Position wird nummeriert nach</b>
genomische DNA	g.	erstem Nukleotid der genomischen Referenzsequenz
kodierende DNA	c.	erstem Nukleotid des Translations-Startkodons der kodierenden DNA-Referenzsequenz
nicht-kodierende DNA	n.	erstem Nukleotid der nicht-kodierenden DNA-Referenzsequenz
mitochondriale DNA	m.	erstem Nukleotid der mitochondrialen DNA-Referenzsequenz
RNA	r.	erstem Nukleotid des Translations-Startkodons der kodierenden RNA-Referenzsequenz oder erstes Nukleotid der nicht-kodierenden RNA-Referenzsequenz
Protein	p.	erster Aminosäure der Proteinsequenz

2. Beschreibung auf DNA-Ebene

<b>Varianten-Art</b>	<b>g.Beschreibung</b>	<b>c.Beschreibung</b>	<b>Anmerkungen</b>
Substitution	g.32662262G>A	c.1318G>A	
Deletion	g.32466684_32466698del	c.3661_3706del	Spezifikation gelöschter Nukleotide optional
Duplikation	g.32466684_32466698dup	c.3661_3706dup	Spezifikation duplizierter Nukleotide optional
Insertion	g.31792279_31792280insTAGG	c.7339_7340insT AGG	Spezifikation eingefügter Nukleotide obligat
Inversion	g.32481638_32481654inv	c.3334_3350inv	minimale Größe: zwei Nukleotide
Deletion-Insertion (indel)	g.32867914_32867919delinsTG	c.112_117delinsT G	Spezifikation eingefügter Nukleotide obligat

### 3. Beschreibung auf Proteinebene

<b>Varianten-Art</b>	<b>p.Beschreibung</b>	<b>Anmerkungen</b>
Substitution	p.Arg490Ser	
Deletion	p.Asp388_Gln393del	keine Spezifikation gelöschter Aminosäuren
Duplikation	p.Asp388_Gln393dup	keine Spezifikation duplizierter Aminosäuren
Insertion	p.Ala228_Val229insTrpPro	Spezifikation eingefügter Aminosäuren obligat
Deletion-Insertion (indel)	p.L7_H8delinsWQQFRTG	Spezifikation eingefügter Aminosäuren obligat
Leserasterverschiebung	p.(Arg97fs), p.(Arg97ProfsTer23)	kurze und lange Form werden akzeptiert

#### Nomenklatur der Aminosäuren (6)

<b>vollständige Bezeichnung</b>	<b>Abkürzung</b>
Alanin	Ala
Arginin	Arg
Asparagin	Asn
Asparaginsäure	Asp
Cystein	Cys
Glutamin	Gln
Glutaminsäure	Glu
Glycin	Gly
Histidin	His
Isoleucin	Ile
Leucin	Leu
Lysin	Lys
Methionin	Met
Phenylalanin	Phe
Prolin	Pro
Serin	Ser
Threonin	Thr
Tryptophan	Trp
Tyrosin	Tyr
Valin	Val

#### **IV. Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Klinisch-diagnostische Vorgehensweise bei Mikrozephalie .....	6
Abbildung 2: MCPH-Genloci dargestellt in Form von Idiogrammen der jeweils veränderten Chromosomen.....	21

#### **V. Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Syndromale Erkrankungen mit Mikrozephalie .....	7
--	---

## **VI. Zusammenfassung**

Die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie ist eine seltene erbliche Erkrankung, die aufgrund ausgeprägter genetischer Heterogenität und zum Teil unterschiedlicher phänotypischer Ausprägung ein spannendes Forschungsfeld für die Genetik bietet. Mit der Einführung der Next-Generation Sequencing-Technologie konnten in den letzten Jahren viele neue krankheitsverursachende Gene identifiziert werden. Durch die Erforschung der beteiligten Proteine, welche größtenteils Rollen in der Zell- bzw. Zentriolenteilung erfüllen, können immer weitere Teile der menschlichen Gehirnentwicklung auf subzellulärer Ebene ergründet werden. Trotz der wissenschaftlichen Fortschritte ist die Aufklärungsrate bei MCPH-Betroffenen noch immer relativ niedrig. Mit dieser Arbeit sollen die Möglichkeiten einer Genotyp-Phänotyp Korrelation optimiert werden und somit die Priorisierung von bekannten, sowie auch von noch nicht identifizierten Krankheitsgenen im diagnostischen wie wissenschaftlichen Zusammenhang verbessert werden.

Diese Diplomarbeit ist als Literaturrecherche angelegt und befasst sich in den ersten Kapiteln mit den Grundlagen der MCPH in Form von Definition und klinischen Aspekten inklusive Erscheinungsbild, Diagnostik, Abgrenzung gegenüber ähnlichen Erkrankungen und Begleitung Betroffener.

Im weiteren Verlauf der Arbeit werden die physiologischen Mechanismen der Gehirnentwicklung, die im Falle der MCPH verändert sind, grundlegend besprochen, um ein besseres Verständnis später beschriebener Alterationen zu ermöglichen.

Um die genetische Diagnostik dieser und ähnlicher Erkrankungen besser verständlich zu machen, werden frühere und aktuelle Techniken sowie Strategien zur Auffindung krankheitsverursachender Gene erläutert.

Den Kern der Arbeit bilden Abschnitte, in welchen die einzelnen betroffenen Gene und vor allem die Funktionen der entsprechenden Proteine im Kontext miteinander sowie mit phänotypischen Veränderungen erläutert werden.

Diese Arbeit liefert somit einen aktuellen Überblick über die Erkrankung MCPH und stellt neueste wissenschaftliche Erkenntnisse über relevante Proteine im Zusammenhang miteinander dar. Um die Mechanismen, welche dieser Erkrankung und der Entwicklung des Gehirns zugrundeliegen, letztlich zu verstehen, wird weiterhin intensive Forschung betrieben, weshalb auch in baldiger Zukunft weitere wichtige Erkenntnisse bezüglich neuer Genloci und Proteine zu erwarten sind.

## **VII. Abstract**

Autosomal recessive primary microcephaly is a rare genetic disease, that, due to genetic and in some cases also phenotypic heterogeneity, represents a fascinating field of research. The introduction and worldwide availability of next-generation sequencing technology has enabled geneticists to identify numerous novel disease-causing genes within the last few years. The exploration of involved proteins, which in most cases function either in mitosis or duplication of centrioles, is leading to a better understanding of the subcellular mechanisms underlying human brain development. Despite the great progress of science in genetics, there is still a high rate of unresolved MCPH-cases. The purpose of this work is to optimize the possibilities of genotype-phenotype correlations and to improve the prioritization of both known and yet unidentified disease-causing genes in a diagnostic and scientific context.

This diploma thesis is done in form of a literature research. The first chapters address the definition and clinical aspects of MCPH including symptoms, diagnostics and support of patients as well as a comparison with differential diagnosis.

A further chapter describes the physiological mechanisms of brain development that are altered through MCPH-causing genetic variants in order to establish the fundamental knowledge needed to understand later described pathologic processes.

To allow a better understanding of genetic diagnostics in this field, this work also includes information about techniques and strategies used to identify pathologic genetic variants.

The core of this diploma thesis consists of chapters discussing MCPH-genes and the physiologic and pathophysiologic roles of their related proteins in relation to each other and to the resulting phenotypes.

Therefore this work provides an overview of the disease MCPH including recent scientific publications about relevant proteins in context with the phenotypic expression as a result of MCPH-causing variants. Since there is still a lot of research going on in this field in order to completely understand the mechanisms underlying MCPH and human brain development, there are more publications about new genes and proteins to be expected in near future.

# 1 Einleitung

Die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie (microcephaly primary hereditary) ist eine selten auftretende Erkrankung, die durch Störungen in der embryonalen Neurogenese bedingt ist (7). Personen mit MCPH zeigen unterschiedlich stark ausgeprägte Verringerungen des zerebralen Volumens sowie des Kopfumfangs und damit einhergehend unterschiedlich ausgeprägte intellektuelle Beeinträchtigungen oder fallweise auch weitere klinische Auffälligkeiten, wie etwa kleine Statur oder skelettale Anomalien (7, 8). In der Diagnostik muss MCPH von anderen Formen der primären Mikrozephalie sowie von sekundären Mikrozephalie-Formen und syndromalen Erkrankungen mit Mikrozephalie, etwa dem Seckel-Syndrom oder dem Meier-Gorlin-Syndrom, unterschieden werden (7, 9). Die Inzidenz der MCPH ist abhängig von der Population stark unterschiedlich und Angaben diesbezüglich reichen von 1:1.000.000 in nicht-konsanguinen, weißen Populationen bis 1:10.000 im Norden Pakistans, wo konsanguine Verbindungen üblich sind (8, 10). Im Nordosten Pakistans, vor allem in und nahe der Stadt Gujrat, haben sich durch das gehäufte Auftreten von Mikrozephalie sogar religiöse Mythen um betroffene Menschen entwickelt. Frauen, die Schwierigkeiten haben, Kinder zu bekommen, beten an einem Schrein in dieser Stadt zu einem bestimmten Heiligen. Schenkt ihnen der Heilige in Folge ein Kind, so wird dieses laut dem Mythos mikrozephal und muss dem Schrein übergeben werden, um dort aufzuwachsen und zu leben. Übergibt die Frau das Kind nicht, werden alle weiteren Kinder ebenso mikrozephal. Die betroffenen Menschen werden dort als Chuas oder rat people bezeichnet und viele von ihnen werden bis heute zum Betteln missbraucht. Aus wissenschaftlicher Sicht sind autosomal rezessiv vererbte Genvariationen, welche Mikrozephalie zur Folge haben, die wahrscheinlichste Ursache für die Beeinträchtigungen dieser Personen, deren Leben durch diesen Mythos und seine Folgen noch weiter erschwert wird (11).

Bis dato wurden verschiedenste Varianten an 17 unterschiedlichen Genloci auf zehn verschiedenen Chromosomen als ursächlich für die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie nachgewiesen (12–17). Ein Großteil der bekannten MCPH-Gene kodiert für Proteine, die eine wesentliche Rolle in der Funktion der Zentriolen spielen und damit essentiell am regelrechten Ablauf der Mitose, sowie an Zell-Zyklus Kontrollpunkten beteiligt sind (12). Aufgrund ihrer äußerst heterogenen kli-

nischen und genetischen Erscheinung stellt MCPH auch heute noch, sowohl in der Mutationsfindung, wie auch in der klinischen Diagnostik, eine große Herausforderung dar, obwohl die Entwicklung und mittlerweile weit verbreitete Anwendung neuer Technologien, allen voran des Next-Generation Sequencing, große Fortschritte bei der Auffindung neuer, krankheitsverursachender Varianten gebracht hat (12, 18). Mit dieser Arbeit sollen der aktuelle Stand der Wissenschaft bezüglich MCPH-Genloci, -Mutationen und zugehöriger Proteine dargestellt, sowie mögliche Genotyp-Phänotyp Korrelationen erläutert werden, um in der Mutationsfindung eine bessere Priorisierung bestimmter Loci je nach klinischem Erscheinungsbild zu erreichen und somit die humangenetische Diagnostik bezüglich MCPH zu erleichtern. Zusätzlich soll ein Überblick über die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie - vom klinischen Erscheinungsbild und der Abgrenzung gegenüber syndromalen Erkrankungen mit Mikrozephalie, über die Mutationssuche, bis hin zu möglichen zukünftigen Entwicklungen bezüglich Aufklärungsrate und Diagnostik - geboten werden.

## **2 Klinik von autosomal rezessiv vererbten Formen der primären Mikrozephalie**

### **2.1 Definition und Ätiologie der Mikrozephalie**

Der Begriff Mikrozephalie selbst bezeichnet keine Krankheit, sondern eine klinische Auffälligkeit. Definiert wird sie als signifikante Reduktion der okzipitofrontalen Zirkumferenz (occipito-frontal circumference) gegenüber dem Alter, dem Geschlecht und der Ethnizität angepassten Vergleichswerten, wobei diskutiert wird, ob eine  $OFC < -2$  Standardabweichungen (standard deviations) oder  $< -3$  SD benutzt werden sollte, um unter 19-jährige Personen als mikrozephal zu definieren (19). Kaindl et al. (18) sprechen ab einer  $OFC < -2$  SD von Mikrozephalie und ab einer  $OFC < -3$  SD von schwerer Mikrozephalie. Nach Zeitpunkt des Auftretens der OFC-Reduktion kann man zwischen primärer und sekundärer Mikrozephalie unterscheiden. Primäre Formen der Mikrozephalie sind definitionsgemäß vor der 36. Schwangerschaftswoche nachweisbar, womit ätiologisch Verschiedenes in Betracht gezogen werden muss. Versagen oder Reduktion der Neurogenese (etwa durch Infektionen mit dem Zytomegalievirus im ersten Trimester, durch chromosomale Veränderungen oder Formen der autosomal rezessiven primären Mikro-

zephalie), destruktive Ereignisse vor der Geburt (wie pränatale porenzephalische Zystenbildung durch Hypoxie oder Ischämie, oder mitochondriale Mutationen), oder, noch seltener, sehr früh auftretende degenerative Prozesse (wie in manchen Fällen des Aicardi-Goutieres-Syndroms) können primäre Mikrozephalie auslösen (19, 20). Auch andere Infektionskrankheiten entsprechend dem STORCH-Komplex sowie mütterliche Phenylketonurie, Malnutrition, Hypothyreose oder die Einnahme teratogener Substanzen (etwa bestimmter Medikamente oder Alkohol) während der Schwangerschaft müssen als Ursache in Betracht gezogen werden. Sekundäre Mikrozephalie kann nicht durch fehlerhafte Neurogenese, jedoch aber durch alles andere, das die geordnete Entwicklung und Funktionalität der zentralen Nervensystems stört, bedingt sein. Dazu zählen etwa Störungen der neuronalen Migration, pränatale zerebrale Insulte, Blockierungen der normalen Entwicklung und degenerative Erkrankungen (19).

## **2.2 Klinisches Erscheinungsbild von MCPH**

Von MCPH betroffene PatientInnen weisen eine OFC von mindestens zwei bis drei Standardabweichungen unter dem nach Alter, Geschlecht und Ethnizität angepassten Mittel sowie eine langsamere OFC-Zunahme als der Durchschnitt auf und die genannten Veränderungen treten im zweiten Trimester der Schwangerschaft in Erscheinung (1). Durch die langsamere Zunahme der okzipitofrontalen Zirkumferenz nach der Geburt bleibt die OFC im Laufe der Entwicklung immer weiter hinter dem Durchschnitt zurück, womit ältere Individuen OFC-Werte zwischen  $<-4$  SD und  $<-12$  SD zeigen (21). Zuweilen wird auch der Kopfumfang als Maß benutzt, um Mikrozephalie zu beschreiben. Angaben für MCPH-PatientInnen reichen beim Kopfumfang von zwei bis zwölf Standardabweichungen unter dem Durchschnitt (8, 9). MCPH-Betroffene weisen ein kleineres Gehirn mit verkleinerten Gyri auf, wodurch die damit einhergehende Verringerung des Kopfumfangs zu erklären ist (19, 21). Das Volumen der Hemisphären kann dabei auf bis zu ein Drittel reduziert sein. Die Topographie und Organisation der Gyri sind meist normal, manchmal zeigt sich eine etwas vereinfachte Struktur. Metencephalon und Cerebellum sind bei normalem Aufbau ebenfalls verkleinert (21). Die Struktur des Gehirns ist aber ansonsten meist nicht stärker verändert. In einigen Fällen ist MCPH mit weiteren klinischen Erscheinungen, wie kleiner Statur, skelettalen Anomalien oder Neigung zu leichten Krampfanfällen assoziiert (7). Bei MCPH-

Fällen mit kleiner Statur ist die Körpergröße um zwei bis drei SD verringert. Die Meilensteine der Entwicklung werden üblicherweise etwas verzögert erreicht und betroffene Kinder ohne zusätzliche zerebrale Malformationen lernen normalerweise vor der Vollendung des zweiten Lebensjahres aufrecht zu gehen. Skelettale Veränderungen zeigen sich meist nur fazial in Form einer schmalen, fliehenden Stirn. Bei besonders ausgeprägter Mikrozephalie imponiert das Mittelgesicht prominent mit großer Nase (21). Die PatientInnen zeigen variable intellektuelle Beeinträchtigung, wobei nur wenige Daten bezüglich kognitiver Fertigkeiten bei bestätigter MCPH bestehen (7, 21). Individuen mit MCPH5 erreichen laut Passemard et al. (22) IQ-Werte von etwas unter 40 bis 70, wobei der IQ nicht mit der okzipitofrontalen Zirkumferenz korreliert. Schwere neurologische Defizite treten nicht auf, jedoch zeigen einige PatientInnen Hyperaktivität, Aufmerksamkeitsdefizite oder Aggressivität (18, 22, 23). Die meisten MCPH-PatientInnen sind zusätzlich von verzögerter Sprachentwicklung betroffen und lernen zwischen dem dritten und vierten Lebensjahr zu sprechen, sofern keine zusätzlichen Malformationen des Gehirns bestehen (21). Bei etwa 10% der von MCPH5 betroffenen Individuen sind Krampfanfälle berichtet worden. Üblicherweise kommt es erst nach dem vollendeten zweiten Lebensjahr zu ersten Krampfanfällen. Sie sind tonisch-klonischer Natur, treten vor allem nachts auf und sind mittels antikonvulsiver Medikation meist leicht zu kontrollieren (21, 22, 24). MCPH kann somit genetische und klinische Gemeinsamkeiten mit verwandten syndromalen Krankheiten, wie dem Seckel-Syndrom, dem Meier-Gorlin-Syndrom, oder dem mikrozephalen osteodysplastischen primordialen Kleinwuchs zeigen (7, 18, 25, 26). Die Abgrenzung gegenüber syndromalen Erkrankungen wird im Kapitel "MCPH im Vergleich zu syndromalen Erkrankungen mit Mikrozephalie" näher besprochen.

### **2.3 Diagnostik**

Die Basisdiagnostik bei PatientInnen mit primärer Mikrozephalie sollte laut Verloes et al. (21) immer eine MRT-Untersuchung des Gehirns, um die anatomischen Gegebenheiten und eventuelle Kalzifizierungen zu beurteilen, eine Untersuchung durch einen Kinder-Neurologen, eine Funduskopie, um asymptotische retinale Anomalien auszuschließen und eine chromosomale Mikroarray-Analyse, um chromosomale Veränderungen aufzudecken, beinhalten. Wenn MCPH wahrscheinlich erscheint, sollte zuerst in jedem Fall eine maternale Phenylketonurie

ausgeschlossen werden. Falls PatientInnen zusätzlich zur Mikrozephalie eine kleine Statur aufweisen, sollten Röntgenuntersuchungen der großen Knochen, eine Bestimmung des Knochenalters und eine Bestimmung des Insulin-like growth factor 1 folgen. Woods und Parker (19) empfehlen ein etwas anderes diagnostisches Vorgehen, zu sehen in Abbildung 1 auf Seite 6. Zuerst soll hierbei ergründet werden, ob die OFC-Reduktion schon bei der Geburt bestand, oder sich erst postnatal entwickelte. In weiterer Folge wird der Fall nach bestimmten Kriterien einer von drei diagnostischen "Schiene" zugeordnet. Der ersten Schiene werden Fälle zugeordnet, bei denen Umwelteinflüsse ätiologisch in Frage kommen, etwa wenn spastische Diplegie besteht und die Bildgebung des Gehirns periventrikuläre Leukomalazie zeigt, welche typisch für intrauterine oder geburtliche Asphyxie ist. Eine zweite Schiene beschreiben Fälle, in welchen Dismorphien und/oder kongenitale Malformationen, wie etwa kleine Statur oder bestimmte Gesichtsveränderungen gefunden werden. In der dritten Schiene finden sich jene Fälle wieder, bei welchen andere spezielle klinische Erscheinungen, etwa sekundäre Mikrozephalie, schwere Entwicklungsverzögerung oder episodische Hyperventilation, auftreten. Je nach Schiene werden im Verlauf eventuell spezielle Untersuchungen und Testmodalitäten, oder auch das Hinzuziehen von weiteren Spezialisten, etwa pädiatrischen Neurologen oder Humangenetikern, benötigt, um am Ende die richtige Diagnose stellen zu können (19).

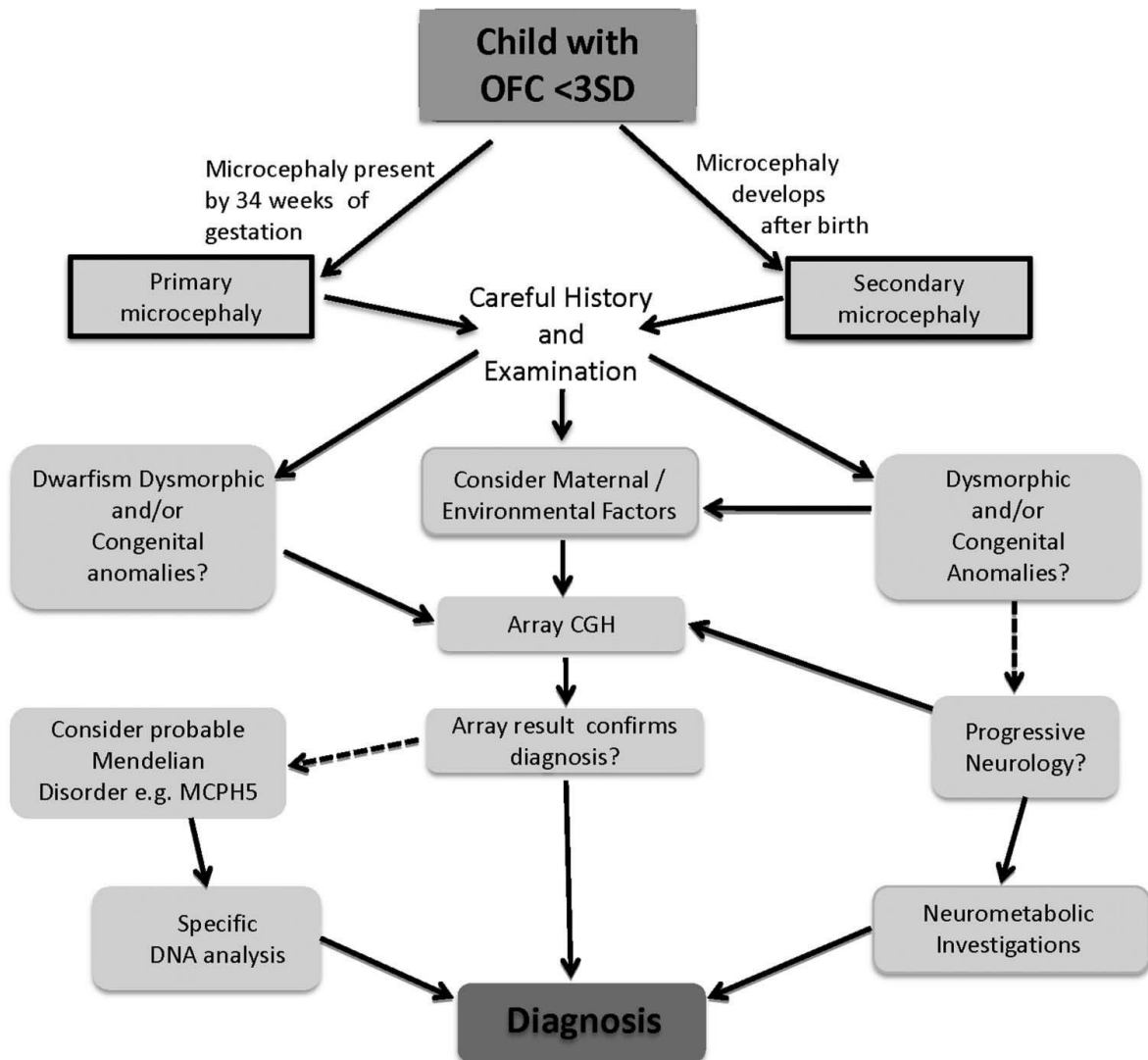


Abbildung 1: Klinisch-diagnostische Vorgehensweise bei Mikrozephalie. Durchgehende Pfeile stehen für "Ja", unterbrochene Pfeile für "Nein". Übernommen aus Woods, Parker 2013 - Investigating microcephaly (19, S.709).

## 2.4 PatientInnenmanagement und -begleitung

Die Therapie von MCPH-Betroffenen hat supportiven Charakter und umfasst spezielle, an das jeweilige Individuum angepasste Erziehungs- und Bildungsprogramme, Logopädie, eventuell Verhaltenstherapie und Ergotherapie. Von verzögertem Wachstum betroffene PatientInnen können von einer Behandlung mit Wachstumshormon (Somatotropin) profitieren. Eventuell auftretende Krampfanfälle sind üblicherweise durch Monotherapie mit einem klassischen Antiepileptikum gut zu kontrollieren. In der medizinischen Beobachtung und Begleitung von MCPH-PatientInnen sollten Körpergröße und okzipitofrontale Zirkumferenz regelmäßig gemessen und mit Standardwerten verglichen werden. Ebenso sollten zumindest bis zum Erwachsenenalter in festen Abständen neurologische und neuro-

psychologische Untersuchungen erfolgen, um den Entwicklungsstand des Individuums zu evaluieren und mögliche Symptome sowie Problematiken in der Entwicklung wie etwa Verhaltensauffälligkeiten, Hyperaktivität, Aufmerksamkeitsdefizite oder Neigung zu Krampfanfällen, frühestmöglich zu erkennen. Den Eltern von MCPH-Betroffenen sollte zumindest im Falle des Wunsches nach weiteren Kindern genetische Beratung empfohlen werden. Kinder von zwei Mutationsträgern sind zu 25% von MCPH betroffen, zu 50% heterozygote, asymptotische Träger der krankheitsverursachenden genetischen Variante und zu weiteren 25% weder betroffen, noch Träger. Im Falle einer Schwangerschaft, bei welcher die Elternteile Mutationsträger sind, ist pränatale Diagnostik möglich (21).

### 3 MCPH im Vergleich zu syndromalen Erkrankungen mit Mikrozephalie

Syndromale Erkrankungen stellen wichtige Differentialdiagnosen zur autosomal rezessiven primären Mikrozephalie dar (7, 19). Da bis August 2014 bereits über 800 syndromale Erkrankungen mit Mikrozephalie beschrieben wurden, werden im Folgenden nur die wichtigsten Entitäten angeführt (27). Tabelle 1 auf Seite 7 zeigt eine Auflistung von erwähnenswerten Syndromen mit Mikrozephalie. Seckel-Syndrom, Meier-Gorlin-Syndrom und mikrozephaler osteodysplastischer primordialer Kleinwuchs Typ 2 (microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type 2) werden aufgrund ihrer Wichtigkeit separat in den folgenden Unterkapiteln beschrieben.

**Tabelle 1: Syndromale Erkrankungen mit Mikrozephalie. Entitäten, Gene, Symptomatik und Erbgang entnommen aus (21). Genloci entnommen aus der jeweils angegebenen Referenz. Die angegebene Symptomatik versteht sich zusätzlich zu Formen der Mikrozephalie. \*Aufgrund der ausgeprägten genetischen Heterogenität der Fanconi Anämie werden die einzelnen Genloci hier nicht erwähnt.**

Entität	Genlo- kus	Gen	Erb- gang	Symptomatik	Refe- renz
<b>Feingold-Syndrom Typ 1 / 2</b>	2p24.3 / 13q31.3	<i>MYCN / MIR17HG</i>	AD	Milde Syndaktylie, Hypoplasie der Daumen, tracheoösophageale Fistel, intestinale Atresien, kleines Kiefer	(28) / (29)
<b>Mandibulo-faziale Dysostose mit Mikrozephalie</b>	17q21.31	<i>EFTUD2</i>	AD	Erscheinung ähnelt Treacher-Collins-Syndrom, Entwicklungsverzögerung, sensorineurale Schwerhörigkeit	(30)

<b>Taybi-Linder-Syndrom</b>	2q14.2	<i>RNU4A-TAC</i>	AR	Strukturelle Malformationen des Gehirns, Kleinwuchs, IUGR, Entwicklungsverzögerung, prominente Nase	(31)
<b>IGF1-Rezeptor-Defizienz</b>	15q26.3	<i>IGF1R</i>	AD/AR	Strukturelle Malformationen des Gehirns, IUGR, Entwicklungsverzögerung	(32)
<b>IGF1-Defizienz</b>	12q23.2	<i>IGF1</i>	AR	Wie IGF1R-Defizienz, nur schwerwiegender, Taubheit	(33)
<b>Renpenning-Syndrom</b>	Xp11.23	<i>PQBP1</i>	XR	Kleine Statur, leichte spastische Paraplegie, längliches Gesicht, prominentes Kiefer, kleine Hoden	(34)
<b>Fanconi Anämie</b>	Diverse*	<i>FANCA, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, M, N</i>	AR (nur FANCB, XC)	Panzytopenie in der ersten Lebensdekade, Leukämie, Malformationen von Herz, Nieren und Extremitäten, Pigmentierungsstörungen	*
<b>Nijmegen-Breakage-Syndrom</b>	8q21.3	<i>NBN</i>	AR	Kraniofaziale Veränderungen ähnlich Seckel-Syndrom, Immundefizienz, Wachstumsverzögerung	(35)
<b>Warsaw-Breakage-Syndrom</b>	12p11.21	<i>DDX11</i>	AR	Pigmentierungsstörungen, prä- und postnatale Wachstumsrestriktion	(36)
<b>Mikrozephalie mit schwerer kombinierter Immundefizienz und kleiner Statur</b>	2q35 / 13q33.3	<i>NHEJ1 / LIG4</i>	AR	Hypogammaglobulinämie, Lymphopenie, erhöhte Sensitivität gegenüber ionisierender Strahlung, Entwicklungs- und Wachstumsverzögerung, Hautveränderungen	(37) / (38)
<b>Cockayne-Syndrom Typ A / B</b>	5q12.1 / 10q11.23	<i>ERCC8 / ERCC6</i>	AR	Wachstums- und Entwicklungsverzögerung, Photosensitivität, Karzinome der Haut, progressive Retinopathie sensorineurale Taubheit	(39) / (40)
<b>Xeroderma pigmentosum Gruppe D / B / G</b>	19q13.32 / 2q14.3 / 13q33.1	<i>ERCC2 / ERCC3 / ERCC5</i>	AR	Multiple kanzeröse Veränderungen der Haut, kleine Statur, Anomalien des Haarschafts	(41) / (42) / (43)

<b>Variables</b>					
<b>Aneuploidie- Mosaik- Syndrom</b>	15q15.1	<i>BUB1B</i>	AR	Wachstumsverzögerung, Dandy-Walker-Malformation	(44)

### 3.1 Seckel-Syndrom

Das Seckel-Syndrom stellt aufgrund von genetischen sowie phänotypischen Überschneidungen und Ähnlichkeiten eine der bedeutendsten syndromalen Differentialdiagnosen zu MCPH dar (21). Auch das autosomal rezessiv vererbte Seckel-Syndrom an sich weist genetische Heterogenität auf. So wurden bis zum Jahr 2015 Varianten in acht verschiedenen Genloci (*ATR*, *ATRIP*, *CENPJ*, *RBBP8*, *NIN*, *DNA2*, *CEP63* und *CEP152*) als Auslöser für SCKL identifiziert, wobei zwei davon (*CENPJ* und *CEP152*) gleichzeitig bekannte MCPH-Genloci darstellen (21, 45). Yigit et al. (45) wiesen 2015 weitere SCKL-auslösende Varianten in *CDK5RAP2* nach. Mutationen in diesem Gen können bekanntlich auch MCPH Typ 3 auslösen (46). SCKL präsentiert sich typischerweise mit intrauteriner Wachstumsretardierung, kleiner Statur, intellektueller Beeinträchtigung, schwerer Mikrozephalie und charakteristischen fazialen Dysmorphien wie Höckernase, hervortretenden Augen, fliehender Stirn und Mikrognathie (21, 45). Diese speziellen Gesichtsveränderungen werden von manchen Autoren als vogelkopfförmig beschrieben. Seckel-Syndrom-Betroffene zeigen mit einer OFC < -9 SD im Mittel ähnlich ausgeprägte Mikrozephalie wie MCPH-PatientInnen. Personen mit Seckel-Syndrom kommen mit geringer Körpergröße sowie geringem Gewicht auf die Welt und auch das postnatale Wachstum ist verringert, womit die Körpergröße im Mittel um etwa 7 SD verringert ist. Kinder, deren Körpergröße über das erste Lebensjahr hinaus persistierend um drei bis vier SD reduziert ist, werden als phänotypisch zwischen SCKL und MCPH befindlich beschrieben. Die intellektuelle Beeinträchtigung beim Seckel-Syndrom wird als moderat bis schwer bezeichnet, wobei 50% der PatientInnen einen Intelligenzquotient (IQ) unter 50 aufweisen. Bei Seckel-Syndrom-PatientInnen wird von stark verzögerter Knochenalterung berichtet (21). Zusätzlich konnten in einigen Fällen bestimmte hämatologische, kardiovaskuläre und endokrine Veränderungen beobachtet werden (47). Pränatal können zwei- und dreidimensionale Sonographie und Magnetresonanztomographie des fetalen

Gehirns diagnostisch hilfreich sein (48). Aufgrund der Überlappungen des Seckel-Syndroms mit MCPH wird bezüglich des Umgangs mit Betroffenen und der Therapie von Begleiterscheinungen an dieser Stelle auf das obige Unterkapitel 2.4 "PatientInnenmanagement und -begleitung" verwiesen (21). In der medizinischen Begleitung von SCKL-Betroffenen sollte zusätzlich auf mögliche hämatologische Veränderungen geachtet werden. Diese können zumindest zum Teil mittels Knochenmarkstransplantation erfolgreich behandelt werden (48).

### **3.2 Meier-Gorlin-Syndrom**

Das Meier-Gorlin-Syndrom ist eine seltene, autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die aufgrund von phänotypischen Überlappungen mit MCPH und SCKL in vielen Fällen differentialdiagnostisch in Betracht gezogen werden muss (21, 25). Ausgelöst wird dieses Syndrom durch homozygote Mutationen in einem der fünf bekannten Genen *ORC1*, *ORC4*, *ORC6*, *CDT1* und *CDC6*, deren Genprodukte am sogenannten präreplikativen Komplex beteiligt sind. Hypothesen zufolge resultiert diese Beeinträchtigung des präreplikativen Komplexes am Ende in einer Limitierung der Teilungsrate und damit in einer Reduktion der Gesamtzahl an Zellen und einer Verminderung des Wachstums sowie der Größe des betroffenen Organismus (26, 49). MGORS-Betroffene zeigen zum Teil vielfältige Auffälligkeiten, wobei eine Triade aus Mikrotie, Fehlen oder Fehlbildungen der Patellae und kleiner Statur charakteristisch für das Meier-Gorlin-Syndrom ist und zumindest zwei dieser drei Veränderungen bei nahezu allen PatientInnen aufzufinden sind. Die Mikrotie kann in leichten bis schweren Formen auftreten. Patellae sind meist fehlend, können aber auch in hypoplastischer Form vorhanden sein. Die kleine Statur manifestiert sich meist bereits in Form einer intrauterinen Wachstumsretardierung und konsekutiv verringertem Wachstum bis zur Vollendung des ersten Lebensjahres, wobei sich in der Folge nahezu normales Wachstum zeigt, ohne dass die Individuen gegenüber Gleichaltrigen an Körpergröße aufholen. Weitere häufige Auffälligkeiten bei PatientInnen mit Meier-Gorlin-Syndrom sind Mikrozephalie, Mammahypoplasie und hypoplastische Labiae bei weiblichen, Kryptorchismus bei männlichen Individuen, spärliche Achselbehaarung, Mikrostomie, volle Lippen, Retrognathie bis Mikrognathie und eine schmale, konvexe Nase. Die meisten PatientInnen weisen einen normalen Intellekt auf. Relativ häufig sind Anomalien des Respirationstrakts, etwa kongenitale pulmonale Emphyseme, Broncho-, Laryngo-

und/oder Tracheomalazie, sowie Probleme bei der Fütterung der betroffenen Neugeborenen und Kleinkinder festzustellen. Die klinische Diagnostik des Meier-Gorlin-Syndroms basiert hauptsächlich auf der charakteristischen Triade aus Mikrotie, hypo- bis aplastischen Patellae und kleiner Statur. Weitere sehr typische Veränderungen, die bei der Diagnose hilfreich sein können, sind die Hypoplasie der Mammae und die speziellen fazialen Gegebenheiten. Körpergröße und Kopfumfang sind beim Seckel-Syndrom meist geringer als bei MGORS und PatientInnen mit mikrozepalem osteodysplastischen primordiales Kleinwuchs weisen im Gegensatz zu MGORS- und SCKL-Betroffenen eine kleine, disproportionale Statur sowie skelettale Dysplasien auf. Den Eltern von MGORS-Betroffenen kann bei Kinderwunsch genetische Beratung angeboten werden und im Falle einer Schwangerschaft bei bekanntem Gendefekt besteht die Möglichkeit, eine Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese durchzuführen, um eine pränatale Diagnose zu ermöglichen, wobei nicht zuletzt aufgrund der phänotypischen Heterogenität der Erkrankungen ethische Aspekte bedacht und diskutiert werden müssen. Die supportive Therapie von MGORS-PatientInnen kann aufwendig sein und es bedarf vor allem in der Kindheit multidisziplinärer Hilfe. Die Therapie mit Wachstumshormonen ist bei PatientInnen mit genetisch diagnostiziertem MGORS jedoch meist nicht erfolgreich (49).

### **3.3 Mikrozephaler osteodysplastischer primordiales Kleinwuchs Typ 2**

Der mikrozephale osteodysplastische primordiales Kleinwuchs Typ 2 (auch Majewski osteodysplastische primordiales dwarfism type 2) ist ebenfalls eine seltene, autosomal rezessiv vererbte Krankheit, die von anderen Formen des Kleinwuchses, ebenso wie das Seckel-Syndrom und das Meier-Gorlin-Syndrom, vor allem durch eine, im Vergleich zum restlichen Körper, kleine Kopfgröße abzugrenzen ist. MOPD2 wird durch Loss-of-Function- (Funktionsverlust-) Mutationen im *PCNT*-Gen, welches für das Protein Pericentrin kodiert, ausgelöst (48). Durch diesen Funktionsverlust kommt es zu desorganisierten mitotischen Spindeln und fehlerhafter Chromosomensegregation und durch die damit verbundene Störung der Mitose, Hypothesen zufolge, zu verringerter Zellproliferation, verringerter Gesamtzellzahl und Reduktion der Körpergröße (26, 50). Zusätzlich zu intrauteriner und postnataler Wachstumsretardierung, verzögerter Knochenreifung und Mikrozepha-

lie zeigen PatientInnen mit mikrozepalem osteodysplastischen primordialen Kleinwuchs Typ 2 Auffälligkeiten und Beeinträchtigungen wie disproportional kleine Extremitäten, Mikrodontie, weit voneinander entfernt stehende Milchzähne, besonders hohe Stimme, Schlafstörungen, verzögerte mentale Entwicklung, statomotorische Retardierung, Krankheitsneigung, Atemprobleme, Fütterungsprobleme, Hyperaktivität, Weitsichtigkeit und Gehirnaneurysmen. Weitere charakteristische skelettale Anomalien sind etwa kleine Darmbeinschaukeln, Coxa vara, V-förmige distale femorale Metaphysen, trianguläre distale femorale Epiphysen, Pseudoepiphysen der Metakarpalknochen, kurze erste Metakarpalknochen und Brachymesophalangie. Außerdem wurden bei MOPD2-Betroffenen gehäuft Leukozytosen und Thrombozytosen festgestellt. Auch PatientInnen mit MOPD2 bedürfen vor allem in der Kindheit besonderer, multidisziplinärer Betreuung. Diese beinhaltet verschiedene supportive Therapieformen und regelmäßige fachärztliche Untersuchungen. Nach Therapieversuchen mit Wachstumshormonen und rekombinantem insulin-like growth factor 1 konnten bis dato keine relevanten Vergrößerungen der PatientInnen-Staturen berichtet werden (48).

### **3.4 Konklusion des Vergleichs**

Wie bereits aus der Diskussion der einzelnen Entitäten ersichtlich wird, sind die jeweils beschriebenen Phänotypen in ihrer typischen Ausprägung durchaus unterschiedlich. Besonders die Körperproportionen des einzelnen Individuums (MOPD2 zeigt disproportionalen Kleinwuchs), faziale Charakteristika (vogelkopffartiges Profil bei SCKL) und spezielle Merkmale wie Mikrotie und fehlende Patellae (bei MGORS) können im Zuge der Diagnostik hilfreich sein, um syndromale Erkrankungen untereinander, sowie von autosomal rezessiver primärer Mikrozephalie, wo außer fliehender Stirn kaum spezielle Dymorphien beschrieben werden, zu unterscheiden. Da jedoch die einzelnen Erkrankungen äußerst selten sind, außer den drei näher beschriebenen Syndromen noch viele weitere phänotypisch überlappende Syndrome existieren und zusätzlich nicht immer alle Charakteristika bei jedem betroffenen Individuum auftreten, verlangt die Diagnostik dem Kliniker einiges ab. Bei nicht eindeutig zuordenbarem Phänotyp können Karyotypisierung und molekulargenetische Testung helfen, die korrekte Diagnose zu finden um der betroffenen Person in weiterer Folge geeignete Begleitung und unterstützende therapeutische Maßnahmen zukommen zu lassen (21, 48, 49).

## **4 Grundlagen der Entwicklung des zentralen Nervensystems**

Um das Verstehen der Auswirkungen der weiter unten genauer erläuterten MCPH-verursachenden Mutationen zu ermöglichen, werden in den folgenden Unterkapiteln die Entwicklung des zentralen Nervensystems und die betroffenen Vorgänge der embryonalen Neurogenese auf zellulärer Ebene möglichst prägnant zusammengefasst.

### **4.1 Neurulation**

Das zentrale Nervensystem des Menschen nimmt seinen Anfang im Prozess der Neurulation als relativ simple Zellansammlung auf der dorsalen Seite des Embryos im Gastrula-Stadium. Diese Ansammlung von Zellen wird Neuralplatte genannt (51). Die Neuralplatte beginnt bald sich auszudehnen, wobei sich ihre lateralen Enden aufwärts und dann in Richtung der Mittellinie falten, um schließlich das Neuralrohr zu formen, welches sich etwa am 30. embryonalen Tag komplett verschließt (52). Amnionflüssigkeit verbleibt im Zentralkanal des Neuralrohrs und es entwickelt sich ein primitives Ventrikelsystem (53). Durch verschiedene stereotype Konstriktions-, Biegungs- und Expansionsvorgänge entstehen aus dem rostralen Ende des Neuralrohrs zunächst drei Vesikel, welche die Vorläufer des Prosencephalon, Mesencephalon und Rhombencephalon darstellen (54).

### **4.2 Neurogenese**

Zwischen der vierten und fünften Gestationswoche beginnen nahe der äußeren Oberfläche dieser Vesikel befindliche neuroepitheliale Zellen symmetrische Zellteilung entlang des Randsaums der Ventrikel zu betreiben (55). Diese Zellen werden als neuronale Progenitorzellen bezeichnet und stellen pluripotente Stammzellen dar (51, 56). Bei der symmetrischen Zellteilung durchlaufen diese Zellen vier Phasen. In der ersten Phase befinden sich die Zellkerne in basaler, von den Ventrikeln entfernter Position, bevor sie sich in einem nächsten Schritt in Richtung der apikalen, ventrikulären Oberfläche bewegen. In der dritten Phase findet mit der Zytokinese eine symmetrische Teilung in zwei neue Progenitorzellen statt. Im letzten Schritt kehren beide Zellen in eine basale Position zurück. Die symmetrische Zellteilung resultiert folglich in einer Erweiterung des neuronalen Progenitor-Pools (53). Die Furchungsebene ist bei der symmetrischen Zellteilung vertikal zur ventri-

kulären Oberfläche orientiert (57). Den Bereich, in welchem im Rahmen der symmetrischen Zellteilung diese Vorgänge der Zellkern-Migration stattfinden, bezeichnet kann man als ventrikuläre Zone. Sie liegt den Ventrikeln unmittelbar an und der Prozess der nukleären Migration lässt sie als pseudostratifiziert erscheinen (55, 58). Um die fünfte Gestationswoche herum beginnen die Progenitorzellen in der ventrikulären Zone, auch Radialgliazellen genannt, von der symmetrischen zur asymmetrischen Zellteilung zu wechseln, bei welcher die Furchungsebene horizontal orientiert ist (53, 57). Somit beginnt die Produktion der endgültigen Neuronen, die Neurogenese (56). Im Zuge der asymmetrischen Zellteilung verbleibt eine Tochterzelle als Radialgliazelle in der VZ, während die andere Tochterzelle entweder eine intermediäre Progenitorzelle oder ein postmitotisches Neuron sein kann (53). Intermediäre Progenitorzellen teilen sich in Folge in zwei postmitotische Neuronen (59). Radialgliazellen und intermediäre Progenitorzellen können in eine apikale und eine basale Subgruppe unterteilt werden. Apikale Radialglia- und intermediäre Progenitorzellen bilden bipolare Fasern zwischen der apikalen und basalen Oberfläche aus und verbleiben in der VZ (60). Basale Radialglia- und intermediäre Progenitorzellen bilden unipolare, basale Fasern aus und entfernen sich aus der VZ (53). Die Zellen der basalen Subgruppe sind somit nicht mit der ventrikulären Oberfläche verbunden und weisen keine nukleäre Migration auf (61). Die Akkumulation der basalen Zellen lässt die sogenannte subventrikuläre Zone (SZ) entstehen, die der VZ oberflächlich aufliegt. Die Radialgliazellen der SZ teilen sich asymmetrisch, stellen somit eine wichtige Quelle für intermediäre Progenitorzellen dar und tragen wesentlich zu kortikalem Wachstum und Faltung bei (53). Die ventrikuläre und subventrikuläre Zone bilden folglich eine aktive Proliferationszone, aus der die Pyramidenzellen hervorgehen, welche im Laufe der Zeit entlang der Fasern der Radialgliazellen auswärts wandern, um die charakteristische sechs-schichtige Struktur des Kortex von innen nach außen zu formen (62).

### **4.3 Störungen der Neurogenese bei Mikrozephalie**

Bei der Gehirnentwicklung mikrozephaler Personen kann es unter anderem zu Veränderungen der Furchungsebene bei der Teilung der Progenitorzellen kommen, wodurch vertikale, symmetrische Zellteilungen zahlenmäßig abnehmen und horizontale, asymmetrische Teilungen begünstigt, also häufiger werden. Dadurch wird die Zahl der Progenitorzellen und Neuronen insgesamt erniedrigt, wodurch

sich folglich auch das kortikale Volumen verringert (53). Außerdem kann bei bestimmten MCPH-Typen ein verfrühter Zelltod der neuronalen Progenitorzellen, ausgelöst durch Defekte in der Zellzyklusregulation oder Störungen von DNA-Reparaturmechanismen, eine Reduktion des kortikalen Volumens bedingen (18).

## **5 Strategien zur Auffindung von krankheitsverursachenden Genen**

Es existieren überaus zahlreiche, zum Teil äußerst seltene Erkrankungen, welchen jeweils Veränderungen eines einzelnen Gens als Ursache zugeschrieben werden (63). Sie werden als monogene Erkrankungen bezeichnet und zeigen ein Vererbungsmuster, das den Mendel'schen Regeln folgt, weshalb im englischen Sprachraum häufig auch die Bezeichnung "Mendelian disorders" für sie gebraucht wird. Die Erbgänge können somit einem autosomal rezessiven, autosomal dominanten oder X-chromosomalen Muster folgen (64). Auch autosomal rezessive Formen der primären Mikrozephalie können durch Mutationen in einzelnen Genen ausgelöst werden (12). Diese krankheitsauslösenden Gene zu identifizieren, um in weiterer Folge spezifische Diagnostik und weiteres Verständnis zugrundeliegender physiologischer Proteinfunktionen zu ermöglichen, stellt jedoch nach wie vor eine große Herausforderung dar, obwohl viele bis vor einigen Jahren übliche Methoden zur Krankheitsgenfindung bereits durch Strategien abgelöst wurden, welche die mittlerweile äußerst effiziente Next-Generation Sequencing Technologie nutzen (63–65). In den folgenden Abschnitten wird zunächst auf traditionelle Methoden, mit welchen vor der Entwicklung und der Verbreitung des NGS Gene zum Teil recht erfolgreich detektiert wurden, eingegangen, bevor NGS und damit verbundene Strategien näher erläutert werden.

### **5.1 Traditionelle Methoden zur Detektion von Krankheitsgenen**

Bis vor einiger Zeit wurde die Identifikation krankheitsverursachender Gene mittels Sanger Sequenzierung von zuvor bestimmten Kandidatengenen durchgeführt (63). Bei der Sequenzierungsmethode nach Sanger werden die vier verschiedenen bekannten Desoxynukleotide, sowie vier verschiedene, Ketten-terminierende Didesoxynukleotide, welche jeweils mit einem unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoff markiert sind und außerdem ein Primer, die zu sequenzierende DNA-Vorlage sowie eine DNA-Polymerase eingesetzt, um eine Sequenzierungsreaktion stattfin-

den zu lassen (66, 67). Diese Methode war lange Zeit der Standard der Sequenzierungstechnologie, ist jedoch zu aufwändig und zu teuer, um den modernen Anforderungen der Forschung und Diagnostik gerecht zu werden (63, 68). Kandidatengene können aufgrund von Ähnlichkeiten zu Genen, welche bekannterweise ähnliche Erkrankungen auslösen, ausgewählt werden, oder da die vermutete Proteinfunktion für die Pathophysiologie der Erkrankung relevant erscheint. Außerdem können sogenannte Mapping- (Kartierungs-) Strategien die Position eines krankheitsverursachenden Gens einem bestimmten Genlocus zuordnen und so Kandidatengene identifizieren. Der letztgenannte Weg benötigt kein Vorwissen über das gesuchte Gen oder die vermutete physiologische Proteinfunktion und wurde aufgrund dieses Vorteils am erfolgreichsten angewandt (63, 65). Die wichtigsten Mapping-Strategien basieren auf Karyotypisierung, Kopplungsanalyse, Homozygotie-Mapping, Kopiezahlvariationsanalyse und SNP-basierter Assoziationsanalyse. Diese Kartierungsstrategien sind jedoch mit einigen Schwierigkeiten behaftet. Einerseits ist es beinahe unmöglich, vorherzusagen, ob eine Erkrankung durch Mutation eines einzelnen Nukleotids oder durch strukturelle Veränderungen des Genoms hervorgerufen wird. Andererseits kann man ohne geeignete Informationen über betroffene Familien kaum den Erbgang einer Erkrankung richtig einschätzen. Daher wird üblicherweise versucht durch eine sequentielle Abfolge verschiedener Strategien einen Locus zu identifizieren, welcher klein genug für eine darauf folgende Sanger Sequenzierung ist, wobei auch dies die Kandidatengene in vielen Fällen nicht auf eine sinnvollerweise sequenzierbare Anzahl reduziert. Die beste Möglichkeit zur Umgehung dieser Probleme ist, Daten von mehreren, nicht verwandten PatientInnen oder Familien mit ähnlichem Phänotyp zu kombinieren, wobei wiederum die Gefahr besteht, PatientInnen mit phänotypisch ähnlichen Erkrankungen, welche jedoch von unterschiedlichen genetischen Variationen betroffen sind, einzuschließen (63). Alternativ kann mittels bioinformatischer Programme versucht werden, den zu großen Locus auf einige wenige Kandidatengene zu reduzieren (69).

## **5.2 Next-Generation Sequencing Technologie**

Seit dem Jahr 2005 sind Next-Generation Sequencing-Plattformen nahezu weltweit verfügbar geworden (64). Die Entwicklung und Verbreitung dieser Technologien, welche auf massiver paralleler Sequenzierung (massively parallel sequen-

cing) beruhen, haben aufgrund ihrer niedrigen Kosten und ihrer Schnelligkeit eine Revolution in der genetischen Forschung und Diagnostik ausgelöst (63, 70). Durch die Möglichkeit der schnellen und kostengünstigen Sequenzierung des gesamten Genoms eines Menschen fällt die Notwendigkeit der Auswahl von wenigen Kandidatengenomen vor dem Sequenzierungsvorgang weg. Es wird in kürzester Zeit das gesamte Genom (whole genome sequencing) oder aber die Gesamtheit der potentiell proteinkodierenden DNA-Abschnitte, auch Exom genannt, sequenziert (WES, whole exome sequencing) und dadurch eine extrem große Menge an Daten generiert, die es in Folge auszuwerten gilt. Damit verschiebt sich die Herausforderung bei der Suche nach krankheitsverursachenden Varianten von der Auswahl geeigneter Kandidatengene hin zur, dem Sequenzierungsvorgang folgenden, Analyse des gewonnenen Datenmaterials. Die Problematik liegt beim NGS also in der Interpretation der Ergebnisse, wobei es gilt unter Millionen von genetischen Varianten die krankheitsauslösenden zu identifizieren (63).

### **5.2.1 Prinzipien und Abläufe des NGS**

Die Grundidee der massiven parallelen Sequenzierung wurde von der sogenannten Schrotschussesequenzierung (shotgun sequencing) adaptiert, welche im Zuge des Human Genome Projekts entwickelt wurde, um längere DNA-Stücke zu sequenzieren. Bei der Schrotschussesequenzierung wird DNA kloniert, enzymatisch oder mechanisch in kleinere Fragmente zerbrochen und in Sequenzierungsvektoren eingebracht, in welchen klonierte DNA-Fragmente individuell mittels Sanger-Methode sequenziert werden können. Durch auf Überlappungen basierende Anordnung und Zusammenfügung der einzelnen Fragmente wird am Ende die gesamte Sequenz eines längeren DNA-Stücks generiert (71, 72). Die Vorgehensweise der massiven parallelen Sequenzierung, die in leicht unterschiedlicher Weise bei den verschiedenen NGS-Plattformen Anwendung findet, basiert auf einem ähnlichen Prinzip. In einem ersten Schritt wird eine sogenannte DNA-Bibliothek konstruiert. Die zu untersuchende DNA-Probe wird dazu in zufällige Fragmente mit einer Länge von maximal 500 Basenpaaren zerteilt, welche in Folge mit ihren Enden an Adapter-Sequenzen (Oligonukleotide bekannter Sequenz) ligiert werden. Die so entstandene Bibliothek wird anschließend vervielfältigt. Um die Sequenz der vervielfältigten DNA-Bibliothek zu erhalten, wird eine Vorgehensweise benutzt, die man als sequencing-by-synthesis bezeichnet. Hierbei werden die

Fragmente der Bibliothek als Vorlage zur DNA-Synthese benutzt. Die Sequenzierung findet dabei durch zyklisches Waschen und Fluten der Fragmente mit bekannten Nukleotiden in einer sequenziellen Abfolge statt. Der Einbau jedes Nukleotids in die wachsenden DNA-Stränge wird digital aufgezeichnet. In weiterer Folge wird aus diesen Aufnahmen die jeweilige Sequenz der Fragmente zusammengestellt. Die daraus gewonnenen Daten durchlaufen eine für NGS-Plattformen generalisierte Abfolge von analytischen Prozessen, wobei unter anderem die bekannten Adapter-Sequenzen sowie qualitativ minderwertig sequenzierte Fragmente entfernt werden und die Sequenz nach einer bekannten Referenz rekonstruiert oder mittels de-novo Anordnung zusammengefügt wird (73, 74). Die Länge der dabei sequenzierten Teilstücke, die auch reads genannt werden, beträgt nur 50 bis 500 Basenpaare und ist damit ein wesentlicher limitierender Faktor der NGS-Technologien. Durch diesen Faktor ist ein suffizienter Deckungsgrad (Coverage), welcher als Zahl der sich überlappenden reads innerhalb einer spezifischen genomischen Region definiert ist, sehr wichtig für ein akkurates Sequenzierungsergebnis (72). Ein effizienter Weg zur Auffindung krankheitsverursachender Varianten mittels NGS-Technologien ist das bereits zuvor erwähnte WES. Dabei konzentriert man sich bei der Sequenzierung auf den proteinkodierenden Anteil der DNA, welcher etwa ein Prozent der Gesamt-DNA ausmacht, jedoch Schätzungen zufolge 85% der krankheitsverursachenden Varianten beherbergt (75).

### **5.3 Strategien zur Auffindung von krankheitsversursachenden Genen mittels exome sequencing**

Üblicherweise werden pro Sequenzierung eines Exoms 20.000 bis 50.000 Varianten identifiziert. Um die Zahl der falsch-positiven Funde zu reduzieren, werden die identifizierten Varianten zunächst aufgrund von Qualitätskriterien gefiltert. Hierzu wird die Gesamtzahl, sowie der prozentuelle Anteil der reads, welche die Variante zeigen, herangezogen. In weiterer Folge werden synonyme Varianten, sowie solche, die außerhalb des kodierenden Genoms liegen, aussortiert, wodurch die Anzahl der möglicherweise krankheitsverursachenden Varianten auf etwa 5.000 reduziert wird. Die größte Reduktion der infrage kommenden Varianten wird durch den Ausschluss von bekannten Variationen erreicht, wofür meist die dbSNP, bestimmte Studien wie etwa von Durbin et al. (76) oder hauseigene Datenbanken herangezogen werden. Nach diesem Schritt bleiben typischerweise zwischen 150

und 500 private, nicht-synonyme, kodierende Varianten übrig, welche als potentiell krankheitsverursachend priorisiert werden können. Diese Priorisierung birgt jedoch immer das Risiko, die tatsächlich krankheitsauslösende Variante auszuschließen. Dies kann insbesondere auch aufgrund von unverlässlichen, aus Datenbanken entnommenen Informationen bezüglich der Frequenz bestimmter Varianten in der Bevölkerung geschehen, da diese Frequenz ebenfalls ein Ausschlusskriterium darstellt, falls sie nicht zu der für die jeweilige Erkrankung erwarteten Frequenz passt. Da die Priorisierung alleine kaum vermag, die für die jeweilige Erkrankung kausale Variante per se zu identifizieren, wurden verschiedene Kartierungsstrategien und andere übliche Vorgehensweisen für die Exom-Sequenzierung adaptiert. Hier sind die Kopplungs-, die Homozygotie-, die double-hit-, die Überlappungs-, die de-novo- und die Kandidaten-Strategie zu erwähnen. Die passende Vorgehensweise wird aufgrund der jeweiligen Ausgangsbedingungen gewählt. So kann die Kopplungsstrategie zur Auffindung der kausalen Variante bei Familien mit monogener Erkrankung und mehreren betroffenen Familienmitgliedern benutzt werden. Die double-hit-Strategie kann angewandt werden, falls nur eine einzelne betroffene Person ohne zusätzliche Familienmitglieder verfügbar ist und man von einem autosomal rezessiven Erbgang ausgehen kann. Die Überlappungsstrategie wird insbesondere bei autosomal dominant vererbten Erkrankungen zur Mutationsuche in einzelnen Genen von mehreren, nicht verwandten, betroffenen Personen benutzt, falls keine genetische Heterogenität vorliegt. Im Falle des Vorliegens von genetisch heterogenen und weniger seltenen Erkrankungen kann die de-novo-Strategie eingesetzt werden. Sollte nur eine einzelne Person von einer vermeintlich dominant vererbten Erkrankung betroffen sein und damit keine weiteren Familienmitglieder oder betroffenen Personen verfügbar sein, ist die Kandidaten-Strategie eine der letztmöglichen Optionen zur Auffindung der krankheitsverursachenden Variante (63).

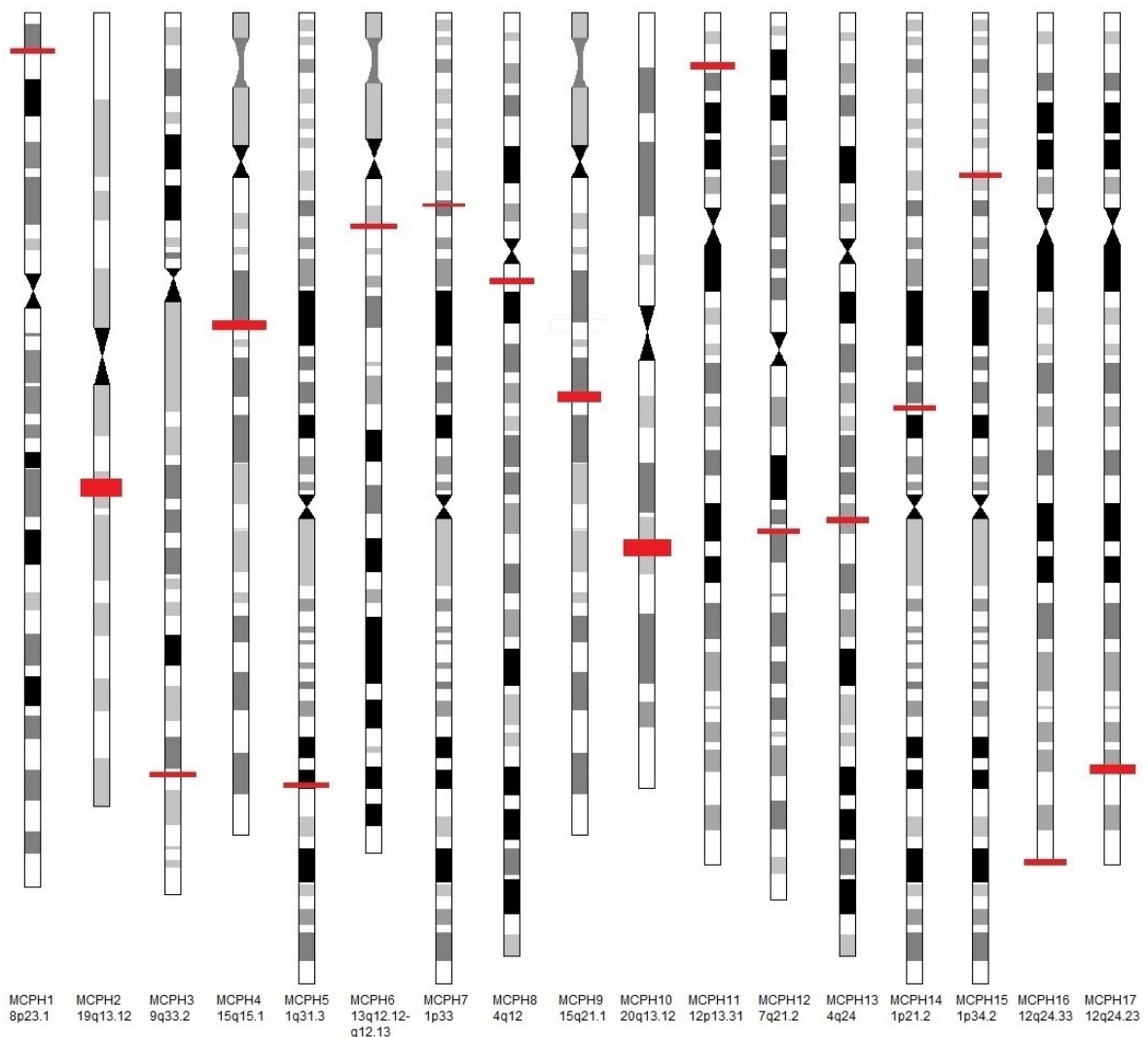
### **5.3.1 Homozygotie-Strategie**

In diesem Unterkapitel wird die Homozygotie-Strategie im Zuge der Exom-Sequenzierung genauer besprochen, da sie die Vorgehensweise der ersten Wahl im Falle der autosomal rezessiven primären Mikrozephalie darstellt (63). Die Homozygotie-Strategie wird bei der Erforschung seltener, autosomal rezessiv vererbter Erkrankungen bei vermuteter konsanguiner Abstammung der zu untersuchen-

den, betroffenen Personen angewandt. Damit wird initial von einer homozygoten, krankheitsverursachenden Variante ausgegangen, welche von beiden Elternteilen weitergegeben wurde und in einer großen, homozygoten Region liegt. Solche großen, homozygoten Regionen können mittels SNP-Microarray, oder auch im Zuge der Exom-Sequenzierung selbst gefunden werden (63, 77). Diese Beschränkung auf große homozygote Regionen stellt den relevantesten Unterschied zur Koppungsstrategie dar. Dadurch kann bei dieser Vorgehensweise die Anzahl der infrage kommenden krankheitsverursachenden Varianten genügend reduziert werden, um in Folge bei individuellen Fällen die Richtige identifizieren zu können. Hierfür werden außerdem keine weiteren Familienmitglieder benötigt. Mit Hilfe der Homozygotie-Strategie können allerdings nur Varianten identifiziert werden, welche sich in genügend großen, homozygoten Regionen mit ausreichend informativen SNPs befinden (63).

## **6 Genloci der MCPH und zugehörige Proteine aus physiologischer und pathophysiologischer Sicht**

In diesem Kapitel werden die bekannten MCPH-verursachenden genetischen Varianten je nach Genlocus beschrieben und ihre Auswirkungen soweit bekannt anhand der Physiologie und Pathophysiologie der jeweils resultierenden Proteine diskutiert. In Abbildung 2 auf Seite 21 sind die Idiogramme der bei den verschiedenen MCPH-Formen veränderten Chromosomen mit der jeweiligen betroffenen Region dargestellt.



**Abbildung 2:** MCPH-Genloci dargestellt in Form von Idiogrammen der jeweils veränderten Chromosomen, bei welchen die betroffene Region durch einen roten Balken markiert wird. Die Größe des Balkens spiegelt die Größe dieser Region wider. Unter den Idiogrammen ist jeweils die zytogenetische Lokalisation angegeben. Die Idiogramme wurden mithilfe von Informationen von Ensembl release 86 - Oct 2016 © (4) erstellt. Die in der Abbildung angeführten Lokalisationen wurden aus (46, 78–95) entnommen.

## 6.1 MCPH1 - *Microcephalin*

*MCPH1*, früher auch *BRIT1* genannt, war der erste Genlocus, in welchem für autosomal rezessive primäre Mikrozephalie ursächliche, genetische Varianten nachgewiesen werden konnten (96).

### 6.1.1 Genstruktur

Die genaue zytogenetische Lokalisation des *MCPH1*-Gens ist 8p23.1 (78). Jackson et al. (97) gelang 1998 mittels Autozygotie-Kartierung die erste Lokalisierung des *MCPH1*-Gens bei 8p22-pter. Jackson et al. (98) konnten mittels Positionsklonierung das *MCPH1*-Gen auf Chromosom 8p23 detektieren und durch Gensequenzanalyse herausfinden, dass diese Isoform des Gens 14 Exons enthält.

### 6.1.2 Proteinstruktur und -funktion

Microcephalin umfasst 835 Aminosäuren und beinhaltet drei C-terminale BRCA- (BRCT) Domänen (98). Das Protein Microcephalin erfüllt wichtige Funktionen im Rahmen der DNA-Schadensantwort und sichert hierbei nach DNA-Schädigungen den Zellzyklus-Arrest am Checkpoint. Zudem reguliert Microcephalin den Zeitpunkt des Mitose-Eintritts. Zelllinien von MCPH1-PatientInnen weisen eine verfrühte Chromosomenkondensation auf (99).

### 6.1.3 Pathogene Allel-Varianten

Insgesamt wurden bis dato 28 unterschiedliche pathogene Mutationen des *MCPH1*-Gens beschrieben, davon acht sinnverändernde Mutationen, zwei Spleiß-Mutationen, zwei kleine Deletionen, zwei kleine Insertionen oder Duplikationen, elf große Deletionen, zwei große Insertionen oder Duplikationen und ein komplexes Rearrangement (3). In den folgenden Zeilen sind exemplarisch einige relevante MCPH1-Fälle mit Beschreibungen der zugehörigen Genotypen und Phänotypen angeführt.

Jackson et al. (97) beschrieben im Jahr 1998 sieben MCPH1-Betroffene aus zwei konsanguinen pakistanischen Familien. Die untersuchten Personen wiesen Kopfumfänge von 5 - 9 SD unter dem nach Alter und Population angepassten Mittel auf, zeigten milde bis moderate mentale Retardierung, jedoch keine weiteren Dismorphien oder neurologischen Auffälligkeiten. Jackson et al. (98) konnten 2002 bei diesen PatientInnen eine C>G Mutation im Basenpaar 74 des Exons 2 des *MCPH1*-Gens nachweisen, wodurch ein verfrühtes Stoppkodon (p.Ser25Ter) resultiert. Im Jahr 2005 berichteten Trimborn et al. (100) von einem Patienten mit Mikrozephalie (-3 SD), einem Intelligenzquotient (IQ) von 84, aufwärtsgeneigten Lidspalten und bilateraler kutaner Syndaktylie der zweiten und dritten Zehe. Ursächlich für diesen Phänotyp ist die sinnverändernde Mutation c.80C>G im Exon 2 des *MCPH1*-Gens, wodurch am Kodon 27 die Aminosäure Threonin durch Arginin ersetzt wird. Garshasbi et al. (101) publizierten 2006 eine Studie über eine große konsanguine, iranische Familie mit sechs mental retardierten Familienmitgliedern. Allen betroffenen Individuen gemeinsam war ein Kopfumfang von 3 SD unter dem Mittel und eine Körpergröße von 2 bis 3 SD unter dem Mittel. Die ermittelten Intelligenzquotienten reichten von 50 bis 70. Als Auslöser für diesen Phänotyp konnte eine Deletion des Promotors und der ersten sechs Exons des *MCPH1*-Gens iden-

tifiziert werden. Ghani-Kakhki et al. (102) berichteten im Jahr 2012 über zwei Patienten mit schwerer kongenitaler Mikrozephalie (-3,5 SD bzw. -5,7 SD bei der Geburt) und Entwicklungsverzögerung, jedoch ohne weitere Beeinträchtigungen, bei welchen sinnverändernde Mutationen (c.215C>T, führt zu p.Ser72Leu und c.223T>C, führt zu p.Trp75Arg) in Exon 3 des *MCPH1*-Gens identifiziert werden konnten. Hosseini et al. (103) konnten 2012 eine zu einem verkürztem Protein führende Nonsense-Mutation (c.136C>T; p.Gln46Ter) in Exon 3 des *Mikrocephalin*-Gens bei einer Patientin mit Mikrozephalie (-4 SD) und Entwicklungsverzögerung detektieren. Im Jahr 2015 fanden Ghafouri-Fard et al. (104) bei zwei Kindern einer konsanguinen, iranischen Familie mit Mikrozephalie (-5 SD bzw. -12 SD), normaler Intelligenz bei einem, beziehungsweise schwerer mentaler Beeinträchtigung beim anderen Kind, eine Mutation (c.322-2A>T) im Intron 4 des *MCPH1*-Gens, welche zu einem RNA-Prozessierungsdefekt mit einer 15 Nukleotide umfassenden Deletion in Exon 5 des RNA-Transkripts führt. Die oben genannten Beispiele, sowie weitere Publikationen (105, 106) lassen den Schluss zu, dass Mutationen im *Microcephalin*-Gen zwar zu unterschiedlich ausgeprägter Mikrozephalie, jedoch in der Mehrzahl der Fälle zu milder bis moderater mentaler Retardierung und wenigen zusätzlichen Veränderungen führen (97, 98, 100–104).

## **6.2 MCPH2 - WDR62**

### **6.2.1 Genstruktur**

Das *WDR62*-Gen wurde bei 19q13.12 lokalisiert (79, 80). Das Exon 27 enthält eine alternative Spleiß-Stelle und das resultierende alternative Transskript ist um die ersten zwölf Nukleotide gekürzt (107).

### **6.2.2 Proteinstruktur und -funktion**

*WDR62* besteht aus 1.523 Aminosäuren und enthält zumindest 15 WD-Wiederholungen (107). Das Protein ist während der Mitose an den Zentrosomen und während der Interphase an den Nucleoli lokalisiert (108). Forschungsergebnisse von Nicholas et al. (107) suggerieren, dass *WDR62* essentiell ist, um den Spindelpolen eine korrekte Positionierung der Teilungsfurche zu ermöglichen und damit die symmetrische Zellteilung aufrecht zu erhalten.

### 6.2.3 Pathogene Allel-Varianten

Bis dato sind 35 unterschiedliche Mutationen im *WDR62*-Gen bekannt, davon 16 sinnverändernde Mutationen, drei Spleiß-Mutationen, neun kleine Deletionen, sechs kleine Insertionen oder Duplikationen und eine große Deletion (3). In den folgenden Zeilen sind exemplarisch einige erwähnenswerte Publikationen über MCPH2-Fälle, mitsamt den Genotypen und Phänotypen, angeführt.

Roberts et al. (79) beschrieben 1999 mehrere Mitglieder zweier konsanguiner, pakistanischer Familien mit primärer Mikrozephalie (-4 bis -7 SD unter dem nach Alter und Geschlecht angepassten Mittel) und milder bis moderater mentaler Retardierung, jedoch ohne weitere klinische Auffälligkeiten oder Dysmorphien. Nicholas et al. (107) konnten 2010 bei den betroffenen Individuen der ersten Familie eine homozygote Transition (c.1313G>A) in Exon 10 des *WDR62*-Gens nachweisen, welche zu einer Substitution von Arginin durch Histidin (p.Arg438His) führt. Bei den betroffenen Mitgliedern der zweiten Familie entdeckten sie eine homozygote Duplikation eines einzelnen Basenpaares (c.4241dupT) in Exon 31 des *WDR62*-Gens, die zu einer Leserasterverschiebung und verfrühten Terminierung führt (p.Leu1414LeufsTer41). Außerdem konnte die Forschungsgruppe bei von autosomal rezessiver primärer Mikrozephalie betroffenen Mitgliedern von zwei weiteren, zueinander nicht verwandten, konsanguinen, pakistanischen Familien eine Transition (c.1531G>A) in Exon 11 des *MCPH2*-Gens detektieren, welche eine Substitution einer einzelnen Aminosäure (p.Asp511Asn) bedingt. Bhat et al. (108) beschrieben 2011 MCPH-betroffene Individuen aus zwei unterschiedlichen konsanguinen Familien, bei welchen *WDR62*-Mutationen nachgewiesen werden konnten. Die Betroffenen wiesen Kopfumfänge zwischen vier und neun SD unter dem nach Population, Alter und Geschlecht angepassten Mittel auf. Bei einem Individuum mit schwerer mentaler Retardierung, Entwicklungsverzögerung, Krampfanfällen, fliehender Stirn und prominenten, tiefstehenden Ohren sowie bei dem zweiten Kind der Familie, einem Individuum mit milder mentaler Retardierung, Entwicklungsverzögerung und ähnlichem Phänotyp konnte die zu einer Leserasterverschiebung (p.Met179fsTer21) führende Mutation c.535\_536insA in Exon 5 von *WDR62* gefunden werden. Dadurch entsteht ein auf 199 Aminosäuren verkürztes Protein. Die ebenfalls zu einem verkürzten Protein führende Nonsense-Mutation c.900C>A (p.Cys300X) in Exon 8 des *WDR62*-Gens konnte bei zwei Geschwistern detektiert werden. Beide wiesen milde mentale Retardierung, Entwick-

lungsverzögerung, fliehende Stirn und prominente Ohren auf. Eines der beiden Kinder entwickelte zusätzlich komplexe fokale Anfälle. Murdock et al. (109) wiesen im Jahr 2011 bei zwei MCPH-betroffenen Söhnen nicht eines nicht verwandten, nordeuropäischen Paares Compound- (kombinierte) Heterozygotie für zwei proteinkinase-inaktivierende Mutationen des *WDR62*-Gens (c.2083delA; p.Ser696Ala) in Exon 17 und c.2472\_2473delAG; p.Gln918Gly) in Exon 23) nach. Die Söhne unterschieden sich im Phänotyp. Ein Sohn wies Entwicklungsverzögerung, generalisierte Epilepsie, spastische Tetraparese und mentale Retardierung auf, während sein Bruder verzögerte soziale Entwicklung und milde rechtsseitige Hemiparese zeigte. Bacino et al. (110) konnten bei zwei Söhnen eines konsanguinen Paares die sinnverändernde Mutation c.1198G>A (p.Glu400Lys) in Exon 9 des *WDR62*-Gens nachweisen. Beide Kinder zeigten Kopfumfänge unter der dritten Perzentile und Hypotonie der Stammmuskulatur. Ein Sohn wies außerdem Verzögerungen der motorischen und sprachlichen Entwicklung, Hypersalivation und zeitweise aggressives Verhalten auf. Diese und weitere Publikationen über MCPH2-Fälle (80, 111) zeigen, wie sehr die Auswirkungen von Mutationen im *WDR62*-Gen divergieren können.

## **6.3 MCPH3 - *CDK5RAP2***

### **6.3.1 Genstruktur**

Das *CDK5RAP2*-Gen ist auf Chromosom 9q33.2 lokalisiert (81).

### **6.3.2 Proteinstruktur und -funktion**

Dieses Gen kodiert für zwei Isoformen des auch als CEP215 bezeichneten *CDK5RAP2*-Proteins, welche 1.893 beziehungsweise 1.814 Aminosäuren umfassen. Beide Isoformen beinhalten eine N-terminale Mikrotubulus-Assoziations-Domäne sowie zehn Coiled-Coil- (Doppelwendel) Domänen, wobei bei der kürzeren Isoform eine Deletion in der neunten Doppelwendel-Domäne vorliegt (81). *CDK5RAP2* ist ein zentrosomales Protein, das während der Mitose an den Spindelpolen lokalisiert ist und mit CEP152 interagiert (112–114). Die Proteine *CDK5RAP2* und Pericentrin interagieren ebenso miteinander, beeinflussen auf indirektem Weg die Kohäsion der Zentrosomen und sorgen für die Reifung des Zentrosoms (81, 113). *CDK5RAP*-Defizienz führt zu einer verfrühten neuronalen Differenzierung (115).

### 6.3.3 Pathogene Allel-Varianten

Bisher wurden insgesamt elf unterschiedliche Mutationen im *CDK5RAP2*-Gen gefunden, davon sechs sinnverändernde, vier Spleiß-Mutationen und eine kleine Deletion (3). In den nachfolgenden Zeilen sind exemplarisch einige wenige MCPH3-Fälle mit Genotypen und Phänotypen erwähnt.

Bond et al. (46) detektierten 2005 bei pakistanischen Probanden mit verringertem Kopfumfang und fliehender Stirn die Mutation n.15A>G in Intron 26 des *CDK5RAP2*-Gens und fanden heraus, dass die Mutation eine neue Spleiß-Akzeptor-Stelle entstehen lässt, wodurch vier neue Aminosäuren und ein Stoppkodon angefügt werden (p.Glu385fsX4). Issa et al. (116) konnten 2013 bei zwei von primärer Mikrozephalie betroffenen Söhnen konsanguiner, italienischer Eltern die Nonsense-Mutation c.4441C>T (p.Arg1481Ter) nachweisen. Die beiden Söhne wiesen bei der Geburt okzipitale Zirkumferenzen von 5,9 beziehungsweise 3,5 Standardabweichungen unter der Norm, sowie scharf begrenzte, hyperpigmentierte Hautareale, Vierfingerfurchen, unterschiedlich stark ausgeprägte Entwicklungsverzögerung, Hyperaktivität, zeitweise Aggressivität und Konzentrationsschwäche auf. Beim Erstgeborenen waren zusätzlich IUGR, eine abdominale Hernie sowie erhöhte Muskelreflexe auffallend, während der zweite Sohn zusätzlich faziale Dysmorphien aufwies. Tan et al. (117) gelang es mittels NGS bei einem sechsjährigen kaukasischen Mädchen nicht-konsanguiner Herkunft mit Mikrozephalie (OFC -8 SD), kleiner Statur (-3 SD) und Entwicklungsverzögerung die compound-heterozygoten Mutationen c.524\_528del (p.Gln175ArgfsTer42) und c.4005-1G>A (Spleiß-Mutation) zu detektieren. Mutationen im *CDK5RAP2*-Gen können auch das Seckel-Syndrom auslösen und somit bemerkenswert unterschiedliche phänotypische Veränderungen bedingen (45).

## 6.4 MCPH4 - *KNL1*

### 6.4.1 Genstruktur

Das *KNL1*-Gen (früher als *CASC5*-Gen bezeichnet) ist auf Chromosom 15q15.1 lokalisiert (82). Das Gen beinhaltet 27 Exons und umfasst 68,3kb (118).

### 6.4.2 Proteinstruktur und -funktion

Das *KNL1*-Gen kodiert für das 2.343 Aminosäuren umfassende KNL1-Protein mit N- und C-terminalen Coiled-Coil-Domänen (119). Das KNL1-Protein ist am Kine-

tochor lokalisiert und wird für die korrekte Anfügung des Zentromers an den Mikrotubulus-Apparat sowie für die Signalgabe des Checkpoints der Spindelausbildung während der Mitose benötigt (120).

### **6.4.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bisher wurden vier unterschiedliche Mutationen im *KNL1*-Gen gefunden. Von diesen vier sind zwei sinnverändernde Mutationen, eine kleine Insertion und eine Spleiß-Mutation (3). Die folgenden zwei Fälle sollen einen Überblick über die durch Mutationen im *KNL1*-Gen hervorgerufenen Veränderungen ermöglichen.

Genin et al. (120) konnten 2012 bei drei konsanguinen, marokkanischen Familien die Mutation c.6125G>A (p. Met2041Ile) in Exon 18 des *KNL1*-Gens nachweisen. Alle Patienten wiesen Kopfumfänge zwischen -4 und -7 SD unter dem Mittel für Alter und Geschlecht sowie milde bis moderate mentale Retardierung auf. Szczepanski et al. (121) detektierten 2016 die Mutation n.6673-19T>A (p.Met2225IlefsTer7) in Intron 24 des *KNL1*-Gens bei drei von Mikrozephalie, mentaler Retardierung und fliehender Stirn betroffenen Mitgliedern einer konsanguinen, pakistanischen Familie.

## **6.5 MCPH5 - ASPM**

### **6.5.1 Genstruktur**

Das *ASPM*-Gen ist auf Chromosom 1q31.3 lokalisiert (83). Es umfasst 62kb und beinhaltet 28 Exons (122).

### **6.5.2 Proteinstruktur und -funktion**

Dieses Gen kodiert für das 3.477 Aminosäuren umfassende *ASPM*-Protein mit einer Masse von 410kD. Mehr als die Hälfte des Proteins setzt sich aus 81 C-terminalen Calmodulin-bindenden IQ-Motiven variabler Länge zusammen und es enthält zwei *ASPM* N-proximale repeats. Durch alternatives Spleißen sind einige *ASPM*-Varianten mit weniger IQ-Motiven möglich. *ASPM* ist während der Mitose an den Spindelpolen lokalisiert (123). Die *ASPM*-Expression ist während dem Wechsel von der proliferativen zur neurogenen Zellteilung physiologisch heruntergefahren. Bei Zellen mit defektem *ASPM*-Protein orientiert sich die Furchungsebene der Teilung der neuronalen Progenitorzellen frühzeitig horizontal zur ventrikulären Oberfläche, wodurch es mit größerer Wahrscheinlichkeit zu asymmetrischen (neurogenen) anstatt von symmetrischen (proliferativen) Zellteilungen

kommt. Daraus resultiert eine Verringerung der Anzahl der neuronalen Progenitorzellen. *ASPM* ist somit essentiell für die Bewahrung einer Furchungsebene, welche die symmetrische Zellteilung von neuroepithelialen Zellen während der Gehirnentwicklung ermöglicht (124).

### **6.5.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bisher wurde über 141 unterschiedliche Mutationen im *ASPM*-Gen berichtet. Davon sind 63 sinnverändernde Mutationen, zehn Spleiß-Mutationen, 57 kleine Deletionen, acht kleine Insertionen oder Duplikationen, zwei große Deletionen und ein komplexes Rearrangement (3). In Folge sind zwei Mutationen mit phänotypischen Beschreibungen exemplarisch angeführt.

Passemard et al. (22) detektierten 2009 unter anderem die Mutation c.7782\_7783delGA (p.Lys2595fsTer6) in Exon 18 des *ASPM*-Gens bei zwei konsanguinen, algerischen Patienten mit primärer Mikrozephalie, letztgemessenen okzipitofrontalen Zirkumferenzen von -4 beziehungsweise -7 SD und keinen weiteren klinischen Auffälligkeiten. Außerdem konnte die Forschungsgruppe bei einem französischen Patienten mit primärer Mikrozephalie, einer letztgemessenen OFC von -5 SD, Hyperaktivität, Aggressivität und Selbstverletzungstendenzen die compound-heterozygoten Mutationen c.77delG (p.Gly26AlafsTer42) in Exon 1 und c.6232T>C (p.Arg2078Ter) in Exon 18 des *ASPM*-Gens detektieren.

## **6.6 MCPH6 - CENPJ**

### **6.6.1 Genstruktur**

Das *CENPJ*-Gen wurde bei 13q12.12-q12.13 lokalisiert (46, 84).

### **6.6.2 Proteinstruktur und -funktion**

Hung et al. (125) gelang es, das Protein CENPJ, welches die Forschungsgruppe als CPAP bezeichnete, zu klonieren. Es umfasst 1.338 Aminosäuren bei einer molekulare Masse von 153kD und enthält 5 Coiled-Coil-Domänen, von denen die am meisten C-terminale ein Leucin-Zipper-Motiv beinhaltet. Außerdem weist CENPJ einige Protein-Phosphorylierungsstellen sowie eine C-terminale Domäne mit 21 Nonamer-G-Box repeats auf. CENPJ bildet eine Kernstruktur innerhalb des proximalen Lumens der Zentriolen (126). Forschungsergebnisse von Tang et al. (127) lassen vermuten, dass CENPJ die Länge der Zentriolen sowie die Elongation der Prozentriolen durch seine intrinsische Tubulin-Dimer-Bindungsaktivität reguliert.

Es wird an die Prozentriolen rekrutiert, wo in Folge PLK4 am proximalen Ende der parentalen Zentriole und SASS6 an der Basis der neu entstehenden Zentriole aktiviert werden.

### **6.6.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bis dato wurde über sechs verschiedene Mutationen im *CENPJ*-Gen berichtet. Davon sind drei sinnverändernde Mutationen, eine Spleiß-Mutation und zwei kleine Deletionen (3).

Bond et al. (46) konnten bei vier von primärer Mikrozephalie und fliehender Stirn betroffenen Mitgliedern zweier konsanguiner Familien aus dem Norden Pakistans die Deletion c.17delC (p.Thr6fsTer3) in Exon 17 des *CENPJ*-Gens detektieren. Darvish et al. (105) fanden bei zwei von primärer Mikrozephalie, schwerer mentaler Retardierung, Entwicklungsverzögerung, fazialen Dysmorphien wie Mikrotie, Hypertelorismus, eingekerbter Nasenspitze und Strabismus, Fingerdeformitäten, Krampfanfällen, Fehlbildungen des knöchernen Thorax und Gelenkssteifigkeit betroffenen Individuen einer iranischen Familie die Nonsense-Mutation c.2462C>T (p.Thr821>Met) in Exon 7 des *CENPJ*-Gens. Mutationen in diesem Gen können auch das Seckel-Syndrom hervorrufen (21, 128). Alterationen und Fehlfunktionen von *CENPJ* können somit unterschiedliche phänotypische Veränderungen bedingen.

## **6.7 MCPH7 - STIL**

### **6.7.1 Genstruktur**

Das *STIL*-Gen ist auf Chromosom 1p33 lokalisiert. Die Exons 13 und 18 können alternativ gespleißt werden und die kodierende Region beginnt bei Exon drei (85, 129).

### **6.7.2 Proteinstruktur und -funktion**

Dieses Gen kodiert für das 1.287 Aminosäuren umfassende *STIL*-Protein, welches ein vermeintliches Nukleus-Lokalisationssignal-Motiv sowie eine Cystein-terminale Domäne enthält (129). Dieses Protein interagiert mit *CENPJ* und wird für die Duplikation der Zentriolen benötigt (130). Die *PLK4*-medierte Phosphorylierung von *STIL* erleichtert dem Protein das Anvisieren der Zentriolen, wo es eine Bindungsstelle für *SASS6* erzeugt, welche für die Rekrutierung von *SASS6* zum Ort der

Prozentriolen-Bildung und damit für die Duplikation der Zentriolen erforderlich ist (131).

### **6.7.3 Pathogene Allel-Varianten**

Es sind acht unterschiedliche Mutationen im *STIL*-Gen bekannt. Davon sind fünf nicht-synonyme Mutationen, zwei Spleiß-Mutationen und eine kleine Deletion (3). Kumar et al. (132) konnten 2009 bei von primärer Mikrozephalie, milder beziehungsweise schwerer mentaler Retardierung und Entwicklungsverzögerung betroffenen Mitgliedern zweier konsanguiner, indischer Familien die Deletion c.3655delG (p.Leu1218Ter) in Exon 18 des *STIL*-Gens detektieren. Außerdem konnte die Forschungsgruppe die zu einem verkürzten Protein führende Spleiß-Mutation n.16+1G>A in Intron 16 des *STIL*-Gens bei einem weiteren indischen Patienten konsanguiner Herkunft mit primärer Mikrozephalie, Entwicklungsverzögerung und milder mentaler Retardierung finden.

## **6.8 MCPH8 - CEP135**

### **6.8.1 Genstruktur**

Das *CEP135*-Gen wurde bei 4q12 lokalisiert und enthält 26 Exons (86).

### **6.8.2 Proteinstruktur und -funktion**

Dieses Gen kodiert für CEP135, ein Protein das bei einer molekularen Masse von 135kD 846 Aminosäuren umfasst und lange Coiled-Coil Domänen beinhaltet (133–135). CEP135 bildet, wie auch CENPJ, eine Kernstruktur innerhalb des proximalen Lumens der Zentriolen (126, 134).

### **6.8.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bis dato wurde lediglich über eine kleine Deletion im *CEP135*-Gen berichtet (3). Diese Deletion c.970delC (p.Gln324SerfsTer2) in Exon 8 des *CEP135*-Gens wurde 2012 von Hussain et al. (86) bei zwei aus einer konsanguinen, pakistanischen Familie stammenden Individuen mit schwerer primärer Mikrozephalie, fliehender Stirn und Retrognathie gefunden.

## **6.9 MCPH9 - CEP152**

### **6.9.1 Genstruktur**

Das *CEP152*-Gen ist auf Chromosom 15q21.1 lokalisiert (87).

### **6.9.2 Proteinstruktur und -funktion**

CEP152 ist ein 1.209 Aminosäuren umfassendes Protein mit einer molekularen Masse von 151,5kD (134, 136). Sonnen et al. (137) konnten vier Isoformen des Proteins nachweisen, von denen die größte bei einer molekularen Masse von 196kD 1.710 Aminosäuren lang ist. Weitere Isoformen sind C-terminal verkürzt oder weisen Deletionen ohne Leserasterverschiebung am C- oder N-terminalen Ende auf. CEP152 stellt eine molekulare Plattform bereit, deren Amino-Terminus mit der Polo-Box-Domäne von Plk4 interagiert, während ihr Carboxy-Terminus mit dem zentriolären Protein CENPJ interagiert. CEP152 wird für die zentrosomale Beladung von PLK4 benötigt. PLK4 kontrolliert den Zusammenbau der Zentriolen sowie deren Duplikation. Eine Inaktivierung von CEP152 führt zum Versagen der Duplikation der Zentrosomen. CEP152 erfüllt somit unabhängige Funktionen als Baugerüst für PLK4 und CENPJ, welches den Zusammenbau und damit die Duplikation der Zentriolen sowie die Organisation von perizentriolärem Material erleichtert (138).

### **6.9.3 Pathogene Allel-Varianten**

Im *CEP152*-Gen sind bislang 17 unterschiedliche Mutationen bekannt. Davon elf nicht-synonyme Mutationen, zwei Spleiß-Mutationen, zwei kleine Deletionen, eine kleine Indel (Insertion/Deletion) und eine große Deletion (3).

Sajid Hussain et al. (139) fanden 2013 unter anderem die Mutationen c.3149T>C (p.Leu1050Pro) in Exon 20 und c.3676-3678del (p.Asn1226del) in Exon 23 des *CEP152*-Gens bei von primärer Mikrozephalie betroffenen Mitgliedern einer konsanguinen, pakistanischen Familie. Bei diesen Individuen wurden keine weiteren Symptome oder Dysmorphien beschrieben. Einige Mutationen im *CEP152*-Gen sind ursächlich für das Seckel-Syndrom (140).

## **6.10 MCPH10 - ZNF335**

### **6.10.1 Genstruktur**

Das *ZNF335*-Gen ist Chromosom 20q13.12 lokalisiert (88).

### **6.10.2 Proteinstruktur und -funktion**

ZNF335 ist ein 1.342 Aminosäuren langes Protein, das sechs C2H2-Zinkfinger enthält. Es ist eine Isoform von ZNF335 bekannt, welche 783 Aminosäuren umfasst und nur zwei Zinkfinger aufweist (141). ZNF335 ist ein essentieller Bestand-

teil eines Wirbeltier-spezifischen trithorax H3K4-Methylierungskomplexes, welcher direkt REST/NRSF reguliert. Trithorax und Polycomb Chromatin-Remodellierungskomplexe arbeiten gegensinnig als Aktivatoren bzw. Inaktivatoren der Expression verschiedener Gene. REST/NRSF ist ein Hauptregulator der neuronalen Genexpression und Differenzierung sowie anderer essentieller Neuronenspezifischer Gene (142).

### **6.10.3 Pathogene Allel-Varianten**

Es wurde bis dato über zwei unterschiedliche Mutationen, davon eine sinnverändernde Mutation und eine Spleiß-Mutation, berichtet (3).

Yang et al. (142) konnten bei Mitgliedern einer konsanguinen arabisch-israelischen Familie die Mutation c.3332G>A (p.Arg1111His) in Exon 20 des *ZNF335*-Gens finden. Diese Alteration führte bei den betroffenen Individuen zu schwerer primärer Mikrozephalie, neuronaler Degeneration und bis auf ein Individuum in allen Fällen zum Tod innerhalb des ersten Lebensjahres.

## **6.11 MCPH11 - *PHC1***

### **6.11.1 Genstruktur**

Das *PHC1*-Gen ist auf Chromosom 12p13.31 lokalisiert (89).

### **6.11.2 Proteinfunktion**

*PHC1* ein Protein der Polycomb-Gruppe und bildet zusammen mit den Proteinen *PCGF2*, *CBX2* und *BMI1* einen multimeren Proteinkomplex (143). Dieser und gleichartige Proteinkomplexe agieren als Transkriptions-Hemmer, die bestimmte Gene durch Chromatin-Remodellierung inaktivieren. *PHC1*-Inaktivierung resultiert in einer Anreicherung von Geminin, einer Verringerung der Histon-H2A-Ubiquitinierung und damit einer Beeinträchtigung des Zellzyklus, welche sich auch durch eine verringerte Teilungsrate der betroffenen Zellen äußert. Zusätzlich weisen Zellen ohne *PHC1*-Protein veränderte DNA-Reparaturmechanismen auf (144).

### **6.11.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bisher wurde nur eine einzige Mutation im *PHC1*-Gen gefunden. Diese ist nicht-synonym (3).

Awad et al. (144) konnten die Mutation c.2974C>T (p.Leu992Phe) im *PHC1*-Gen bei zwei von unterschiedlich ausgeprägter primärer Mikrozephalie und Kleinwuchs betroffenen Kindern eines konsanguinen, saudi-arabischen Paares detektieren.

## **6.12 MCPH12 - CDK6**

### **6.12.1 Genstruktur**

Das *CDK6*-Gen wurde bei 7q21.2 geortet (90).

### **6.12.2 Proteinstruktur und -funktion**

CDK6 ist ein 326 Aminosäuren umfassendes Protein mit einer molekularen Masse von 40kD (145). Es ist während der Mitose mit dem Zentrosom assoziiert. CDK6-defiziente Zellen weisen eine vermehrte Zahl an Zentrosomen, damit einhergehend multipolare, desorganisierte Spindelapparate, desorganisierte Mikrotubuli und dysmorphe Zellkerne auf, wodurch der Zellzyklus beeinträchtigt und die Zellteilungsrate verringert wird (146).

### **6.12.3 Pathogene Allel-Varianten**

Es ist lediglich eine nicht-synonyme Mutation im *CDK6*-Gen bekannt (3).

Hussain et al. (146) konnten diese Mutation (c.589G>A; p.Ala197Thr) in Exon 5 des *CDK6*-Gens bei zehn von primärer Mikrozephalie, milder mentaler Retardierung und fliehender Stirn betroffenen Mitgliedern einer konsanguinen, pakistanischen Familie detektieren.

## **6.13 MCPH13 - CENPE**

### **6.13.1 Genstruktur**

Das *CENPE*-Gen ist auf Chromosom 4q24 lokalisiert (91).

### **6.13.2 Proteinstruktur und -funktion**

Das Protein CENPE wurde von Yen et al. (147) identifiziert und auf eine molekulare Masse von 250 - 300kD geschätzt. Es vermittelt die Stabilisation der Mikrotubuli des Spindelapparates am Kinetochor und/oder die Verbindung der Kinetochor-Bündel mit dem Großteil der Mikrotubuli des Spindelapparates, ohne die Anzahl der bindenden Mikrotubuli zu beeinflussen. Zellen ohne CENPE verbleiben für längere Zeit im Stadium der Mitose, können keine bipolaren Verbindungen zu den Chromosomen aufbauen und entwickeln abnorm flache Spindelapparate. Zusätz-

lich resultiert ein Fehlen von CENPE in einer chronischen Aktivierung des mitotischen Checkpoints (148).

### **6.13.3 Pathogene Allel-Varianten**

Es sind drei Mutationen im *CENPE*-Gen bekannt, alle drei sind sinnverändernd (3).

Mirzaa et al. (149) identifizierten die compound-heterozygoten Mutationen c.2797G>A (p.Asp933Asn) und c.4063A>G (p.Lys1355Glu), beide in der alpha-helikalen Coiled-Coil Region des *CENPE*-Gens liegend, bei zwei von primärer Mikrozephalie, Kleinwuchs, Entwicklungsverzögerung, verzögerter bis fehlender Sprachentwicklung, fliehender Stirn und Mikrognathie, sowie in einem Fall von Krampfanfällen betroffenen Kindern eines zueinander nicht verwandten, europäischen Paares.

## **6.14 MCPH14 - SASS6**

### **6.14.1 Genstruktur**

Das *SASS6*-Gen ist bei 1p21.2 lokalisiert (92).

### **6.14.2 Proteinstruktur und -funktion**

*SASS6* ist ein 657 Aminosäuren langes Protein und enthält ein N-terminales PISA-Motiv, gefolgt von einer Coiled-Coil-Domäne (150). *SASS6* wird zu Bildung der Prozentriolen in menschlichen Zellen benötigt und ist hierbei vorübergehend an den entstehenden Prozentriolen lokalisiert. Die Bildung je einer Prozentriole neben den beiden Zentriolen ist für die Duplikation des Zentrosoms im Rahmen des Zellzyklus nötig. Die beiden resultierenden Zentrosomen bilden den Spindelapparat und sind daher essentiell für die korrekte Aufteilung des genetischen Materials (126, 151).

### **6.14.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bisher ist nur eine einzelne, nicht-synonyme Mutation im *SASS6*-Gen bekannt (3). Khan et al. (13) detektierten bei drei von schwerer primärer Mikrozephalie und schwerer mentaler Retardierung betroffenen Mitgliedern einer konsanguinen, pakistanischen Familie die Mutation c.185T>C (p.Ile62Thr) in Exon 3 des *SASS6*-Gens. Die betroffenen Individuen zeigten zudem zum Teil aggressives Verhalten und litten an Krampfanfällen.

## **6.15 MCPH15 - MFSD2A**

### **6.15.1 Genstruktur**

Das *MFSD2A*-Gen wurde bei Chromosom 1p34.2 lokalisiert und enthält 14 Exons bei einer Länge von etwa 7,7kb (93, 152).

### **6.15.2 Proteinstruktur und -funktion**

*MFSD2A* enthält zwölf Transmembran-Domänen mit zytoplasmatischen C- und N-Termini, sowie zwei N-Glykosylierungsstellen und die letzten drei Reste (Serin-Isoleucin-Leucin) formen ein Klasse 1 PDZ-Bindemotiv (152). Das *MFSD2A*-Protein wird im Endothel der Blut-Hirn-Schranke in kleinsten Hirngefäßen exprimiert und dient als Haupttransporter von Docosahexaensäure ins Gehirn (153).

### **6.15.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bis dato wurde über vier unterschiedliche Mutationen im *MFSD2A*-Gen berichtet. Davon sind drei nicht-synonyme Mutationen und eine regulatorische Substitution (3).

Bei zwei von primärer Mikrozephalie, mentaler Retardierung, Entwicklungsverzögerung, spastischer Tetraparese, Krampfanfällen, Hypotonie und Hyperreflexie betroffenen Kindern eines konsanguinen, ägyptischen Paares konnten Guemez-Gamboa et al. (15) 2015 die Mutation c.476C>T (p.Thr159Met) in Exon 4 des *MFSD2A*-Gens finden. Beide Individuen verstarben in den ersten Lebensjahren. Die Mutation c.1016C>T (p.Ser339Leu) in Exon 10 des *MFSD2A*-Gens konnte durch Alakbarzade et al. (14) bei aus konsanguinen Verbindungen hervorgegangen, pakistanischen Individuen mit primärer Mikrozephalie, mentaler Retardierung, verzögerter bis fehlender Sprachentwicklung, spastischer Tetraparese, Hypertonie und Hyperreflexie detektiert werden.

## **6.16 MCPH16 - ANKLE2**

### **6.16.1 Genstruktur**

Das *ANKLE2*-Gen wurde auf Chromosom 12q24.33 lokalisiert (94).

### **6.16.2 Proteinstruktur und -funktion**

Das auch als LEM4 bezeichnete Protein *ANKLE2* umfasst bei einer molekularen Masse von etwa 100kD 938 Aminosäuren und enthält einen kurzen N-terminalen

Schwanz, gefolgt von einer Transmembrandomäne, einer etwa 40 Aminosäuren umfassenden LEM-Domäne sowie zwei zentralen Ankyrin-repeats. ANKLE2 kontrolliert durch Interaktion mit den Proteinen CRK1 und PP2A die Aktivität von BANF1 und damit den postmitotischen Aufbau der Kernhülle (154).

### **6.16.3 Pathogene Allel-Varianten**

Es sind zwei Mutationen im *ANKLE2*-Gen bekannt, beide sind sinnverändernde Mutationen (3).

Yamamoto et al. (16) detektierten 2014 bei zwei Kindern eines zueinander nicht verwandten, mexikanischen Paares die compound-heterozygoten Mutationen c.2344C>T (p.Gln782Ter) in Exon 11, sowie c.1717C>G (p.Leu573Val) in Exon 10 des *ANKLE2*-Gens. Die Kinder wiesen primäre Mikrozephalie, Kleinwuchs, spastische Tetraplegie, Krampfanfälle, fliehende Stirn, Mikrognathie, sowie multiple hyperpigmentierte Makulae auf und eines der beiden starb etwa 24 Stunden nach der Geburt an mit schlechter Kontraktilität assoziiertem Herzversagen ungeklärter Ursache.

## **6.17 MCPH17 - CIT**

### **6.17.1 Genstruktur**

Das *CIT*-Gen wurde bei Chromosom 12q24.23 lokalisiert (95).

### **6.17.2 Proteinstruktur und -funktion**

Das CIT-Protein, auch als CRİK bekannt, ist eine Serin/Threonin-Protein-Kinase aus der Familie der Myotone-Dystrophie-Kinasen und kann in Zellen der Maus als Resultat unterschiedlicher Spleiß-Vorgänge in zumindest zwei Formen, einer längeren und einer kürzeren, produziert werden. Die längere Form hat eine Masse von 240kD und wird im Gewebe der Haut, des Gehirns, der Lunge, der Milz, der Niere und der Hoden exprimiert. Die in Keratinozyten exprimierte, längere Form des CRİK-Proteins ist an korpuskulären zytoplasmatischen Strukturen lokalisiert und ruft die Rekrutierung von Aktin an diese Strukturen herbei. Diese CRİK-Form enthält eine Kinasen-Domäne, eine coiled-coil Domäne, eine Leucin-reiche Domäne, eine Rho-Rac bindende Domäne, eine Zinkfinger-Region, eine Pleckstrin-Homologie Domäne und eine vermeintliche SH3-Bindungs-Domäne (155). Di Cunto et al. (156) vermuten, dass CIT bei neuronalen Progenitorzellen in einem bestimmten Zeitraum der Entwicklung ein unverzichtbares Effektorprotein von Rho

darstellt, welches wiederum bekanntermaßen essentiell für den Prozess der Entstehung des für die Zytokinese erforderlichen, kontraktiven Aktin-Myosin-Rings ist.

### **6.17.3 Pathogene Allel-Varianten**

Bisher wurden zehn verschiedene Mutationen im *CIT*-Gen gefunden. Von diesen sind sieben sinnverändernde Mutationen, eine kleine Insertion und zwei Spleiß-Mutationen (3).

Li et al. (17) konnten 2016 bei von primärer Mikrozephalie betroffenen Kindern aus konsanguinen Verbindungen Varianten im *CIT*-Gen detektieren. Die homozygote sinnverändernde Variante c.317G>T (p.Gly106Val) auf Chromosom 12 konnte bei vier Individuen einer ägyptischen Familie gefunden werden. Drei der Kinder mit einem Alter zwischen 2 und 9 Jahren zeigten neben primärer Mikrozephalie mit um bis zu 7,4 SD verringerten Kopfumfängen zusätzlich Entwicklungsverzögerungen, mentale Beeinträchtigungen, fliehende Stirn, Hyperreflexie und milde Hypertonie der Muskulatur. Eines der vier Kinder verstarb am ersten Lebenstag aus ungeklärter Ursache. Bei drei von primärer Mikrozephalie (Kopfumfänge zwischen -7 und -8,4 SD in der ersten Lebensdekade), Entwicklungsverzögerung, mentaler Beeinträchtigung, muskulärer Hypertonie, Hyperreflexie und fliehender Stirn betroffenen Kindern einer weiteren ägyptischen Familie konnte die sinnverändernde Variante c.376A>C (p. Lys126Gln) des *CIT*-Gens auf Chromosom 12 detektiert werden. Außerdem wurde bei einem türkischen, durch einen um 6,5 SD reduzierten Kopfumfang, Entwicklungsverzögerung, intellektuelle Beeinträchtigung und großen, vorstehenden Ohren auffallenden Kind konsanguiner Eltern die Variante c.689A>T (p.Asp230Val) des *CIT*-Gens gefunden.

## **7 Genotyp-Phänotyp Korrelation**

Im folgenden Kapitel werden die durch die unterschiedlichen MCPH-Varianten verursachten Veränderungen, je nach auf zellulärer Ebene beeinträchtigtem Bereich, beschrieben und bekannte Genotyp-Phänotyp Korrelationen dargestellt.

### **7.1 Beeinträchtigung der Zentrosomen**

Das Zentrosom ist eines der wichtigsten Mikrotubuli-organisierenden Zentren in vielen tierischen Zellen. Es kontrolliert die zelluläre Morphologie und Migration sowie den subzellulären Transport und ist in der Mitosephase für die Ausbildung der zur Chromosomensegregation notwendigen bipolaren Spindel verantwortlich (157,

158). Das Zentrosom besteht aus einem Zentriolenpaar, welches von perizentriolärem Material umgeben ist. In dieses perizentrioläre Material sind die Minus-Enden der Mikrotubuli eingebettet (158). Die Zentriolen sind zylindrische Strukturen, welche aus neun Mikrotubuli-Tripletts bestehen, die um eine Wagenrad-förmige Struktur herum angeordnet sind (159). Einmal pro Zellzyklus müssen die Zentriolen dupliziert werden, da für die Ausbildung des bipolaren Spindelapparates zwei Zentrosomen benötigt werden und je ein Zentrosom an die Tochterzellen weitergegeben werden muss (160). Für die korrekte Duplikation der Zentriolen ist die Ausbildung je einer Prozentriole neben den beiden vorbestehenden Zentriolen essentiell (161). Die Struktur, die regelrechte Ausbildung oder die Duplikation der Zentrosomen bzw. der Zentriolen ist bei vielen der MCPH-verursachenden genetischen Varianten beeinträchtigt. So kodieren die bei einigen MCPH-PatientInnen veränderten Gene *CDK5RAP2*, *CENPJ*, *STIL*, *CEP135*, *CEP152* und *SASS6* für Proteine, welche für die Funktion der Zentrosomen essentiell sind (81, 112–114, 126, 127, 130, 131, 134, 138, 151). *CENPJ* und *CEP135* sind für die Ausbildung der Zentriolen essentiell. Sie formen eine Kernstruktur innerhalb des proximalen Lumens der Zentriolen (126). *CENPJ* reguliert die Länge der Zentriolen, sowie die Elongation der Prozentriolen durch seine intrinsische Tubulin-Dimer-Bindungsaktivität. Es wird an die Prozentriolen rekrutiert, wo in Folge *PLK4* am proximalen Ende der parentalen Zentriole und *SASS6* an der Basis der neu entstehenden Zentriole aktiviert werden (127). *CEP135* interagiert direkt mit *CENPJ*, mit den Mikrotubuli und mit *SASS6*. Forschungsergebnisse von Lin et al. (159) lassen vermuten, dass *CEP135* als Verbindungsprotein *SASS6*, welches die Basis der Wagenrad-förmigen Struktur im Inneren der Zentriolen bildet, mit den äußeren Mikrotubuli verbindet und so diese Struktur stabilisiert, sodass *CENPJ* wiederum für eine weitere Elongation der Zentriolen sorgen kann. Bei *CEP135*-defizienten Zellen können Veränderungen in der Zentrosomen-Anzahl, desorganisierte Mikrotubuli der in Interphase und Mitosephase sowie eine verminderte Wachstumsrate beobachtet werden (86). *CEP152* fungiert als Gerüst für *PLK4* und *CENPJ*. Es erleichtert den Zusammenbau und die Duplikation der Zentriolen sowie die Organisation von perizentriolärem Material. Eine Inaktivierung von *CEP152* führt zum Versagen der Duplikation der Zentrosomen. Es wird für die zentrosomale Anbindung von *PLK4* benötigt und stellt eine molekulare Plattform bereit, deren Amino-Terminus mit der Polo-Box-Domäne von *PLK4* interagiert, während ihr Carboxy-

Terminus mit CENPJ interagiert. CEP152-defiziente Zellen weisen Veränderungen in der Mitose im Sinne zu früh voneinander getrennter Schwesterchromatiden und falsch angeordneter Chromosomen, sowie Veränderungen in der Zentrosomen- und Zellkernanzahl auf (140). PLK4 kontrolliert den Zusammenbau der Zentriolen sowie deren Duplikation (138). Es interagiert zu Beginn der Prozentriolenbildung auch mit dem Protein STIL, um SASS6, eine der Hauptkomponenten der Wagenrad-förmigen Kernstruktur der Zentriolen, an die Zentriolen zu rekrutieren. PLK4 phosphoryliert hierbei STIL, womit die Bindung von STIL an SASS6 an den Zentriolen ermöglicht und außerdem ein negativer Feedbackmechanismus eingeleitet wird, welcher die Distribution von PLK4 auf eine Stelle pro parentaler Zentriole beschränkt und somit dafür sorgt, dass jeweils nur eine Tochterzentriole entsteht (161). STIL-defiziente Zellen zeigen Veränderungen des Spindelapparates und eine verringerte Anzahl an Zentriolen (130). Zu Beginn der Mitose reift das Zentrosom unter dem Einfluss verschiedener Proteine, darunter CDK5RAP2, heran, indem durch diese Proteine gamma-Tubulin ans Zentrosom rekrutiert wird. CDK5RAP2 interagiert dabei mit dem Protein Pericentrin. Pericentrin, sowie die Interaktion dieses Proteins mit CDK5RAP2 sind unverzichtbar für die Reifung des Zentrosoms. Zusätzlich wird CDK5RAP2 für die Kohäsion der Zentrosomen benötigt. Ist das Protein defekt, so kann der bipolare Spindelapparat nicht korrekt ausgebildet werden und die Chromosomen ordnen sich nicht regelrecht am Spindeläquator an (158). Daraus folgt eine Aberration der Teilungsebene der Zellen. Diese verbleiben abnorm lange in der Mitosephase, gehen zum Teil in Apoptose oder teilen sich im Falle der neuronalen Progenitorzellen verfrüht asymmetrisch, wodurch bei CDK5RAP2-defizienten Mäusen Mikrozephalie sowie eine Form der Anämie mit Prädisposition für hämatopoetische Krebserkrankungen resultiert (113). Variationen im *CDK5RAP2*-Gen rufen beim Menschen zum Teil sehr unterschiedliche Veränderungen hervor. So weisen manche PatientInnen lediglich die für MCPH klassische fliehende Stirn auf, während bei anderen Betroffenen scharf begrenzte, hyperpigmentierte Hautareale, Vierfingerfurchen, unterschiedlich stark ausgeprägte Entwicklungsverzögerung, Hyperaktivität, Aggressivität und Konzentrationsschwäche auffallen (46, 116). Auch das Seckel-Syndrom mit seinem charakteristischen Phänotyp kann durch *CDK5RAP2*-Variationen hervorgerufen werden (45). Variationen in den für CENPJ und CEP152 kodierenden Genen können neben MCPH ebenso dieses Syndrom hervorrufen (128, 140). Manche MCPH-

Betroffene mit *CENPJ*-Variationen zeigen neben primärer Mikrozephalie ebenfalls lediglich eine fliehende Stirn, andere weisen vielfältige Veränderungen wie schwere mentale Retardierung, Entwicklungsverzögerung, Mikrotie, Hypertelorismus, eingekerbte Nasenspitze, Fehlbildungen des knöchernen Thorax, Strabismus, Fingerdeformitäten, Krampfanfälle und Gelenksteifigkeit auf (46, 105). Guernsey et al. (162) berichten von einigen MCPH9-Betroffenen, die neben primärer Mikrozephalie auch Verhaltensauffälligkeiten und abnorme Bewegungsmuster zeigen. Ansonsten werden bei MCPH9-PatientInnen keine weiteren Veränderungen oder Dismorphien beschrieben (139, 162). Von *STIL*-Variationen betroffene MCPH-PatientInnen leiden an primärer Mikrozephalie, milder bis schwerer mentaler Retardierung und Entwicklungsverzögerung (132). Die von Hussain et al. (86) identifizierten *CEP135*-Variationen verursachen schwere primäre Mikrozephalie, fliehende Stirn und Retrognathie. MCPH14-Betroffene fallen durch schwere primäre Mikrozephalie, schwere mentale Retardierung, aggressives Verhalten und Krampfanfälle auf (13). Beeinträchtigungen der Funktion der Zentrosomen können somit eine große Bandbreite phänotypischer Veränderungen hervorrufen, wobei primäre Mikrozephalie als ubiquitäres Merkmal auftritt, jedoch auch gehäuft fliehende Stirn und Verhaltensauffälligkeiten beobachtet werden (13, 45, 46, 86, 105, 116, 128, 132, 139, 140, 162).

## **7.2 Beeinträchtigung der Spindel-Orientierung und Zytokinese**

Der bipolare Spindelapparat ist eine genau organisierte, Mikrotubuli-basierte Struktur, die essentielle Funktionen in der Aufteilung der Schwester-Chromatiden während der Mitose erfüllt. Die Mikrotubuli des Spindelapparates sind mit ihren Minus-Enden in den Zentrosomen verankert, wodurch die Spindelpole gebildet werden. Die korrekte Positionierung der Zentrosomen und damit der Spindelpole ist wesentlich für den geordneten Ablauf der Mitose. Das Protein WDR62 ist von der Prophase bis zur Metaphase der Mitose an den Spindelpolen lokalisiert. Es stabilisiert den Spindelapparat in der Metaphase und ist somit unverzichtbar für die Erhaltung der Spindel-Architektur. Für die Ausübung dieser Funktion muss es durch eine c-Jun N-terminale Kinase phosphoryliert werden. WDR62 wird für den korrekten Ablauf der Mitose benötigt. Zellen, bei welchen das Protein defekt ist, weisen Defekte in der Spindel-Orientierung, abnorme Metaphase-Spindeln, Entkopplung von Zentrosom und Spindelapparat, Zentrosom-Veränderungen und

konsekutiv eine Verringerung der Teilungsrate auf (163). Defekte des Proteins ASPM führen zu einem frühzeitigen Orientierungswechsel der Teilungsebene neuronaler Progenitorzellen, wodurch es mit größerer Wahrscheinlichkeit zu asymmetrischen (neurogenen) anstatt von symmetrischen (proliferativen) Zellteilungen kommt, was wiederum zu einer Verringerung der Anzahl der neuronalen Progenitorzellen führt. ASPM ist somit essentiell für die Bewahrung einer Furchungsebene, welche die symmetrische Zellteilung von neuroepithelialen Zellen während der Gehirnentwicklung ermöglicht (124). Durch welche Mechanismen ASPM die Orientierung der Teilungsebene beeinflusst, ist noch nicht geklärt. ASPM soll unter anderem auch als positiver Regulator des Wnt-Signalwegs wirken. Dieser Wnt-Signalweg erfüllt wichtige Funktionen in der Embryogenese, wie etwa durch die Förderung der Proliferation neuronaler Progenitorzellen (164). Zusätzlich konnten Capecchi et al. (165) Funktionen von ASPM als negativer Regulator der Ubiquitin-abhängigen Proteolyse von Cyklin E nachweisen, womit die Forschungsgruppe einen neuen Mechanismus präsentiert, mit dessen Hilfe ASPM die Teilung der neuronalen Progenitorzellen regulieren kann. Dieser Mechanismus basiert auf der Hypothese, dass Zellen, welche lange genug in der G1-Phase verweilen, um intrinsische oder extrinsische Differenzierungssignale zu erhalten und zu verarbeiten unabhängig von ihrer Teilungsorientierung Tochterzellen hervorbringen, die den Zellzyklus verlassen, sich also differenzieren. Die G1-Phase wird als kritische Periode des Zellzyklus gesehen, in welcher die Zelle entscheidet, ob sie in die S-Phase übertritt, in eine Ruhephase geht, oder sich differenziert. Eine Verkürzung dieser Phase schirmt Stammzellen gegenüber Einflüssen differenzierungsinduzierender Signale ab. Große Mengen eines aktiven Cyklin E/Cdk-2-Komplexes führen zu Hyperphosphorylierung des Proteins RB und in Folge zu einer kurzen G1-Phase. Das Protein ASPM kann somit durch die Verhinderung der Proteolyse von Cyklin E genügend hohe Mengen des aktiven Cyklin E/Cdk-2-Komplexes gewährleisten, wodurch in weiterer Folge die G1-Phase verkürzt und die Zelle gegenüber Differenzierungssignalen abgeschirmt wird und somit weiter proliferative Zellteilung betreibt, die im Falle der neuronalen Progenitorzellen notwendig ist, um die für eine normale Gehirnentwicklung notwendige Anzahl an Neuronen zu produzieren. Di Cunto et al. (156) konnten mithilfe von Maus-Modellen, bei welchen in einigen Fällen das *CIT*-Gen inaktiviert wurde, feststellen, dass CIT während der Entwicklung des ZNS speziell in proliferierenden neuronalen Progenitorzellen expri-

miert wird und für die Zytokinese dieser Progenitorzellen essentiell ist. CIT-Aktivität wird von diesen neuronalen Progenitorzellen in einem Zeitfenster vom Ende der S-Phase bis zur vollständigen Differenzierung benötigt. Somit liegt die Vermutung nahe, dass das Protein CIT speziell in neuronalen Progenitorzellen ein essentielles Effektorprotein der Rho-GTPase Rho darstellt, welche wiederum bekanntermaßen essentiell für den Prozess der Entstehung des für die Zytokinese erforderlichen kontraktilen Aktin-Myosin-Rings ist. Bei CIT-defizienten neuronalen Progenitorzellen schlägt die Zytokinese fehl, wodurch es zu Tetraploidie oder Apoptose kommt. Variationen des *WDR62*-Gens können sehr unterschiedliche phänotypische Auswirkungen hervorrufen. Häufiger werden neben primärer Mikrozephalie unterschiedlich ausgeprägte mentale Retardierung sowie prominente, abstehende Ohren beobachtet (79, 108). Jedoch wurde auch zusätzlich über Entwicklungsverzögerung, generalisierte Epilepsie, spastische Tetraparese, Hypersalivation und Verhaltensauffälligkeiten berichtet (108, 110). MCPH-Betroffene mit *ASPM*-Variationen zeigen im Allgemeinen neben Mikrozephalie wenige Beeinträchtigungen. Zum Teil wird jedoch über Verhaltensauffälligkeiten berichtet (22). MCPH17-PatientInnen weisen zusätzlich zu Mikrozephalie oft Entwicklungsverzögerungen, mentale Beeinträchtigungen, fliehende Stirn, Hyperreflexie und Veränderungen des Muskeltonus auf (17).

### **7.3 Beeinträchtigung der Kinetochoren**

Die Bewegungen der Chromosomen im Zuge der Mitose werden vor allem durch die Interaktion der Mikrotubuli des Spindelapparates mit dem Kinetochor gesteuert, welcher die Spindel-Mikrotubuli mit dem Zentromer verbindet. Zusätzlich zur physischen Verbindung der Chromosomen mit dem Spindelapparat erfüllt das Kinetochor durch Mikrotubulus-Motoren aktive Funktionen bei der Chromosomen-segregation. Außerdem erstellt das Kinetochor einen Checkpoint, welcher das Fortschreiten des Zellzyklus in die Anaphase der Mitose bis zum korrekten Andocken aller Kinetochoren an die Spindel-Mikrotubuli blockiert (148). Das Protein KNL1 ist Teil des KMN-Proteinnetzwerks, welches die Verbindung der Kinetochoren mit dem Spindelapparat erlaubt. Es ist von der G2- bis zur späten Anaphase an den Kinetochoren lokalisiert und interagiert unter anderem direkt mit der Protein-Phosphatase 1, welche in Folge Substrate der Aurora Kinase B dephosphoryliert, um die Verbindung der Mikrotubuli mit den Kinetochoren zu stabilisieren. Bei

KNL1-defizienten Zellen ist eine falsche Ausrichtung der Chromosomen und ein verfrühter Eintritt in die Mitose zu beobachten (120). Das Protein CENPE ist ein essentieller Verbindungsfaktor, welcher die Stabilisation der Spindel-Mikrotubuli am Kinetochor und/oder die Verbindung der Kinetochoren mit dem Großteil der Mikrotubuli des Spindelapparates vermittelt. Das Protein beeinflusst dabei jedoch nicht die Anzahl der bindenden Mikrotubuli. CENPE trägt als Motoprotein außerdem zur Geometrie und Stabilität des bipolaren Spindelapparates bei und verbindet die Prozesse am Kinetochor nach dem Auflösen der Kernhülle mit dem mitotischen Checkpoint im Zellzyklus, welchen es vermutlich ruhigstellt, da ein Fehlen von CENPE in einer chronischen Aktivierung des mitotischen Checkpoints resultiert. CENPE-defiziente Zellen verbleiben für längere Zeit in der Mitosephase, können keine bipolaren Verbindungen zu den Chromosomen aufbauen und entwickeln abnorm flache Spindelapparate (148). Von *KNL1*-Variationen betroffene Menschen weisen neben Mikrozephalie oft unterschiedlich ausgeprägte mentale Retardierung und eine fliehende Stirn auf (120, 121). Bei MCPH13-PatientInnen konnten primäre Mikrozephalie, Kleinwuchs, Entwicklungsverzögerung, beeinträchtigte Sprachentwicklung, fliehende Stirn, Mikrognathie und Krampfanfälle beobachtet werden (149). Somit kann eine Veränderung der Funktion der Kinetochoren neben dem klassischen Bild der MCPH mit primärer Mikrozephalie und fliehender Stirn auch phänotypische Veränderungen wie Mikrognathie verursachen und die Betroffenen durch eine Neigung zu Krampfanfällen beeinträchtigen (120, 121, 149).

#### **7.4 Beeinträchtigung der Transkriptions-Regulierung**

Um die regelrechte Entwicklung des zentralen Nervensystems zu gewährleisten, benötigen die stattfindenden Prozesse eine präzise zeitliche und örtliche Regulierung der Transkription der beteiligten Gene. Die Kernrezeptoren sind Ligandengesteuerte Transkriptionsfaktoren, welche die Expression vieler solcher Gene kontrollieren. Sie regulieren ihre Zielgene durch Assoziation mit diversen Koregulatoren, die durch Liganden-Bindung von den Kernrezeptoren rekrutiert werden. Diese Koregulatoren stabilisieren die Transkriptionsmaschinerie und verändern die Zugänglichkeit dieser für die DNA durch Chromatin-Remodellierung und Histon-Modifikation. ZNF335 ist ein Kernprotein, das indirekt mit Kernrezeptoren vom Typ 1 oder 2 interagiert und die Substrate der Kernrezeptoren potenziert und damit die

Gentranskription beeinflusst (166). ZNF335 ist Bestandteil eines H3K4-Methylierungskomplexes, welcher direkt REST/NRSF reguliert. Trithorax und Polycomb Chromatin-Remodellierungskomplexe arbeiten gegensinnig als Aktivatoren bzw. Inaktivatoren der Expression verschiedener Gene. REST/NRSF ist ein Hauptregulator der neuronalen Genexpression und Differenzierung sowie anderer essentieller Neuronen-spezifischer Gene (142). ZNF335 spielt eine spezifische Rolle bei der Regulierung aktivitätsabhängiger Gentranskription im Rahmen der neuronalen Morphogenese (166). Variationen im *ZNF335*-Gen führen zu schwerer primärer Mikrozephalie und neuronaler Degeneration und der Großteil der identifizierten Betroffenen verstarb innerhalb des ersten Lebensjahres (142).

Das Protein PHC1 ist Teil der Polycomb-Proteingruppe. Die Mitglieder dieser Gruppe formen multimere Proteinkomplexe. PHC1 formt einen solchen Komplex mit den Proteinen PCGF2, CBX2 und BMI1. Dieser Proteinkomplex agiert als Transkriptions-Hemmer und inaktiviert bestimmte Gene durch Chromatin-Remodellierung. PHC1 formt als Antwort auf DNA-Schäden einen Komplex mit dem Histon H2A und ist essentiell für dessen darauffolgende Ubiquitinierung. In PHC1-defizienten Zellen reichert sich Geminin an und es kommt zu einer Verringerung der Histon-H2A-Ubiquitinierung. Zellen ohne PHC1-Protein sind aufgrund der Veränderungen der Chromatin-Regulation sensibler gegenüber DNA-Schäden und weisen eine Beeinträchtigung des Zellzyklus auf, welche sich auch durch eine verringerte Teilungsrate der betroffenen Zellen äußert. (143, 144). *PHC1*-Genvariationen verursachen soweit bekannt unterschiedlich ausgeprägte primäre Mikrozephalie und Kleinwuchs (144).

## **7.5 Beeinträchtigung der DNA-Schadensantwort und der Zellzyklus-Kontrolle**

Das Protein Microcephalin ist eine Komponente des Zentrosoms, die spezifisch mit Condensin 2 interagiert und Funktionen in der ATM- und ATR-vermittelten DNA-Schadensantwort und in den Checkpoints des Zellzyklus erfüllt. Microcephalin interagiert als Reaktion auf DNA-Schäden mit dem Chromatin-Remodellierungskomplex SWI/SNF und ist an der E2F1-vermittelten Transkription von DNA-Reparatur-Genen beteiligt. MCPH aufgrund von Variationen im *MCPH1*-Gen könnte somit durch vermehrte Apoptose neuronaler Progenitorzellen aufgrund von Störungen der DNA-Schadensantwort bedingt sein. Ein weiterer mögli-

cher Grund für die durch *MCPH1*-Variationen verursachte primäre Mikrozephalie könnte die Beeinträchtigung des Teilungsmodus neuronaler Progenitorzellen sein. Microcephalin wird für die präzise Spindelorientierung während der Teilung dieser Progenitorzellen benötigt. Es erfüllt diese Funktion durch Kontrolle der zentrosomalen CHEK1-CDK1-Aktivitäten um regelrechte Mitose-Progression und Kopplung dieser mit dem Zentrosomen-Zyklus zu sichern. *MCPH1*-Deletion verändert das Verhalten von CHEK1, woraus eine verfrühte Aktivierung von CDK1 am G2-M-Checkpoint und damit ein verfrühter Mitoseeintritt resultieren. Die Asynchronisation von Zellzyklus und Zentrosomen-Zyklus durch einen verfrühten Mitoseeintritt der Zelle stört die Ausrichtung des mitotischen Spindelapparates, da Mutter- und Tochterzentrosom zum Zeitpunkt des Mitoseeintritts unterschiedlich weit entwickelt sind und führt dadurch zu einer Begünstigung asymmetrischer Zellteilung oder im schlimmsten Fall zum Tod der neuronalen Progenitorzelle (167). Mutationen im *MCPH1*-Gen führen zu unterschiedlich ausgeprägter primärer Mikrozephalie und milder bis moderater mentaler Retardierung. Ansonsten zeigen Betroffene meist nur wenige zusätzliche Veränderungen (97, 98, 100–104).

## **7.6 Beeinträchtigung der Zellzyklus-Kontrolle**

Ungebundene CDKs sind katalytisch inaktiv. Binden sie jedoch an passende Cykline, entwickeln sie Kinase-Aktivität, welche für das Fortschreiten des Zellzyklus benötigt wird. CDK4 und CDK6 verbinden sich mit Typ-D-Cyklinen und formen Komplexe, welche der Zelle den Übertritt von der G1-Phase in die S-Phase erlauben, indem sie Proteine der Retinoblastom-Familie phosphorylieren, wodurch diese die Inhibition von E2F-Transkriptionsfaktoren beenden. E2F-Transkriptionsfaktoren aktivieren Gene, welche für die Progression von der G1-zur S-Phase und für die DNA-Synthese benötigt werden (168). Bei Zellen ohne funktionierendes CDK6-Protein findet man erhöhte eine Zentrosomen-Anzahl sowie multipolare, desorganisierte Spindelapparate, desorganisierte Mikrotubuli und dysmorphe Zellkerne. Der Zellzyklus ist bei diesen Zellen beeinträchtigt und die Zellteilungsrate ist verringert. Von *CDK6*-Variationen betroffene Menschen weisen neben primärer Mikrozephalie auch milde mentale Retardierung und fliehende Stirn auf (146).

## 7.7 Beeinträchtigung der Wiederaufbaus der Kernhülle

Eine der Voraussetzungen für die Mitose mehrzelliger Lebewesen ist der regelrechte Auf- und Abbau der Kernhülle. Der Abbau dieser Kernhülle wird durch eine Vielzahl von Phosphorylierungsvorgängen getriggert. Die Phosphorylierung des Proteins BANF1 reduziert dessen Affinität für Chromatin und für die Proteine der inneren Kernmembran aus der LEM Familie. Der Verlust der BANF1-medierte Chromatin-Kernhüllen-Verbindung trägt zum Abbau der Hülle bei. BANF1 muss sich am Ende der Mitose mit Chromatin und LEM-Proteinen verbinden, um die Kernhülle wieder aufbauen zu können. Wie die dafür benötigte Dephosphorylierung von BANF1 genau reguliert wird, ist bis dato nicht geklärt, jedoch wird LEM4 für diesen Vorgang benötigt. LEM4 inhibiert die mitotische Kinase von BANF1, VRK1 und interagiert mit PP2A, um diesem die Dephosphorylierung von BANF1 zu ermöglichen. Durch diese beiden Funktionen kontrolliert LEM4 den postmitotischen Aufbau der Kernhülle (154). Ein Verlust der Funktion dieses Proteins führt bei Betroffenen zu primärer Mikrozephalie, Kleinwuchs, spastischer Tetraplegie, Krampfanfällen, fliehender Stirn, Mikrognathie sowie zu multiplen hyperpigmentierten Makulae (16).

## 7.8 Beeinträchtigung des Stofftransportes über die Blut-Hirn-Schranke

Das Protein MFSD2A dient als Haupttransporter von Docosahexaensäure ins Gehirn und wird speziell im Endothel der Blut-Hirn-Schranke in kleinsten Hirngefäßen exprimiert. DHA ist eine Omega-3-Fettsäure, die in hohen Konzentrationen in Phospholipiden des Gehirns vorkommt und essentiell für eine normale Entwicklung der Gehirngröße und kognitiven Funktion ist. DHA wird durch MFSD2A in Form von Lysophosphatidylcholin transportiert. Mäuse mit defizientem *MFSD2A*-Gen zeigen eine stark reduzierte Aufnahme von DHA und verschiedenen LPCs und in der Folge eine verminderte Neuronenzahl, kognitive Defizite, Angstzustände und Mikrozephalie (153). Pathogene *MFSD2A*-Variationen rufen bei Betroffenen primäre Mikrozephalie, mentale Retardierung, Entwicklungsverzögerung, spastische Tetraparese, Krampfanfälle, Hypo- oder Hypertonie, Hyperreflexie und verzögerte bis fehlende Sprachentwicklung hervor (14, 15).

## 8 Diskussion und Ausblick

Als äußerst seltene Ursache von vor der 36. Schwangerschaftswoche auftretender Mikrozephalie ist die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie eine Erkrankung, die nicht fest in den Köpfen aller angehenden und praktizierenden Ärzte und schon gar nicht in jenen der Allgemeinbevölkerung Mitteleuropas verankert ist (19). MCPH ist eine ätiologisch und zum Teil auch phänotypisch heterogene Krankheit, die neben unterschiedlich ausgeprägter primärer Mikrozephalie in manchen Fällen auch weitere schwerwiegende Veränderungen und Einschränkungen, wie etwa mentale Retardierung, Kleinwuchs, faziale Dismorphien, Krampfbereitschaft und viele mehr verursachen kann (12, 13, 105, 149). Sie tritt häufiger in jenen Regionen der Erde auf, in welchen konsanguine Verbindungen üblich sind. Die Erkrankung wird durch Mutationen in einem von 17 unterschiedlichen Genen verursacht (12–17). Diese Gene kodieren für Proteine, die jeweils eine wichtige Funktion in der Entwicklung des Gehirns, vor allem in der Neurogenese, erfüllen. In vielen Fällen wird durch Veränderungen an den Zentrosomen, am Spindelapparat oder an den Kinetochoren die Zellteilungsebene neuronaler Progenitorzellen dahingehend beeinflusst, dass asymmetrische Zellteilung überwiegt, wodurch die Anzahl der neuronalen Stammzellen und damit im Zuge der weiteren Entwicklung auch die Gesamtzahl der Neuronen verringert wird. Dadurch und durch andere Mechanismen führen bestimmte Variationen dieser Gene zum Krankheitsbild der autosomal rezessiven primären Mikrozephalie (112–114, 120, 124, 126, 130, 131, 134, 138, 148, 151, 156, 163). Seit den ersten publizierten MCPH-Fällen hat die Diagnostik und Forschung vor allem durch die Entwicklung neuer Sequenzierungstechnologien und -strategien große Fortschritte gemacht. Durch die immer weiter verbreitete Anwendung des Next-Generation Sequencing wurden in den letzten Jahren immer mehr Gene entdeckt, die MCPH verursachen können und damit auch eine wichtige Rolle in der Gehirnentwicklung spielen (12, 27). So wird durch Forschung auf diesem Gebiet auch das Verständnis der komplexen Vorgänge der Entwicklung des ZNS weiter vorangetrieben. Diese Entwicklung wird sich meiner Ansicht nach unter anderem durch den stetigen technischen Fortschritt weiter fortsetzen. Aufgrund der großen Anzahl der an diesen komplexen Prozessen beteiligten Proteine werden mit großer Wahrscheinlichkeit weitere MCPH-Gene entdeckt und die Rollen der betroffenen Proteine geklärt werden,

wodurch immer weitere Teile dieser Abläufe besser verstanden werden können. Das Protein NDE1 spielt beispielweise eine wichtige Rolle beim Aufbau des Spindelapparates, bei der Duplikation der Zentrosomen sowie bei der Zellzyklusprogression neuronaler Stammzellen (169, 170). Variationen im *NDE1*-Gen, welche zum Funktionsverlust dieses Proteins führen, beeinträchtigen auch die Zellkernmigration im Rahmen der Neurogenese sowie die postmitotische Migration der Neuronen und verursachen dadurch zum Teil schwere Mikrozephalie und Lissenzephalie (170, 171). Ein weiteres Beispiel ist das Protein CEP63, welches mit dem MCPH-Protein CEP152 kooperiert und den geordneten Ablauf der Duplikation der Zentriolen sichert, womit es funktionelle Ähnlichkeit mit vielen bei MCPH veränderten Proteinen aufweist (172). Dieses Gebiet bietet somit noch sehr viel Potential für weitere vielversprechende Forschung. Den MCPH-Betroffenen kann zwar dadurch keine Milderung ihrer Beeinträchtigungen versprochen werden, jedoch leisten sie durch ihre Teilnahme an Untersuchungen und Projekten einen essentiellen Beitrag zum wissenschaftlichen Fortschritt, wodurch womöglich anderen Menschen in Zukunft geholfen werden kann. Von weiterer Forschung könnten auch die sogenannten Chuas oder rat people, wie bestimmte mikrozephale Menschen im Nordosten Pakistans genannt werden, profitieren. Wie in der Einleitung beschrieben, werden diese nach der Geburt aufgrund eines religiösen Mythos abgegeben und in Folge oft als Bettler missbraucht, die früher größtenteils an einem Schrein ausharrten und heutzutage durch das Land wandern um bei religiösen Festen möglichst viel Geld für ihre Halter einzunehmen. Durch weitere Aufklärung der Bevölkerung bezüglich des Ursprungs der Mikrozephalie könnten die Eltern betroffener Kinder daran gehindert werden, ihre Neugeborenen abzugeben (11).

Ein besonders aktuelles Thema, für welches Forschung im Bereich der Mikrozephalie relevant sein könnte, sind etwa die Auswirkungen einer Infektion mit dem Zika-Virus im ersten Trimester der Schwangerschaft auf die Gehirnentwicklung (173, 174). Das Zika-Virus ist ein RNA-Virus aus der Familie der Flaviviridae, wird vor allem durch Mückenstiche der Arten *Aedes aegypti* oder *Aedes albopictus*, jedoch auch von Mensch zu Mensch, etwa durch Geschlechtsverkehr, übertragen und verursacht im Falle einer Infektion bei Erwachsenen lediglich in etwa 20 Prozent der Fälle Allgemeinsymptome wie Fieber, Hautausschlag, Arthralgien, Myalgien, Kopfschmerzen und Konjunktivitis, während bis zu 80 Prozent der Infizierten keinerlei Beschwerden entwickeln (173). Darüber hinaus wird dieses Virus jedoch

zum Teil mit dem Guillain-Barré Syndrom in Verbindung gebracht und kann auch neuronale Stammzellen infizieren und deren Zelltod induzieren (174). So kann eine Infektion mit diesem Virus vor allem im vulnerablen ersten Trimester der Schwangerschaft zu primärer Mikrozephalie und anderen Beeinträchtigungen führen (173, 175). Wie genau es zur Induktion des Zelltods bei neuronalen Stammzellen kommt und wie man diese Folgen möglicherweise verhindern kann, muss noch weiter erforscht werden. Womöglich könnten die durch Erforschung der MCPH-Proteine gewonnenen Erkenntnisse dabei hilfreich sein.

In dieser Arbeit wird die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie in vielen ihrer Aspekte ausführlich beschrieben. Zu Beginn werden die Definition der Erkrankung, das zum Teil etwas unterschiedliche klinische Erscheinungsbild, die nicht immer einfache Diagnostik von MCPH und die Begleitung von Erkrankten beschrieben. Weiterführend wäre hierbei von Interesse, welchen Grad der Selbstständigkeit MCPH-Betroffene mit entsprechender Förderung erreichen könnten und wie eine solche Unterstützung der Entwicklung im besten Fall aussehen würde. Aufgrund der sozialen und ökonomischen Situation in Regionen mit einer höheren MCPH-Inzidenz, wie etwa im Norden Pakistans, ist an eine entsprechende Förderung leider oft nicht zu denken. Hier wären auch Forschungsprojekte mit gezielter Förderung sowie eine umfangreiche Aufklärung der Bevölkerung wünschenswert, um mikrozephalen Menschen in Pakistan ein besseres Leben zu ermöglichen.

In der Arbeit wird auch ein Vergleich zu syndromalen Erkrankungen mit primärer Mikrozephalie, wie etwa zum Seckel-Syndrom gezogen. In diesem Zusammenhang wären sicher noch weitere genetische Erkrankungen, wie etwa das Aicardi-Goutières-Syndrom, erwähnenswert gewesen. Ebenso wäre ein klinischer Vergleich zu beispielsweise durch Infektionskrankheiten bedingter Mikrozephalie oder zu genetischen Erkrankungen mit Lissencephalie bzw. anderen Malformationen des Gehirns interessant. Solch ausführliche Erläuterungen würden jedoch den Rahmen dieser Arbeit sprengen.

Weiters werden Strategien zur Auffindung von krankheitsverursachenden Genen, vor allem mittels Next-Generation Sequencing erläutert, um die Thematik aus Sicht der Genetik genauer zu beleuchten und die genetische Diagnostik verständlich zu machen. Diesbezüglich schreitet die Technik immer weiter voran und wird zunehmend komplexer, wodurch hier nur ein begrenzter Einblick in diese Thematik gegeben werden kann.

Den Kern der Arbeit bildet die Diskussion der einzelnen MCPH-Genloci, ihrer Proteine und deren Funktionen. Diese Thematik ist im Detail äußerst komplex und kann daher nicht in ihrem gesamten Umfang in dieser Arbeit erfasst werden. Vor allem bezüglich der Proteinfunktionen und dem Zusammenspiel der einzelnen Komponenten ist auch noch vieles nicht abschließend erforscht. Aus diesem Grund und da stetig neue MCPH-Genloci und Proteine identifiziert und erforscht werden, ist ein Thema wie die autosomal rezessive primäre Mikrozephalie in ständiger Erweiterung und damit im Wandel begriffen, wodurch auch in baldiger Zukunft weitere zusammenfassende Arbeiten geschrieben werden sollten, um interessierten Klinikern, aber auch mit der Genetik befassten Berufsgruppen einen schnellen und übersichtlichen Einblick in diese interessante und lehrreiche genetische Erkrankung zu ermöglichen.

## 9 Quellenverzeichnis

1. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. PubMed; 2016. Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>.
2. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD). Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®; 2016. Available from: URL: <http://omim.org/>.
3. Stenson PD, Mort M, Ball EV, Shaw K, Phillips AD, Cooper DN. The Human Gene Mutation Database: Building a comprehensive mutation repository for clinical and molecular genetics, diagnostic testing and personalized genomic medicine. *Hum Genet* 2014; 133(1):1–9.
4. Yates A, Akanni W, Amode MR, Barrell D, Billis K, Carvalho-Silva D et al. Ensembl 2016. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(D1):D710-6.
5. den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-Jordan J et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat* 2016; 37(6):564–9.
6. Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides. *European Journal of Biochemistry* 1984; 138(1):9–37.
7. Barbelanne M, Tsang WY. Molecular and cellular basis of autosomal recessive primary microcephaly. *Biomed Res Int* 2014; 2014:547986.
8. Mahmood S, Ahmad W, Hassan MJ. Autosomal Recessive Primary Microcephaly (MCPH): clinical manifestations, genetic heterogeneity and mutation continuum. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6:39.
9. Woods CG. Human microcephaly. *Curr Opin Neurobiol* 2004; 14(1):112–7.
10. Cox J, Jackson AP, Bond J, Woods CG. What primary microcephaly can tell us about brain growth. *Trends Mol Med* 2006; 12(8):358–66.
11. Leroi A. What makes us human? *The Telegraph* 2006 Aug 1. Available from: URL: <http://www.telegraph.co.uk/technology/3346580/What-makes-us-human.html>.
12. Morris-Rosendahl DJ, Kaindl AM. What next-generation sequencing (NGS) technology has enabled us to learn about primary autosomal recessive micro-

cephaly (MCPH). *Mol Cell Probes* 2015; 29(5):271–81. Available from: URL: 26050940.

13. Khan MA, Rupp VM, Orpinell M, Hussain MS, Altmüller J, Steinmetz MO et al. A missense mutation in the PISA domain of HsSAS-6 causes autosomal recessive primary microcephaly in a large consanguineous Pakistani family. *Hum Mol Genet* 2014; 23(22):5940–9.

14. Alakbarzade V, Hameed A, Quek DQY, Chioza BA, Baple EL, Cazenave-Gassiot A et al. A partially inactivating mutation in the sodium-dependent lysophosphatidylcholine transporter MFSD2A causes a non-lethal microcephaly syndrome. *Nat Genet* 2015; 47(7):814–7.

15. Guemez-Gamboa A, Nguyen LN, Yang H, Zaki MS, Kara M, Ben-Omran T et al. Inactivating mutations in MFSD2A, required for omega-3 fatty acid transport in brain, cause a lethal microcephaly syndrome. *Nat Genet* 2015; 47(7):809–13.

16. Yamamoto S, Jaiswal M, Charng W, Gambin T, Karaca E, Mirzaa G et al. A drosophila genetic resource of mutants to study mechanisms underlying human genetic diseases. *Cell* 2014; 159(1):200–14.

17. Li H, Bielas SL, Zaki MS, Ismail S, Farfara D, Um K et al. Biallelic Mutations in Citron Kinase Link Mitotic Cytokinesis to Human Primary Microcephaly. *Am J Hum Genet* 2016; 99(2):501–10.

18. Kaindl AM, Passemard S, Kumar P, Kraemer N, Issa L, Zwirner A et al. Many roads lead to primary autosomal recessive microcephaly. *Prog Neurobiol* 2010; 90(3):363–83.

19. Woods CG, Parker A. Investigating microcephaly. *Arch Dis Child* 2013; 98(9):707–13.

20. Goutières F. Aicardi-Goutières syndrome. *Brain Dev* 2005; 27(3):201–6.

21. Verloes, A., Drunat, S., Gressens, P. and Passemard, S. Primary autosomal recessive microcephalies and seckel syndrome spectrum disorders. University of Washington, Seattle, WA: GeneReviews [Internet]; 2009 - 2013. Available from: URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9587/>.

22. Passemard S, Titomanlio L, Elmaleh M, Afenjar A, Alessandri J, Andria G et al. Expanding the clinical and neuroradiologic phenotype of primary microcephaly due to ASPM mutations. *Neurology* 2009; 73(12):962–9.
23. Mochida GH. Genetics and biology of microcephaly and lissencephaly. *Semin Pediatr Neurol* 2009; 16(3):120–6.
24. Shen J, Eyaid W, Mochida GH, Al-Moayyad F, Bodell A, Woods CG et al. ASPM mutations identified in patients with primary microcephaly and seizures. *J Med Genet* 2005; 42(9):725–9.
25. Kerzendorfer C, Colnaghi R, Abramowicz I, Carpenter G, O'Driscoll M. Meier-Gorlin syndrome and Wolf-Hirschhorn syndrome: two developmental disorders highlighting the importance of efficient DNA replication for normal development and neurogenesis. *DNA Repair (Amst)* 2013; 12(8):637–44.
26. Klingseisen A, Jackson AP. Mechanisms and pathways of growth failure in primordial dwarfism. *Genes Dev* 2011; 25(19):2011–24.
27. Rump P, Jazayeri O, van Dijk-Bos KK, Johansson LF, van Essen AJ, Verheij, Johanna B G M et al. Whole-exome sequencing is a powerful approach for establishing the etiological diagnosis in patients with intellectual disability and microcephaly. *BMC Med Genomics* 2016; 9(1):7.
28. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 164840: 01/29/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/164840>.
29. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609415: 05/24/2012. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609415>.
30. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 603892: 09/26/2013. Available from: URL: <http://omim.org/entry/603892>.
31. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 601428: 03/09/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/601428>.

32. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 147370: 03/09/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/147370>.
33. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 147440: 01/21/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/147440>.
34. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 300463: 04/06/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/300463>.
35. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 602667: 01/07/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/602667>.
36. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 601150: 02/24/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/601150>.
37. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 611290: 05/08/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/611290>.
38. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 601837: 07/16/2014. Available from: URL: <http://omim.org/entry/601837>.
39. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609412: 06/03/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609412>.
40. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609413: 06/03/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609413>.
41. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 126340: 09/25/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/126340>.

42. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 133510: 06/03/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/133510>.
43. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 133530: 09/25/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/133530>.
44. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 602860: 07/27/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/602860>.
45. Yigit G, Brown KE, Kayserili H, Pohl E, Caliebe A, Zahnleiter D et al. Mutations in CDK5RAP2 cause Seckel syndrome. *Mol Genet Genomic Med* 2015; 3(5):467–80.
46. Bond J, Roberts E, Springell K, Lizarraga SB, Lizarraga S, Scott S et al. A centrosomal mechanism involving CDK5RAP2 and CENPJ controls brain size. *Nat Genet* 2005; 37(4):353–5.
47. Kilic A, Çakmak SK, Tuncali T, Koz Ozlem, Ozhamamci E, Yasun O et al. Seckel syndrome with cutaneous pigmentary changes: two siblings and a review of the literature. *Advances in Dermatology and Allergology* 2015; 32(6):470–4.
48. Khetarpal P, Das S, Panigrahi I, Munshi A. Primordial dwarfism: Overview of clinical and genetic aspects. *Mol Genet Genomics* 2016; 291(1):1–15.
49. Munnik SA de, Hoefsloot EH, Roukema J, Schoots J, Knoers, Nine V A M, Brunner HG et al. Meier-Gorlin syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2015; 10:114.
50. Müller E, Dunstheimer D, Klammt J, Friebe D, Kiess W, Kratzsch J et al. Clinical and Functional Characterization of a Patient Carrying a Compound Heterozygous Pericentrin Mutation and a Heterozygous IGF1 Receptor Mutation. *PLoS ONE* 2012; 7(5):e38220.
51. Diaz AL, Gleeson JG. The molecular and genetic mechanisms of neocortex development. *Clin Perinatol* 2009; 36(3):503–12.
52. O'Rahilly R, Müller F. The embryonic human brain: An atlas of developmental stages. 3rd ed. Hoboken, NJ: Wiley-Liss; 2006.

53. Budday S, Steinmann P, Kuhl E. Physical biology of human brain development. *Front Cell Neurosci* 2015; 9:257.
54. Gray H, Clemente CD. *Anatomy of the human body*. 30th American ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1985.
55. Bystron I, Blakemore C, Rakic P. Development of the human cerebral cortex: Boulder Committee revisited. *Nat Rev Neurosci* 2008; 9(2):110–22.
56. Bond J, Woods CG. Cytoskeletal genes regulating brain size. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18(1):95–101.
57. Haydar TF, Ang E, Rakic P. Mitotic spindle rotation and mode of cell division in the developing telencephalon. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(5):2890–5.
58. Thornton GK, Woods CG. Primary microcephaly: do all roads lead to Rome? *Trends Genet* 2009; 25(11):501–10.
59. Noctor SC, Flint AC, Weissman TA, Dammerman RS, Kriegstein AR. Neurons derived from radial glial cells establish radial units in neocortex. *Nature* 2001; 409(6821):714–20.
60. Sun T, Hevner RF. Growth and folding of the mammalian cerebral cortex: from molecules to malformations. *Nat Rev Neurosci* 2014; 15(4):217–32.
61. Hansen DV, Lui JH, Parker PRL, Kriegstein AR. Neurogenic radial glia in the outer subventricular zone of human neocortex. *Nature* 2010; 464(7288):554–61.
62. Raybaud C, Ahmad T, Rastegar N, Shroff M, Al Nassar M. The premature brain: developmental and lesional anatomy. *Neuroradiology* 2013; 55 Suppl 2:23–40.
63. Gilissen C, Hoischen A, Brunner HG, Veltman JA. Disease gene identification strategies for exome sequencing. *Eur J Hum Genet* 2012; 20(5):490–7.
64. Bamshad MJ, Ng SB, Bigham AW, Tabor HK, Emond MJ, Nickerson DA et al. Exome sequencing as a tool for Mendelian disease gene discovery. *Nat Rev Genet* 2011; 12(11):745–55.
65. Chong JX, Buckingham KJ, Jhangiani SN, Boehm C, Sobreira N, Smith JD et al. The Genetic Basis of Mendelian Phenotypes: Discoveries, Challenges, and Opportunities. *The American Journal of Human Genetics* 2015; 97(2):199–215.

66. Rabbani B, Tekin M, Mahdih N. The promise of whole-exome sequencing in medical genetics. *J Hum Genet* 2013; 59(1):5–15.
67. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1977; 74(12):5463–7.
68. Chan EY. Advances in sequencing technology. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 2005; 573(1-2):13–40.
69. Tiffin N, Andrade-Navarro MA, Perez-Iratxeta C. Linking genes to diseases: It's all in the data. *Genome Med* 2009; 1(8):77.
70. Ng SB, Nickerson DA, Bamshad MJ, Shendure J. Massively parallel sequencing and rare disease. *Hum Mol Genet* 2010; 19(R2):R119-R124.
71. Venter JC, Levy S, Stockwell T, Remington K, Halpern A. Massive parallelism, randomness and genomic advances. *Nat Genet* 2003; 33(3s):219–27.
72. Zhang J, Chiodini R, Badr A, Zhang G. The impact of next-generation sequencing on genomics. *Journal of Genetics and Genomics* 2011; 38(3):95–109.
73. Bahassi EM, Stambrook PJ. Next-generation sequencing technologies: Breaking the sound barrier of human genetics. *Mutagenesis* 2014; 29(5):303–10.
74. Pop M, Salzberg SL. Bioinformatics challenges of new sequencing technology. *Trends in Genetics* 2008; 24(3):142–9.
75. Majewski J, Schwartzenruber J, Lalonde E, Montpetit A, Jabado N. What can exome sequencing do for you? *J Med Genet* 2011; 48(9):580–9.
76. Durbin RM, Altshuler DL, Abecasis GR, Bentley DR, Chakravarti A, Clark AG et al. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature* 2010; 467(7319):1061–73.
77. Becker J, Semler O, Gilissen C, Li Y, Bolz HJ, Giunta C et al. Exome Sequencing Identifies Truncating Mutations in Human SERPINF1 in Autosomal-Recessive Osteogenesis Imperfecta. *The American Journal of Human Genetics* 2011; 88(3):362–71.

78. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 607117: 03/05/2014. Available from: URL: <http://omim.org/entry/607117>.
79. Roberts E, Jackson AP, Carradice AC, Deeble VJ, Mannan J, Rashid Y et al. The second locus for autosomal recessive primary microcephaly (MCPH2) maps to chromosome 19q13.1–13.2. *Eur J Hum Genet* 1999; 7(7):815–20.
80. Bilgüvar K, Öztürk AK, Louvi A, Kwan KY, Choi M, Tatlı B et al. Whole-exome sequencing identifies recessive WDR62 mutations in severe brain malformations. *Nature* 2010; 467(7312):207–10.
81. Graser S, Stierhof Y, Nigg EA. Cep68 and Cep215 (Cdk5rap2) are required for centrosome cohesion. *Journal of Cell Science* 2007; 120(24):4321–31.
82. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609173: 09/25/2013. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609173>.
83. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 605481: 05/15/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/605481>.
84. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609279: 01/07/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609279>.
85. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 181590: 12/08/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/181590>.
86. Hussain MS, Baig SM, Neumann S, Nürnberg G, Farooq M, Ahmad I et al. A truncating mutation of CEP135 causes primary microcephaly and disturbed centrosomal function. *Am J Hum Genet* 2012; 90(5):871–8.
87. Mátyás G, Alonso S, Patrignani A, Marti M, Arnold E, Magyar I et al. Large genomic fibrillin-1 (FBN1) gene deletions provide evidence for true haploinsufficiency in Marfan syndrome. *Hum Genet* 2007; 122(1):23–32.

88. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 610827: 12/16/2014. Available from: URL: <http://omim.org/entry/610827>.
89. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 602978: 06/24/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/602978>.
90. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 603368: 11/05/2014. Available from: URL: <http://omim.org/entry/603368>.
91. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 117143: 06/29/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/117143>.
92. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 609321: 06/02/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/609321>.
93. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 614397: 07/30/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/614397>.
94. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 616062: 12/08/2015. Available from: URL: <http://omim.org/entry/616062>.
95. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: 605629: 09/02/2016. Available from: URL: <http://omim.org/entry/605629>.
96. Xu X, Lee J, Stern DF. Microcephalin Is a DNA Damage Response Protein Involved in Regulation of CHK1 and BRCA1. *Journal of Biological Chemistry* 2004; 279(33):34091–4.
97. Jackson AP, McHale DP, Campbell DA, Jafri H, Rashid Y, Mannan J et al. Primary Autosomal Recessive Microcephaly (MCPH1) Maps to Chromosome 8p22-pter. *The American Journal of Human Genetics* 1998; 63(2):541–6.

98. Jackson AP, Eastwood H, Bell SM, Adu J, Toomes C, Carr IM et al. Identification of Microcephalin, a Protein Implicated in Determining the Size of the Human Brain. *The American Journal of Human Genetics* 2002; 71(1):136–42.
99. O’Driscoll M, Jackson A, Jeggo PA. Microcephalin: A Causal Link Between Impaired Damage Response Signalling and Microcephaly. *Cell Cycle* 2014; 5(20):2339–44.
100. Trimborn M, Richter R, Sternberg N, Gavvovidis I, Schindler D, Jackson AP et al. The first missense alteration in the MCPH1 gene causes autosomal recessive microcephaly with an extremely mild cellular and clinical phenotype. *Hum. Mutat.* 2005; 26(5):496.
101. Garshasbi M, Motazacker MM, Kahrizi K, Behjati F, Abedini SS, Nieh SE et al. SNP array-based homozygosity mapping reveals MCPH1 deletion in family with autosomal recessive mental retardation and mild microcephaly. *Hum Genet* 2006; 118(6):708–15.
102. Ghani-Kakhki M, Robinson PN, Morlot S, Mitter D, Trimborn M, Albrecht B et al. Two Missense Mutations in the Primary Autosomal Recessive Microcephaly Gene MCPH1 Disrupt the Function of the Highly Conserved N-Terminal BRCT Domain of Microcephalin. *Mol Syndromol* 2012; 3(1):6–13.
103. Hosseini MM, Tonekaboni SH, Papari E, Bahman I, Behjati F, Kahrizi K et al. A novel mutation in MCPH1 gene in an Iranian family with primary microcephaly. *J Pak Med Assoc* 2012; 62(11):1244–7.
104. Ghafouri-Fard S, FarDAei M, Gholami M, Miryounesi M. A case report: Autosomal recessive microcephaly caused by a novel mutation in MCPH1 gene. *Gene* 2015; 571(1):149–50.
105. Darvish H, EsmAeeli-Nieh S, Monajemi GB, Mohseni M, Ghasemi-Firouzabadi S, Abedini SS et al. A clinical and molecular genetic study of 112 Iranian families with primary microcephaly. *J Med Genet* 2010; 47(12):823–8.
106. Farooq M, Baig S, Tommerup N, Kjaer KW. Craniosynostosis-microcephaly with chromosomal breakage and other abnormalities is caused by a truncating MCPH1 mutation and is allelic to premature chromosomal condensation syndrome

- and primary autosomal recessive microcephaly type 1. *Am. J. Med. Genet.* 2010; 152A(2):495–7.
107. Nicholas AK, Khurshid M, Désir J, Carvalho OP, Cox JJ, Thornton G et al. WDR62 is associated with the spindle pole and is mutated in human microcephaly. *Nat Genet* 2010; 42(11):1010–4.
108. Bhat V, Girimaji SC, Mohan G, Arvinda HR, Singhmar P, Duvvari et al. Mutations in WDR62, encoding a centrosomal and nuclear protein, in Indian primary microcephaly families with cortical malformations. *Clinical Genetics* 2011; 80(6):532–40.
109. Murdock DR, Clark GD, Bainbridge MN, Newsham I, Wu Y, Muzny DM et al. Whole-exome sequencing identifies compound heterozygous mutations in WDR62 in siblings with recurrent polymicrogyria. *Am. J. Med. Genet.* 2011; 155(9):2071–7.
110. Bacino CA, Arriola LA, Wiszniewska J, Bonnen PE. WDR62 missense mutation in a consanguineous family with primary microcephaly. *Am. J. Med. Genet.* 2012; 158A(3):622–5.
111. Yu TW, Mochida GH, Tischfield DJ, Sgaier SK, Flores-Sarnat L, Sergi CM et al. Mutations in WDR62, encoding a centrosome-associated protein, cause microcephaly with simplified gyri and abnormal cortical architecture. *Nat Genet* 2010; 42(11):1015–20.
112. Hassan M, Khurshid M, Azeem Z, John P, Ali G, Chishti M et al. Previously described sequence variant in CDK5RAP2 gene in a Pakistani family with autosomal recessive primary microcephaly. *BMC Med Genet* 2007; 8(1):58.
113. Lizarraga SB, Margossian SP, Harris MH, Campagna DR, Han AP, Blevins S et al. Cdk5rap2 regulates centrosome function and chromosome segregation in neuronal progenitors. *Development* 2010; 137(11):1907–17.
114. Firat-Karalar EN, Rauniyar N, Yates III JR, Stearns T. Proximity Interactions among Centrosome Components Identify Regulators of Centriole Duplication. *Current Biology* 2014; 24(6):664–70.
115. Lancaster MA, Renner M, Martin C, Wenzel D, Bicknell LS, Hurles ME et al. Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 2013; 501(7467):373–9.

116. Issa L, Mueller K, Seufert K, Kraemer N, Rosenkotter H, Ninnemann O et al. Clinical and cellular features in patients with primary autosomal recessive microcephaly and a novel CDK5RAP2 mutation. *Orphanet J Rare Dis* 2013; 8:59.
117. Tan CA, Topper S, Ward M, Melver C, Stein J, Reeder A, Arndt K et al. The first case of CDK5RAP2-related primary microcephaly in a non-consanguineous patient identified by next generation sequencing. *Brain Dev* 2014; 36(4):351–5.
118. Kuefer MU, Chinwalla V, Zeleznik-Le NJ, Behm FG, Naeve CW, Rakestraw KM et al. Characterization of the MLL partner gene AF15q14 involved in t(11;15)(q23;q14). *Oncogene* 2003; 22(9):1418–24.
119. Obuse C, Iwasaki O, Kiyomitsu T, Goshima G, Toyoda Y, Yanagida M. A conserved Mis12 centromere complex is linked to heterochromatic HP1 and outer kinetochore protein Zwint-1. *Nat Cell Biol* 2004; 6(11):1135–41.
120. Genin A, Desir J, Lambert N, Biervliet M, van der Aa N, Pierquin G et al. Kinetochore KMN network gene CASC5 mutated in primary microcephaly. *Hum Mol Genet* 2012; 21(24):5306–17.
121. Szczepanski S, Hussain MS, Sur I, Altmüller J, Thiele H, Abdullah U et al. A novel homozygous splicing mutation of CASC5 causes primary microcephaly in a large Pakistani family. *Hum Genet* 2016; 135(2):157–70.
122. Bond J, Roberts E, Mochida GH, Hampshire DJ, Scott S, Askham JM et al. ASPM is a major determinant of cerebral cortical size. *Nat Genet* 2002; 32(2):316–20.
123. Kouprina N, Pavlicek A, Collins NK, Nakano M, Noskov VN, Ohzeki J et al. The microcephaly ASPM gene is expressed in proliferating tissues and encodes for a mitotic spindle protein. *Hum Mol Genet* 2005; 14(15):2155–65.
124. Fish JL, Kosodo Y, Enard W, Pääbo S, Huttner WB. *Aspm* specifically maintains symmetric proliferative divisions of neuroepithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006; 103(27):10438–43.
125. Hung L, Tang CC, Tang TK. Protein 4.1 R-135 Interacts with a Novel Centrosomal Protein (CPAP) Which Is Associated with the gamma -Tubulin Complex. *Molecular and Cellular Biology* 2000; 20(20):7813–25.

126. Kleylein-Sohn J, Westendorf J, Le Clech M, Habedanck R, Stierhof Y, Nigg EA. Plk4-induced centriole biogenesis in human cells. *Dev Cell* 2007; 13(2):190–202.
127. Tang CC, Fu R, Wu K, Hsu W, Tang TK. CPAP is a cell-cycle regulated protein that controls centriole length. *Nat Cell Biol* 2009; 11(7):825–31.
128. Al-Dosari MS, Shaheen R, Colak D, Alkuraya FS. Novel CENPJ mutation causes Seckel syndrome. *J Med Genet* 2010; 47(6):411–4.
129. Karkera JD, Izraeli S, Roessler E, Dutra A, Kirsch I, Muenke M. The genomic structure, chromosomal localization, and analysis of SIL as a candidate gene for holoprosencephaly. *Cytogenet Genome Res* 2002; 97(1-2):62–7.
130. Vulprecht J, David A, Tibelius A, Castiel A, Konotop G, Liu F et al. STIL is required for centriole duplication in human cells. *Journal of Cell Science* 2012; 125(Pt 5):1353–62.
131. Moyer TC, Clutario KM, Lambrus BG, Daggubati V, Holland AJ. Binding of STIL to Plk4 activates kinase activity to promote centriole assembly. *J Cell Biol* 2015; 209(6):863–78.
132. Kumar A, Girimaji SC, Duvvari, Blanton SH. Mutations in STIL, encoding a pericentriolar and centrosomal protein, cause primary microcephaly. *Am J Hum Genet* 2009; 84(2):286–90.
133. Ishikawa K. Prediction of the Coding Sequences of Unidentified Human Genes. X. The Complete Sequences of 100 New cDNA Clones from Brain Which Can Code for Large Proteins in vitro. *DNA Research* 1998; 5(3):169–76.
134. Andersen JS, Wilkinson CJ, Mayor T, Mortensen P, Nigg EA, Mann M. Proteomic characterization of the human centrosome by protein correlation profiling. *Nature* 2003; 426(6966):570–4.
135. Carvalho-Santos Z, Machado P, Branco P, Tavares-Cadete F, Rodrigues-Martins A, Pereira-Leal JB et al. Stepwise evolution of the centriole-assembly pathway. *Journal of Cell Science* 2010; 123(Pt 9):1414–26.
136. Nagase T. Prediction of the Coding Sequences of Unidentified Human Genes. XII. The Complete Sequences of 100 New cDNA Clones from Brain Which Code for Large Proteins in vitro. *DNA Research* 1998; 5(6):355–64.

137. Sonnen KF, Gabryjonczyk A, Anselm E, Stierhof Y, Nigg EA. Human Cep192 and Cep152 cooperate in Plk4 recruitment and centriole duplication. *Journal of Cell Science* 2013; 126(Pt 14):3223–33.
138. Dzhindzhev NS, Yu QD, Weiskopf K, Tzolovsky G, Cunha-Ferreira I, Riparbelli M et al. Asterless is a scaffold for the onset of centriole assembly. *Nature* 2010; 467(7316):714–8.
139. Sajid Hussain M, Marriam Bakhtiar S, Farooq M, Anjum I, Janzen E, Reza Toliat M et al. Genetic heterogeneity in Pakistani microcephaly families. *Clin Genet* 2013; 83(5):446–51.
140. Kalay E, Yigit G, Aslan Y, Brown KE, Pohl E, Bicknell LS et al. CEP152 is a genome maintenance protein disrupted in Seckel syndrome. *Nat Genet* 2011; 43(1):23–6.
141. Mahajan MA, Murray A, Samuels HH. NRC-Interacting Factor 1 Is a Novel Cotransducer That Interacts with and Regulates the Activity of the Nuclear Hormone Receptor Coactivator NRC. *Molecular and Cellular Biology* 2002; 22(19):6883–94.
142. Yang YJ, Baltus AE, Mathew RS, Murphy EA, Evrony GD, Gonzalez DM et al. Microcephaly gene links trithorax and REST/NRSF to control neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell* 2012; 151(5):1097–112.
143. Alkema MJ, Bronk M, Verhoeven E, Otte A, van 't Veer, L J, Berns A et al. Identification of Bmi1-interacting proteins as constituents of a multimeric mammalian polycomb complex. *Genes Dev* 1997; 11(2):226–40.
144. Awad S, Al-Dosari MS, Al-Yacoub N, Colak D, Salih MA, Alkuraya FS et al. Mutation in PHC1 implicates chromatin remodeling in primary microcephaly pathogenesis. *Hum Mol Genet* 2013; 22(11):2200–13.
145. Meyerson M, Enders GH, Wu CL, Su LK, Gorka C, Nelson C et al. A family of human cdc2-related protein kinases. *The EMBO Journal* 1992; 11(8):2909–17.
146. Hussain MS, Baig SM, Neumann S, Peche VS, Szczepanski S, Nurnberg G et al. CDK6 associates with the centrosome during mitosis and is mutated in a large Pakistani family with primary microcephaly. *Hum Mol Genet* 2013; 22(25):5199–214.

147. Yen TJ, Compton DA, Wise D, Zinkowski RP, Brinkley BR, Earnshaw WC et al. CENP-E, a novel human centromere-associated protein required for progression from metaphase to anaphase. *The EMBO Journal* 1991; 10(5):1245–54.
148. Yao X, Abrieu A, Zheng Y, Sullivan KF, Cleveland DW. CENP-E forms a link between attachment of spindle microtubules to kinetochores and the mitotic checkpoint. *Nat Cell Biol* 2000; 2(8):484–91.
149. Mirzaa GM, Vitre B, Carpenter G, Abramowicz I, Gleeson JG, Paciorkowski AR et al. Mutations in CENPE define a novel kinetochore-centromeric mechanism for microcephalic primordial dwarfism. *Hum Genet* 2014; 133(8):1023–39.
150. Leidel S, Delattre M, Cerutti L, Baumer K, Gönczy P. SAS-6 defines a protein family required for centrosome duplication in *C. elegans* and in human cells. *Nat Cell Biol* 2005; 7(2):115–25.
151. Strnad P, Leidel S, Vinogradova T, Euteneuer U, Khodjakov A, Gönczy P. Regulated HsSAS-6 levels ensure formation of a single procentriole per centriole during the centrosome duplication cycle. *Dev Cell* 2007; 13(2):203–13.
152. Reiling JH, Clish CB, Carette JE, Varadarajan M, Brummelkamp TR, Sabatini DM. A haploid genetic screen identifies the major facilitator domain containing 2A (MFSD2A) transporter as a key mediator in the response to tunicamycin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(29):11756–65.
153. Nguyen LN, Ma D, Shui G, Wong P, Cazenave-Gassiot A, Zhang X et al. Mfsd2a is a transporter for the essential omega-3 fatty acid docosahexaenoic acid. *Nature* 2014; 509(7501):503–6.
154. Asencio C, Davidson IF, Santarella-Mellwig R, Ly-Hartig TBN, Mall M, Wallenfang MR et al. Coordination of kinase and phosphatase activities by Lem4 enables nuclear envelope reassembly during mitosis. *Cell* 2012; 150(1):122–35.
155. Di Cunto F, Calautti E, Hsiao J, Ong L, Topley G, Turco E et al. Citron Rho-interacting Kinase, a Novel Tissue-specific Ser/Thr Kinase Encompassing the Rho-Rac-binding Protein Citron. *Journal of Biological Chemistry* 1998; 273(45):29706–11.

156. Di Cunto F, Imarisio S, Hirsch E, Broccoli V, Bulfone A, Migheli A et al. Defective Neurogenesis in Citron Kinase Knockout Mice by Altered Cytokinesis and Massive Apoptosis. *Neuron* 2000; 28(1):115–27.
157. Nigg EA. Centrosome duplication: of rules and licenses. *Trends Cell Biol* 2007; 17(5):215–21.
158. Kim S, Rhee K. Importance of the CEP215-Pericentrin Interaction for Centrosome Maturation during Mitosis. *PLoS ONE* 2014; 9(1):e87016.
159. Lin Y, Chang C, Hsu W, Tang CC, Lin Y, Chou E et al. Human microcephaly protein CEP135 binds to hSAS-6 and CPAP, and is required for centriole assembly. *The EMBO Journal* 2013; 32(8):1141–54.
160. Urbani L, Stearns T. The centrosome. *Current Biology* 1999; 9(9):R315-R317.
161. Ohta M, Ashikawa T, Nozaki Y, Kozuka-Hata H, Goto H, Inagaki M et al. Direct interaction of Plk4 with STIL ensures formation of a single procentriole per parental centriole. *Nat Commun* 2014; 5:5267.
162. Guernsey DL, Jiang H, Hussin J, Arnold M, Bouyakdan K, Perry S et al. Mutations in centrosomal protein CEP152 in primary microcephaly families linked to MCPH4. *Am J Hum Genet* 2010; 87(1):40–51.
163. Bogoyevitch MA, Yeap YYC, Qu Z, Ngoei KR, Yip YY, Zhao TT et al. WD40-repeat protein 62 is a JNK-phosphorylated spindle pole protein required for spindle maintenance and timely mitotic progression. *Journal of Cell Science* 2012; 125(Pt 21):5096–109.
164. Buchman JJ, Durak O, Tsai L. ASPM regulates Wnt signaling pathway activity in the developing brain. *Genes Dev* 2011; 25(18):1909–14.
165. Capecchi MR, Pozner A. ASPM regulates symmetric stem cell division by tuning Cyclin E ubiquitination. *Nat Commun* 2015; 6:8763.
166. Zhao X, Fu W, Hung K, Chien WWY, Li Z, Fu AK et al. NRC-interacting factor directs neurite outgrowth in an activity-dependent manner. *Neuroscience* 2015; 289:207–13.

167. Gruber R, Zhou Z, Sukchev M, Joerss T, Frappart P, Wang Z. MCPH1 regulates the neuroprogenitor division mode by coupling the centrosomal cycle with mitotic entry through the Chk1-Cdc25 pathway. *Nat Cell Biol* 2011; 13(11):1325–34.
168. Tigan A, Bellutti F, Kollmann K, Tebb G, Sexl V. CDK6—a review of the past and a glimpse into the future: from cell-cycle control to transcriptional regulation. *Oncogene* 2016; 35(24):3083–91.
169. Feng Y, Walsh CA. Mitotic spindle regulation by Nde1 controls cerebral cortical size. *Neuron* 2004; 44(2):279–93.
170. Doobin DJ, Dantas TJ, Vallee RB. Microcephaly as a cell cycle disease. *Cell Cycle* 2017; 16(3):247–8.
171. Alkuraya FS, Cai X, Emery C, Mochida GH, Al-Dosari MS, Felie JM et al. Human mutations in NDE1 cause extreme microcephaly with lissencephaly corrected. *Am J Hum Genet* 2011; 88(5):536–47.
172. Brown NJ, Marjanovic M, Luders J, Stracker TH, Costanzo V. Cep63 and cep152 cooperate to ensure centriole duplication. *PLoS ONE* 2013; 8(7):e69986.
173. Smith DE, Beckham JD, Tyler KL, Pastula DM. Zika virus disease for neurologists. *Neurol Clin Pract* 2016; 6(6):515–22.
174. Garcez PP, Loiola EC, Madeiro da Costa R, Higa LM, Trindade P, Delvecchio R et al. Zika virus impairs growth in human neurospheres and brain organoids. *Science* 2016; 352(6287):816–8.
175. Oliveira Melo AS, Malingier G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis, A M. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47(1):6–7.