

**Aus der neurologischen Klinik und Poliklinik und dem
Deutschen Schwindel- und Gleichgewichtszentrum
Klinik der Universität München**

Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Marianne Dieterich

**Assoziationsstudie von migräneassoziierten Genvarianten
mit Vestibulärer Migräne und peripher vestibulären
Schwindelerkrankungen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades in der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

Vorgelegt von
Simon Strunz

aus
Wetzlar

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling
Mitberichterstatter: PD Dr. med. Mirjam N. Landgraf
Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. biol. hum. Annette M. Hartmann
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann
Tag der mündlichen Prüfung: 12.05.2022

Für meine Frau Lena und meine drei Kinder.

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung	3
2 Einleitung.....	4
2.1 Migräne und Schwindel - Überblick.....	4
2.1.1 Epidemiologischer Zusammenhang zwischen Schwindel und Migräne	5
2.2 Migräne	6
2.3 Vestibuläre Migräne.....	8
2.4 Pathophysiologie von Migräne und vestibulärer Migräne.....	9
2.5 Genetische Assoziationsstudien zur Migräne – Überblick.....	15
2.6.1 Morbus Menière.....	17
2.6.2 Benigner Peripherer Paroxysmaler Lagerungsschwindel	20
2.7 Fragestellung	23
3 Material und Methoden.....	24
3.1 Voraussetzungen der Studie	24
3.2 Rekrutierung der Patienten.....	24
3.3 Diagnostik der jeweiligen Krankheiten und Kontrollen.....	25
3.4 Laborteil.....	29
3.5 Qualitätskriterien und statistische Auswertung.....	38
4 Ergebnisse.....	40
4.1 Beschreibung der Stichprobe	40
4.2 Analyse der einzelnen Polymorphismen.....	41
4.2.1 Analyse des PRDM16 Polymorphismus rs2651899	41
4.2.2 Analyse des TGFBR2 Polymorphismus rs7640543.....	44
4.2.3 Analyse des PHACTR1 Polymorphismus rs9349379	46
4.2.4 Analyse des MTDH Polymorphismus rs1835740	49
4.2.5 Analyse der SNPs rs3790455, rs10166942 und rs11172113.....	50
5 Diskussion	51
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	51
5.2 Diskussion der Methoden	52
5.3 Diskussion der Ergebnisse.....	59
5.3.1 Fragestellung 1: Replikation von GWAS-Ergebnissen bei Migräne	59
5.3.2 Fragestellung 2: Genetischer Link zwischen Migräne und Schwindel	62
5.4 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen	65
6 Abkürzungsverzeichnis.....	67

7 Literaturverzeichnis	68
8 Danksagung	80
9 Eidesstattliche Versicherung.....	81

1 Zusammenfassung

Schwindel ist das am häufigsten beklagte Symptom der Neurologie mit hoher Prävalenz in der Gesamtbevölkerung. Unter den primären Schwindelerkrankungen finden sich häufig der benigne paroxysmale Lagerungsschwindel sowie der Morbus Menière. Beide Innenohrkrankungen können zwar auf eine eindeutige Pathophysiologie zurückgeführt werden, die zugrundeliegende Ätiologie konnte aber bisher nicht geklärt werden. Da beide Erkrankungen gehäuft zusammen mit Migräne auftreten, liegt die Vermutung nahe, dass Migräne und primäre Schwindelerkrankungen auch in ihrer Pathogenese ähnliche Entstehungsgeschichten aufweisen. Mittels genomweiter Assoziationsstudien ließen sich in den letzten Jahren einige Risikoallele für die Entstehung von Migräne finden.

In dieser Arbeit wurden aus genomweiten Assoziationsstudien bekannte Risikovarianten für Migräne (in den Genen PRDM16, TGFBR2, MTDH, MEF2D, TRPM8, LRP1 und PHACTR1) als geeignete Risikofaktor-Kandidaten für Migräne und primäre Schwindelerkrankungen eingeschätzt und in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie in einem Probandenkollektiv bestehend aus 927 Kontrollprobanden und 783 Patienten in Hinblick auf eine Assoziation zur Migräne und primäre Schwindelerkrankungen überprüft. Die Patientengruppe untergliederten sich in Migräne (n=254 Patienten), Vestibuläre Migräne (n=152), Morbus Menière (n=268) und BPPV (n=225). Die Genotypisierung der 7 Polymorphismen erfolgte mittels iPLEX-Verfahrens und die Genotypfrequenzen wurden mittels logistischer Regression zwischen Kontrollen und den unterschiedlichen Patientengruppen verglichen.

Zwei der bekannten Risikovarianten für Migräne konnten in der vorliegenden Migräne-Stichprobe mit gleicher Effektrichtung repliziert werden: PRDM16-rs2651899 ($p=0,048$) und TGFBR2-rs7640543 ($p=0,016$) und bestätigen dadurch die genetische Relevanz dieser Varianten für die Erkrankung. Die TGFBR2-Variante zeigte zusätzlich einen Zusammenhang mit der zusammengefassten Gruppe aus Morbus Menière, Vestibulärer Migräne und Migräne. Die Varianten MTDH-rs1835740 und PHACTR1-rs9349379 waren nicht mit Migräne, aber mit BPPV (rs1835740) bzw. Morbus Menière (rs9349379) assoziiert. Diese Ergebnisse könnten als Hinweise auf teilweise überlappende Suszeptibilitätsloci interpretiert werden, bedürfen jedoch weiterer Analysen.

2 Einleitung

2.1 Migräne und Schwindel - Überblick

Schwindel und Kopfschmerz sind die beiden am häufigsten beklagten Symptome der Neurologie (Neuhauser et al., 2001; Neuhauser et al., 2006; Vukovic et al., 2007). Insbesondere Migränepatienten klagen oft im Zusammenhang mit ihren Kopfschmerzattacken über Schwindel, nicht zuletzt über Übelkeit und Erbrechen (Vukovic et al., 2007; Cha et al., 2009). Die Symptomkonstellation von Kopfschmerz und Schwindel ist seit der Antike bekannt: Bereits Aretaeus von Kappadozien berichtete 131 v. Chr. über die Beziehung von Migräne und Schwindel, wobei eine systematische Analyse bis zum Ende des 19. Jahrhunderts ausblieb (Cal et al., 2008).

Bis zuletzt fehlte eine einheitliche Definition dieser Migräne und ihrer Erscheinungsformen. Die vestibuläre Migräne unterscheidet sich von der herkömmlichen Migräne durch die starke vestibuläre Komponente, die bei nicht wenigen Patienten sogar in den Vordergrund tritt. Dabei kann die Kopfschmerzsymptomatik ganz fehlen, in 2/3 der Fälle tritt sie aber auf (Deutsches Schwindelzentrum, 2016). Zwar trat der Begriff immer wieder in der Literatur auf, doch auch Termini wie der „migränöse Schwindel“, der „migräne-assoziierte Schwindel“ oder die „vertiginöse Migräne“ fanden sich dort. So waren zwar die Symptomkonstellation Kopfschmerz und Schwindel gängig, doch die genauen Kriterien und diagnostischen Möglichkeiten zur Klassifikation waren nicht einheitlich geregelt. Um vor allem der Vielschichtigkeit und Fülle der assoziierten Symptome gerecht zu werden, gaben die Internationale Kopfschmerzgesellschaft (International Headache Society; IHS) und die Bárány-Society (Internationale Gesellschaft zur Erforschung vestibulärer Erkrankungen) in den Jahren 2012/2013 ein Konsensusdokument heraus, welches einheitliche Diagnosekriterien für die vestibuläre Migräne definierte (Lempert et al., 2013; Lempert et al., 2012).

In den letzten Jahren bildeten sich immer mehr Theorien zur gemeinsamen Genese beider Symptome heraus. So wurden vor allem zur Migräne große Studien aufgelegt, deren Ziel die Erforschung der genetischen Zusammenhänge der Krankheit ist.

2.1.1 Epidemiologischer Zusammenhang zwischen Schwindel und Migräne

Bei der hohen Auftretenswahrscheinlichkeit beider Erkrankungen – Schwindel (Prävalenz 7%; Neuhauser et al., 2011) und Migräne (14%;) – ist es wenig überraschend, dass beide Erkrankungen häufig auch gemeinsam vorkommen. Trotzdem gab es in den letzten zwei Jahrzehnten vermehrt epidemiologische Hinweise darauf, dass Schwindel und Migräne in einem größeren Zusammenhang stehen als die primären Häufigkeiten der Erkrankungen vermuten lassen (Neuhauser et al., 2001). Neuhauser et al. zeigten schon 2001 durch die Analyse von Daten spezialisierter Schwindelambulanzen und Kliniken hinsichtlich des gemeinsamen Auftretens von Migräne und Schwindel, dass es mehrere Schwindelerkrankungen gibt, die häufiger in Kombination mit Migräne auftreten.

In diesen statistischen Erhebungen kamen folgende Erkrankungen gehäuft im Zusammenhang mit Migräne vor: Morbus Menière, Benigner Paroxysmaler oder gutartiger Lagerungsschwindel (BPPV), Kinetosen, seltene zerebelläre Dysfunktionen und psychiatrische Syndrome mit Schwindelsymptomatik (Feuerecker et al., 2015). Letztere könnten aber primäres Symptom einer psychiatrischen oder psychosomatischen Erkrankung oder Folge von chronischen Kopfschmerzen sein, weswegen eine eindeutige Zuordnung zu Schwindel oder Migräne schwer möglich ist.

Bei der Annahme einer Prävalenz von 14% für Migräne und 7% für Schwindel läge eine Kalkulation eines gemeinsamen Auftretens bei 1% (Neuhauser et al., 2011). In einer groß angelegten Studie (5000 eingeschlossene Probanden) in der Allgemeinbevölkerung Deutschlands (Neuhauser et al., 2005) zeigten Neuhauser et al. allerdings, dass die Auftretenswahrscheinlichkeit von Schwindel bei Menschen mit Migräne um mehr als das 3-fache erhöht ist (3,2%). Im Jahr 2008 erschien eine Folgestudie mit 7341 Probanden, in der diese Ergebnisse bestätigt wurden (Neuhauser et al., 2008). Nicht nur Studien in Deutschland weisen darauf hin, dass Schwindelerkrankungen in Zusammenhang mit Migräne stehen. So veröffentlichten Cha et al. im Jahr 2009 eine Studie zum Zusammenhang zwischen gutartigem Lagerungsschwindel und Migräne (Cha et al., 2009) mit sehr eindeutigem Ergebnis: 87% der Patienten mit Lagerungsschwindel wiesen Symptome auf, die mit Migräne zu vereinbaren waren, und 70% von diesen Patienten mit wahrscheinlicher Migräne zeigten Symptome, die mit einer definitiven Vestibulären Migräne vereinbar waren.

Darüber hinaus fanden Rassekh et al. in einer Studie 1992 eine Prävalenz von Migräne von 22% bei Patienten mit Morbus Menière (Rassekh et al., 1992).

Bei einer zusammenfassenden Betrachtung epidemiologischer Studien zur Symptomkonstellation Schwindel und Migräne deuten die Ergebnisse auf einen ätiologischen Zusammenhang dieser Symptome oder Krankheiten. Vestibuläre Symptome sowie primäre Schwindelerkrankungen und Migräne scheinen über ihre hohe zufällige gemeinsame Prävalenz hinaus einen gemeinsamen Entwicklungsweg zu haben, der jedoch noch sehr wenig erforscht ist.

2.2 Migräne

Die Migräne ist eine Kopfschmerzerkrankung, die typischerweise einseitig auftritt und von mittlerer bis schwerer Intensität ist. Die Dauer einer Kopfschmerzphase beläuft sich auf 4-72 Stunden (Lampl et al., 2019). Die Kopfschmerzen werden von den Patienten als pulsierend oder pochend beschrieben, begleitend treten Übelkeit, Erbrechen, Licht- und/oder Lärmempfindlichkeit auf, die bei Anstrengung an Intensität zunehmen (Buture et al., 2016). Dabei kann der Kopfschmerz mit fokalen neurologischen Ausfallerscheinungen einhergehen, die als Aura bezeichnet werden. Somit wird zwischen der Migräne ohne Aura und der Migräne mit Aura unterschieden.

Die fokalen neurologischen Störungen bei der Migräne mit Aura können aus visuellen Störungen (Skotome, Verlust des räumlichen Sehens, Unschärfe), Störungen des Geruchsempfindens, Sensibilitätsstörungen (Kribbelempfindungen, Verlust der Berührungsempfindung), Gleichgewichtsstörungen oder Sprachstörungen bestehen (Kogelman et al., 2019). Die einsetzende Fokalneurologie fungiert auch als Frühzeichen einer Migräneattacke, da sie der Kopfschmerzsymptomatik oft vorgeschaltet ist. In seltenen Fällen können diese Symptome die Kopfschmerzsymptomatik auch überdauern oder auch ganz ohne den Kopfschmerz auftreten (Neff et al., 2012). Die Diagnosekriterien werden von der Internationalen Kopfschmerz Gesellschaft herausgegeben (International Headache Society 2021).

Tabelle 1: Diagnosekriterien für Migräne anhand der Diagnosekriterien der International Headache Society 2020

Krankheitskriterien	Migräne ohne Aura	Migräne mit Aura
Mindestens 5 Kopfschmerzattacken	x	x
Kopfschmerz über 4-72 Stunden	x	x
Einseitige Lokalisation	x	x
Pulsierend oder pochend	x	x
Verstärkung durch körperliche Aktivität	x	x
Photophobie	(x)	x
Phonophobie	(x)	x
Positive visuelle Symptome (Lichter, Punkte, Linien)		(x)
Neagitive visuelle Symptome (Sehverlust)		(x)
Reversible Sprachstörung		(x)
Reversible sensible Symptome		(x)

x = erforderlich; (x) = möglich

Die in Tabelle 1 ersichtlichen Krankheitskriterien sind der International Headache Society entnommen. Es zeigt sich bei der Migräne mit Aura, dass zusätzlich zu den Diagnosekriterien der Migräne ohne Aura sogenannte positive oder negative Symptome hinzukommen. Ein Positivsymptom ist dadurch charakterisiert, dass visuelle Reize erscheinen, die nicht im Rahmen des normalen Sehens vorkommen, so zum Beispiel zusätzliche Lichter, Punkte oder Linien auftreten. Ein Negativsymptom ist dadurch charakterisiert, dass visuelle Reize des normalen Sehens plötzlich wegfallen, also ein Sehverlust eintritt. Zudem können reversible Sprachstörungen oder sensible („taktile“) Symptome auftreten. Die einzelnen Zusatzsymptome müssen bei mindestens 2 der 5 Kopfschmerzattacken auftreten und dürfen nicht länger als 60 Minuten dauern.

Die Auslöser (Triggerfaktoren) einer Migräne können vielfältig sein. Solche Triggerfaktoren können emotionaler Stress, Schlafunregelmäßigkeiten, Auslassen von Mahlzeiten, physische Anstrengung, Nahrungsmittel (Alkohol, Aspartat, Käse, Schokolade, Koffein), hormonelle Faktoren (Menstruation) oder Umgebungsbedingungen wie grettes Licht sein (Turner et al., 2019). Es wird vermutet, dass selten

ein Trigger allein eine Migräneattacke auslösen kann, sondern erst verschiedene Triggerfaktoren zusammenwirken und in der Folge die Migräne auslösen. Weiterhin bleibt unklar, über welche Signalwege die Triggerfaktoren wirken und eine Migräneattacke auslösen (Martin et al., 2009; Rogers et al., 2020).

2.3 Vestibuläre Migräne

Die vestibuläre Migräne unterscheidet sich von der Migräne durch die starke vestibuläre Komponente. Dabei kann die Kopfschmerzsymptomatik bei Patienten mit vestibulärer Migräne ganz fehlen, in 2/3 der Fälle tritt sie aber auf (Deutsches Schwindelzentrum München, 2016). Die Prävalenz der vestibulären Migräne liegt bei Erwachsenen bei ca. 1%, bei Migränepatienten differiert die Angabe zwischen 10 und 40% (Obermann et al., 2013).

Diagnostisch gelten die Diagnosekriterien der International Headache Society (IHS). Auch bei der vestibulären Migräne muss zunächst ausgeschlossen werden, dass die Symptomatik sekundär bedingt ist und kein anderes vestibuläres oder neurologisches Leiden vorliegt. Äquivalent zur Migräne werden körperliche Untersuchung, Laboruntersuchung und bildgebende Verfahren eingesetzt, um eine sekundäre Ursache auszuschließen. Um die vestibuläre Migräne von der Migräne zu unterscheiden, hat die IHS Diagnosekriterien herausgegeben (International Headache Society, 2020). Als Unterschied zur herkömmlichen Migräne treten zusätzlich zur früheren oder aktiven Migräne mindestens 5 Episoden mit vestibulären Symptomen mittlerer oder starker Intensität auf. Zusätzlich müssen während 50% dieser vestibulären Symptome eine oder mehrere Migränesymptome auftreten (Kopfschmerzsymptomatik einseitig, pulsierend, Verstärkung bei körperlicher Aktivität). Die vestibuläre Symptomatik darf nicht auf eine andere ICD-Diagnose zurückzuführen sein.

Der Schwindel kann ein Drehschwindel oder ein Schwankschwindel von einer Dauer von Minuten bis Stunden sein, die Kopfschmerzen treten begleitend oder nachfolgend auf, oft überdauert die Schwindelsymptomatik aber die komplette Attacke (Waterston et al., 2004; Drummond et al., 2005; Dornhoffer et al., 2020). In großen Populationsstudien zur vestibulären Migräne wurden Patienten befragt, deren Attacken meist mit einem Drehschwindel begannen und später in einen

lageabhängigen Schwindel oder Schwankschwindel mit Gangunsicherheit übergingen (Phillips et al., 2010). In der Befragung zeigte die Charakteristik eine Variation von Patient zu Patient, sodass sie auch einer Kinetose oder einem visuellen Schwindel sehr ähnlich sein kann. In weiteren Studien fanden sich bei ca. 30% aller vestibulären Migräneattacken in der Anamnese der jeweiligen Attacke keine Kopfschmerzen, bei einigen Patienten treten Schwindel und Kopfschmerz nie zusammen auf (Cutrer et al., 1992; Johnson et al., 1998; Dornhoffer et al., 2020). Die Diagnosesicherung ist dann meist abhängig vom Auftreten der Begleitsymptomatik, die durch die klassischen Aurasymptome der Migräne charakterisiert ist. So treten bei den Patienten sowohl Phono- und Photophobie als auch Aurasymptome wie visuelle (z.B. Skotome) oder somatosensorische Symptome (z.B. Hypästhesien) auf (International Headache Society 2013). Die Triggerfaktoren als Auslöser der vestibulären Migräne sind dieselben wie die der klassischen Migräne. Die kalorische Testung oder eine andere Reizung des Vestibularorgans stellt einen Triggerfaktor für die vestibuläre Migräne dar. Hier ist der nachfolgende Kopfschmerz aber nicht obligat (Murdin et al., 2009).

Während der Attacken kommt es bei einigen Patienten zu einem horizontalen Blickrichtungsnystagmus, sakkadierter Blickfolge, zentralem Lagenystagmus und eventuell leichtgradigem Spontannystagmus. Dies sind Zeichen für eine zentral-vestibuläre Störung (Dieterich et al., 1999; Lempert et al 2009; Neugebauer et al., 2012).

2.4 Pathophysiologie von Migräne und vestibulärer Migräne

Die Pathophysiologie der Migräne ist nicht hinreichend erklärt und die Forschungsergebnisse sind zu heterogen, um zu einer abschließenden Erklärung der Entstehung der Migräne zu gelangen. Im Wesentlichen haben sich aus den Studien der letzten Jahre und Jahrzehnte 3 Hypothesen herausgebildet, die die Entstehung der Migräne zumindest teilweise zu erklären versuchen. Wie sie im Einzelnen zusammenwirken und welche pathophysiologischen Mechanismen ineinander greifen, ist Gegenstand weiterer Forschung.

Vaskuläre Hypothese

Die vaskuläre Hypothese ist die älteste Hypothese zur Entstehung von Migräne und geht von der Beobachtung aus, dass die Blutgefäße des Gehirns während einer Attacke erweitert sind. Da die vaskuläre Hypothese allerdings nicht alle Symptome der Migräne erklärt, insbesondere nicht die Aurasymptomatik, wird sie heute nicht mehr als allein ursächlich für die Migräne angesehen. Da aber fast alle Therapeutika, die zur Behandlung der akuten Migräneattacke relevant sind, auf eine Verengung der Blutgefäße im Hirn hinwirken, spielt sie in der heutigen Forschung immer noch eine große Rolle.

Im Wesentlichen basiert die Theorie auf dem trigeminovaskulären Reflex, der von May und Goadsby beschrieben wurde (May et al., 1999; Buture et al., 2016). Blutgefäße enthalten in den Wänden Dehnungs- und Schmerzrezeptoren des Nervus trigeminus, die im Falle einer Migräneattacke aktiviert werden. Projiziert werden diese trigeminovaskulären Rezeptoren auf untere Abschnitte des Nucleus spinalis nervi trigemini und darüber hinaus in die Großhirnrinde, deren Verschaltung für das Schmerzempfinden verantwortlich gemacht wird (Sutherland et al., 2017).

Diese Hypothese wird durch einige Beobachtungen gestützt: Zum einen können Vasodilatatoren wie Glyceroltrinitrat eine Migräneattacke oder einen migräneartigen Kopfschmerz auslösen (Thomsen et al., 1998; Grände et al., 2014). Zum anderen sind es Therapeutika wie Mutterkornalkaloide (Baron 2015), Triptane (Xu et al., 2016) und Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP)-Rezeptorantagonisten (Messlinger et al., 2011), die zumindest zum Teil die Arterien des Kopfes verengen und so dem Schmerz entgegenwirken.

Die vaskuläre Hypothese ist für die Behandlung der Migräne nach wie vor hochaktuell. Da die Symptomatik der Migräne allerdings über die reine Schmerzkomponente hinausgeht, ist sie nicht allein ausreichend für eine Erklärung der Krankheitsentstehung der Migräne.

Übererregbarkeitshypothese (Cortical Spreading Depression)

Die Übererregbarkeitshypothese gründet sich auf der Beobachtung einer sich während der Migräneattacke langsam vom okzipitalen Pol (Sitz des visuellen Kortex) nach ventral ausbreitenden Depolarisation im Gehirn, die in der funktionellen Magnetresonanztomographie nachgewiesen werden konnte (Lauritzen et al., 2016).

Diese sogenannte *Cortical Spreading Depression* beginnt meist spontan punktuell und breitet sich mit einer spezifischen Geschwindigkeit im Hirn aus. Bei Migränepatienten wurde beobachtet, dass sich diese wellenartige Ausbreitung in der Regel auf eine Großhirnhälfte begrenzt (Close et al., 2019), ohne das in betroffenen Hirnregionen eine elektrische Aktivität abgeleitet werden kann (Yan et al., 2014). Die Schmerzkomponente der Migräne wird dadurch jedoch nicht erklärt.

Die Theorie der *Cortical Spreading Depression* wurde mit Aufkommen der funktionellen Magnetresonanztomographie durch die Neurophysiologen George G. Somjen (Somjen et al., 2001) und Anthony J. Strong (Strong et al., 2002) entwickelt. Strong und Somjen argumentieren, dass die Entstehung und Ausbreitung einer *Cortical Spreading Depression* an eine Elektrolytverschiebung im Extrazellularraum gekoppelt sei (Yan et al., 2014).

Des Weiteren beschrieben sie in denselben Studien Parallelen zwischen einer Migräneattacke mit Aura und einem epileptischen Anfall. Diese Gemeinsamkeiten werden auch in neueren Studien beschrieben (Costa et al., 2015). So wurde zum einen eine erhöhte gemeinsame Inzidenz von Epilepsie und Migräne nachgewiesen, zum anderen aber auch gemeinsame Defekte von Ionenkanälen, deren Dysfunktion beide Erkrankungen triggern können.

Hypothese der neurogenen Entzündung

Moskowitz wies im Jahr 1993 nach, dass während einer Migräneattacke neurogene Botenstoffe freigesetzt werden, die eine Entzündungsreaktion modulieren (Moskowitz et al., 1993). Hierbei handelte es sich im Gehirn um das Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP), Substanz P und Neurokinin A, die unter anderem aus Nervenendigungen des Nervus trigeminus freigesetzt werden. Auch Goadsby et al. hatten darauf hingewiesen, dass während einer Migräneattacke im Blut bestimmte vasoaktive Peptide, vor allem aber CGRP, vermehrt auftreten bzw. erhöht sind (Goadsby et al., 1990). CGRP bewirkt dabei sozusagen eine „sterile Entzündung“ (ohne pathologischen Keim) durch Aktivierung von Mastzellen (Messlinger et al., 2011), was wiederum zur Vasodilatation, einer Rekrutierung von Leukozyten und Gefäßpermeabilitätsstörung mit konsekutiver Ödembildung führt (Geppetti et al., 2005). Sowohl die Vasodilatation als auch die Ödembildung können durch den dadurch entstehenden Druck auf Schmerzrezeptoren wiederum ursächlich für den

trigeminalen Schmerzreiz sein, wie schon im Abschnitt der vaskulären Hypothese erläutert. Kim et al. zeigten 2015 an einem Patienten mit Status migränosus (eine Kopfschmerzphase leitet direkt in die nächste über) mit persistenter Aura, dass sich über die Zeit ein Hirnödem mit der Folge von Hypoperfusion und Hypometabolismus des Okzipitalpols entwickelte. Vom Hypometabolismus des Okzipitalpols (visueller Kortex) leiteten die Forscher die Hypothese ab, dass dieser zu einer visuellen Aura führe und zusammen mit dem Hirnödem zur weiteren Schmerzkomponente führe. Das Ödem erzeugt auf die sensibel versorgten Hirnhäute eine Kompression, was wiederum die migräneartigen Kopfschmerzen hervorrufe. Die Migräne konnte mit Kortikosteroiden erfolgreich behandelt werden und das Ödem war vollständig reversibel (Kim et al., 2015).

Insgesamt ist von einer ergänzenden Hypothesenordnung auszugehen, wobei die ursächliche Entstehung der Erkrankung mit keiner der drei Hypothesen bisher vollständig erklärt werden konnte (Gasparini et al., 2013).

Pathophysiologie der Vestibulären Migräne

Die Pathophysiologie der vestibulären Migräne ist ebenfalls nicht hinreichend erklärt und belehrt sich der Hypothesen der klassischen Migräne. Diese Hypothesen stützen oder erklären aber nur teilweise die Symptomatik der vestibulären Migräne und tragen daher nur unzureichend einem Erklärungsversuch bei. So beschränkt sich beispielsweise die Übererregbarkeitshypothese (*Cortical Spreading Depression*) auf die Vestibulariskerne im Hirnstamm und ruft sonst keine weiteren Symptome hervor, ein Großteil der von Patienten beschriebenen Symptome bleibt also unerklärt (Obermann et al., 2013).

Nichtsdestoweniger wurden in den letzten Jahren einige experimentelle Arbeiten angefertigt, die versuchten, die Teilmodelle zur Erklärung der vestibulären Migräne weiterzuentwickeln. Dabei ging es vorrangig um die neurale Verschaltung zwischen vestibulärem System (Schwindelkomponente) und den nozizeptiven Hirnstammarealen (Kopfschmerzkomponente). Die nozizeptiven Hirnstammareale setzen sich zusammen aus dorsalen Raphekernen, Locus coeruleus und der lateralen Tegmentumregion. Ebenso wurde die trigeminale Schmerzverarbeitung bei Migränepatienten mit Schwindelsymptomatik hinsichtlich der Frage untersucht, ob es

eine Modulation zwischen Schmerzverarbeitungssystem und Gleichgewichtssystem gebe.

Marano et al. zeigten bereits 2005, dass eine elektrische Reizung trigeminaler Schmerzrezeptoren bei Patienten mit vestibulärer Migräne eine zentral-vestibuläre Verschaltung aktiviert (Marano et al., 2005). Hierzu reizten sie mit Elektroden trigeminale nozizeptive Fasern (Schmerzkomponente) und beobachteten die Patienten hinsichtlich vestibulärer Symptome (Schwindelkomponente). Bei gesunden Probanden konnte hierdurch keine vestibuläre Symptomatik ausgelöst werden. Bei Patienten mit vestibulärer Migräne löste dagegen der Schmerzreiz einen Nystagmus aus (zentral-vestibuläre Verschaltung). Marano et al. werteten dies als Ausdruck der Hyperexzitabilität des trigeminalen Systems bei Migräne, wobei sich diese Hyperexzitabilität bei Patienten mit vestibulärer Migräne im Gegensatz zur reinen Schmerzweiterleitung eher auf das vestibuläre System auswirkte.

Murdin et al. untersuchten im Jahr 2010 Patienten mit vestibulärer Migräne hinsichtlich ihrer otoakustischen Emissionen im Vergleich zu gesunden Probanden. Sie stellten fest, dass Patienten mit vestibulärer Migräne eine verminderte Suppression ihrer otoakustischen Emissionen bei auditiver Reizung des kontralateralen Ohres zeigten. Letztlich zeigte dies ebenfalls eine Hyperexzitabilität des Vestibularorgans (Murdin et al., 2010)

Eine weitere Studie, die die Theorie der Hyperexzitabilität von Patienten mit vestibulärer Migräne stützt, ist eine Untersuchung zur Wahrnehmung von lageabhängigen Kopfbewegungen (Lewis et al., 2011). Hierbei zeigte sich ebenfalls, dass die Wahrnehmungsschwelle bei Patienten mit vestibulärer Migräne für dynamische Kopfbewegungen signifikant niedriger lag als bei gesunden Probanden. Dies wird auch von der Beobachtung gestützt, dass die vestibuläre Migräne in der Symptomatik eine Ähnlichkeit zu Kinetosen aufweist (Jeong et al., 2010).

Eine weitere Studie, die auf eine neuro-vaskuläre Entzündung im Gegensatz zur interneuronalen Verschaltung abzielte, stützt eher die vaskuläre Hypothese bzw. die der neuronalen Entzündung. Vass et al. zeigten im Jahr 2001 an einem Tiermodell, dass die elektrische Stimulation des trigeminalen Ganglions und gleichzeitige Capsaicin-vermittelte Stimulation der Cochlea einen Einfluss auf die Gefäßpermeabilität in der Cochlea und der vertebro-basilären Arterien hat. Hierbei

kommt es zu einer Entzündungsreaktion im Innenohr, die einen Plasmaaustritt sowohl aus der Basilarisarterie und der Ateria cerebellaris anterior posterior als auch im Cochlearapparat zur Folge hatte. Infolge des Plasmaaustritts kommt es zur Kompression von Nervus vestibulochochlearis, Nervus facialis und Nervus trigeminus. Die Folge sind Schwindel und Bewegungsunsicherheit, Hörverlust und Tinnitus (Vascular-Loop-Syndrom).

Zusammenfassend finden sich in der Literatur Hinweise auf einen pathophysiologischen Zusammenhang von nozizeptivem System (Kopfschmerzen) und vestibulärem System (Schwindel). Dies wird unterstützt von der Koinzidenz von Migräne und Schwindel in epidemiologischen Studien. Daraus folgt die Hypothese, dass beide Systeme einen ursprünglichen Zusammenhang aufweisen, der jedoch noch nicht belegt ist.

Eine Beteiligung von genetischen Faktoren ist in der Pathophysiologie der Migräne wahrscheinlich, da es trotz häufigem sporadischem Auftreten der Migräne eine deutliche Häufung innerhalb von Familien gibt. Freilinger et al. zeigten 2014 an Familienstammbäumen, dass die Migräne eine Heritabilität von 40-50% aufweist (Freilinger et al. 2014). Insgesamt wurde geschlussfolgert, dass die Migräne nicht monogen vererbt wird, sondern multifaktoriell oder komplexgenetisch verursacht ist. Hierbei verursacht das Zusammenspiel mehrerer Varianten in sogenannten Suszeptibilitätsgenen in Kombination mit Umweltfaktoren die Entstehung der Erkrankung.

2.5 Genetische Assoziationsstudien zur Migräne – Überblick

In den letzten Jahren konnten durch drei große genomweite Assoziationsstudien an größeren europäischen Bevölkerungsgruppen eine Reihe von genetischen Risikofaktoren für Migräne identifiziert werden. Die drei Assoziationsstudien wurden durch weitere GWAS und Replikationsstudien bestätigt.

In der ersten großen genomweiten Assoziationsstudie von Anttila et al. (Anttila et al., 2010) konnte an über 2500 Migräne-Patienten und mehr als 10.000 Kontrollen der Einzelbasenaustausch-Polymorphismus (*single nucleotide polymorphism*, SNP) rs1835740 mit Migräne assoziiert werden, der zwischen den Genen MTDH (Metadherin) und PGCP (Plasma Glutamate Carboxypeptidase) liegt, die beide an der Homöostase von Glutamat im Gehirn beteiligt sind. Dieses Ergebnis wurde in einer Metaanalyse (Lighthart et al., 2011) bestätigt.

Die zweite große genomweite Studie (Chasman et al., 2011) wurde an einer Kohorte mit 20.000 amerikanischen Migräne-Patientinnen mit europäischer Abstammung durchgeführt. Diese Studie lieferte drei assoziierte Loci: rs2651899 im Gen PRDM16 (PR domain-containing protein 16), rs10166942 2 kb *upstream* von TRPM8 (Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamilie M, Mitglied Nummer 8) und rs11172113 intronisch in LRP1 (Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein 1). Bei PRDM16, einem Zink-Finger-Protein, ist die Rolle für die Migräne noch unklar. TRPM8 ist ein Kältesensor, der vermehrt im peripheren Nervensystem exprimiert wird und sehr wahrscheinlich in die Modulation von neuropathischen Schmerzen involviert ist (Peier et al., 2002). LRP1 hat verschiedene Funktionen, wie zum Beispiel die Modulation von neuronaler Signalübertragung über Glutamat (May et al., 2004), den Lipidmetabolismus im Gehirn (Liu et al., 2010), die Entsorgung von apoptotischen Zellen (Nilsson et al., 2012) oder auch als kompetitives Substrat am Präkursor-Protein für Amyloid (Bu et al., 2009). Alle drei SNPs konnten in einer skandinavischen Studie repliziert werden (Esserlind et al., 2013).

Die dritte große Studie an deutschen und holländischen Patienten (Freilinger et al., 2012) stimmte mit der ersten Studie (Anttila et al., 2010) weitgehend überein. Darüber hinaus wurden vier weitere Assoziationsloci für Migräne gefunden: MEF2D (Myocyte Enhancer Factor 2D), TGFBR2 (Transforming Growth Factor β -Receptor 2), PHACRT1 (Phosphatase and Actin Regulator 1) und ASTN2 (Astrotactin 2). Zwei

dieser Loci, MEF2D und PHACTR1, sind an der Regulation synaptischer Aktivität und an der Ausbildung neuronaler Strukturen beteiligt, was beides ätiologisch für die Migräne eine Rolle spielen könnte (Flavell et al., 2006; Allen et al., 2004; Greengard et al., 1999). TGFBR2 und ASTN2 sind Regulatoren für die Proliferation von neuronalen Zellen (Lin et al., 1992) und deren Migration (Wilson et al., 2010). Eine Auflistung der Risikogene aller drei Studien findet sich in Tabelle 2.

Tabelle 2: Übersicht zu SNPs und Genen mit beeinflussten Genregionen und deren Funktion

SNP	Gen	Expressionsprodukt	Assoziation mit Migräne	Genetischer Risikofaktor für
rs10166942	TRPM8	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 8	Modulation neuropathischer Schmerzen	MA = MO
rs11172113	LRP1	Low density lipoprotein receptor-related protein 1	Modulation metabolischer Prozesse im Gehirn	MA = MO
rs1835740	MTDH	Metadherin	Homöostase von Glutamat (exzitatorischer Transmitter)	MA > MO
rs2651899	PRDM16	PR domain-containing Protein 16	unklar	MA = MO
rs3790455	MEF2D	Myocyte enhancer factor 2D	Regulation synaptischer Aktivität und Morphologie	Nur an Patienten mit MO getestet
rs7640543	TGFBR2	Transforming growth factor β receptor 2	Regulation der Proliferation neuronaler Zellen	Nur an Patienten mit MO getestet
rs9349379	PHACTR1	Phosphatase and actin regulator 1	Regulation synaptischer Aktivität und Morphologie	Nur an Patienten mit MO getestet
rs6578241	ASTN2	Astrotactin 2	Regulation der Migration neuronaler Zellen	Nur an Patienten mit MO getestet

MA= Migräne mit Aura; MO= Migräne ohne Aura

Die Gene MEF2D, TGFBR2, PHACTR1 und ASTN2 sind bisher nur in Studien getestet worden, an der ausschließlich Patienten mit Migräne ohne Aura teilnahmen. Eine Mutation im Risikoallel von MTDH hat ein höheres Risiko für eine Migräne mit Aura als für Migräne ohne Aura. Für die übrigen SNPs zeigte sich keine Präferenz (Anttila et al., 2010).

Mittlerweile wurden knapp 40 Kandidatengene in GWAS gefunden, die mit Migräne assoziiert sind. Diese untermauern die Ergebnisse der ersten hier genannten GWAS

an unterschiedlichen Populationen. Die größte Metaanalyse an 375.000 Probanden stammt von Gormley et al. aus dem Jahr 2016. Hier konnten 38 Gene identifiziert werden, hierunter auch die in der vorliegenden Studie untersuchten Gene (Gormley et al., 2016).

2.6 Migräneassoziierte primäre Schwindelerkrankungen

2.6.1 Morbus Menière

Der Morbus Menière ist die wichtigste Differenzialdiagnose der vestibulären Migräne, da sie sich klinisch sehr ähnlich darstellen kann und eine Unterscheidung oft nur durch einen längeren Beobachtungszeitraum gelingt. Im Verlauf unterscheiden sich beide primär durch das Vorhanden- bzw. Nichtvorhandensein einer Innenohrschwerhörigkeit (Radtke et al., 2002). Morbus Menière ist eine seltene Erkrankung in der Allgemeinbevölkerung, ist aber unter den peripher-vestibulären Schwindelerkrankungen relativ häufig zu finden. Die allgemeine Prävalenz liegt bei weniger als 0,2% (Wladislavosky-Waserman et al., 1984; Alexander et al., 2010).

Menière-Anfälle treten schubweise und rezidivierend auf, wobei zwischen den einzelnen Anfällen mehrere Jahre ohne Beschwerden liegen können. Die Anfälle sind gekennzeichnet durch die Menièresche Trias: Schwindel, Hörverlust und Tinnitus, wobei nicht alle Kernsymptome gleichermaßen ausgeprägt oder überhaupt vorhanden sein müssen. Die Erkrankung tritt meist in der fünften bis sechsten Lebensdekade auf und betrifft Frauen etwas häufiger als Männer und kommt in Familien gehäuft vor, was auf eine genetische Komponente in der Entstehungsgeschichte schließen lässt (Harris et al., 2010).

Typisch für den Morbus Menière ist ein Schwindel, der mit Übelkeit und Erbrechen einhergeht. Dieser Schwindel kann so stark sein, dass die Patienten ein Vermeidungsverhalten gegenüber Bewegungen entwickeln und entsprechend lange im Anfall versuchen, den Kopf möglichst ruhig zu halten. Der Schwindel des Morbus Menière ist üblicherweise von mittlerer Dauer (Minuten bis wenige Stunden), ein kürzer andauernder Schwindel spricht eher für einen Benignen Paroxysmalen Lagerungsschwindel, eine längere Dauer eher für eine zentralere Ursache (wie einen

Schlaganfall). Überdauert der Schwindel die Anfälle, ist oft ein psychogener Schwindel zu beobachten (Schaaf et al., 1999).

Während des Anfalls leiden die Patienten an einem verminderten Hörvermögen (meist Tieftöne) des erkrankten Ohres, oft verbunden mit einem Druck- oder Völlegefühl im Ohr (Attyé et al., 2017). Selten kommt es während einer Attacke auch zu einer Hörverbesserung, diesen Symptomkomplex nennt man dann Lermoyez-Syndrom. Der zeitgleich auftretende Tinnitus ist häufig niederfrequent.

Diagnosekriterien des Morbus Menière

Die Diagnosekriterien des Morbus Menière wurden 1995 von der *American Academy of Otolaryngology, Head and Neck Surgery* herausgegeben (AAO-HNS, 1995). Die Diagnosekriterien gliedern sich in ein 4-stufiges System und benennen die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines Morbus Menière. Ein bewiesener Morbus Menière kann demnach nur dann vorliegen, wenn ein histopathologischer Nachweis eines Endolymphhydrops erfolgt. Ein sicherer Morbus Menière liegt dann vor, wenn 2 Schwindelattacken von 20 Minuten oder länger auftreten, die mit einer Hörminderung und einem Tinnitus einhergehen. Ein Wahrscheinlicher Morbus Menière liegt dann vor, wenn die Menièresche Trias nur einmalig aufgetreten ist. Ein möglicher Morbus Menière liegt dann vor, wenn eine der Symptome der Trias nicht vorliegt.

Die Diagnosekriterien des Morbus Menière wurden 2017 von der Barany Society erneuert. Entsprechend diesen Kriterien müssen folgende Punkte erfüllt sein, um die Diagnose Morbus Menière stellen zu können (Barany Society, 2017):

- Mindestens zwei spontane Schwindelattacken über eine Dauer von 20 Minuten bis 12 Stunden
- Fluktuierende Symptomatik (Hörminderung, Tinnitus, Druckgefühl) am betroffenen Ohr
- Audiometrisch erfasste Hörminderung
- Ausschluss anderer Ursachen

Pathophysiologie des Morbus Menière

Die Pathophysiologie des Morbus Menière kann multifaktoriell verstanden werden, am gesichertsten ist jedoch der endolymphatische Hydrops als das Endglied einer multifaktoriellen Genese. Hierbei wird entweder von einer übermäßigen Produktion

oder einer verminderten Resorption der Endolymph im Saccus und Ductus endolymphaticus ausgegangen (Mancini et al., 2002). Da sich nicht jeder dieser Produktions- oder Resorptionsstörungen klinisch als Morbus Menière präsentiert, können weitere ätiologische Ursachen nicht ausgeschlossen werden. Hallpike et al. postulierten schon im Jahr 1938, dass der Druck im Endolymphraum kontinuierlich zunehme und es deshalb zu einer Vorwölbung der Reissner Membran in die Scala vestibuli komme. Dies führe womöglich zu Rissen in der Membran und folglich zu einer Vermischung von Endo- und Perilymphe, was wiederum eine Dauerdepolarisation der afferenten Hörfasern mit konsekutivem Schwindel zur Folge hat (Hallpike et al., 1938). Inwieweit die Rupturen der Membran in zeitlichem Zusammenhang zu den Anfällen stehen, ist derzeit noch Gegenstand der Forschung.

In epidemiologischen Studien konnte nachgewiesen werden, dass Morbus Menière familiär gehäuft auftritt, weswegen von einer genetischen Komponente als Ursache für die Erkrankung ausgegangen wird (Gallego-Martinez et al., 2019). Dies wird unterstützt durch die Tatsache, dass der Morbus Menière in unterschiedlichen Ethnizitäten eine unterschiedliche Prävalenz aufweist. Unter kaukasischen Probanden tritt der Morbus Menière häufiger auf als unter anderen Ethnizitäten (Ohmen et al., 2013).

Aufgrund dieser Beobachtung wurden einige experimentelle Studien durchgeführt, insbesondere hypothesenleitet zu Genen des Immunsystems und zu Ionenkanälen in der Reissner Membran. Bisher konnte aber noch nicht eindeutig ein bestimmtes Gen mit der Entstehung des Morbus Menière verknüpft werden.

Takeda et al. 2009 fanden beispielsweise eine erhöhte Expression von Aquaporinen im Innenohr bei Menière-Patienten (Takeda et al., 2009). Ihnen wird eine wichtige Rolle bei der Regulation der Innenohrflüssigkeit zugeschrieben. Auch der Vasopressin Rezeptor Typ 2 wird häufiger bei Menière-Patienten in der Stria vascularis und im Saccus endolymphaticus gefunden. Vasopressin und Aquaporin im Zusammenspiel seien wichtig für die Zusammensetzung der Endolymph, so Takeda et al 2009. Auch eine virale Neuropathie (Gacek et al., 2009) oder eine Immunopathologie (Derebery et al., 2010) werden als Ursachen für den Menière diskutiert.

Morbus Menière und Migräne

Schon in den sechziger Jahren wurde in mehreren Veröffentlichungen darüber berichtet, dass die Migräne ein häufiges Begleitsymptom bei Menschen mit Morbus Menière sei (Perez Lopez et al., 2006). Interessanterweise treten während der Attacken von Morbus Menière auch häufig Symptome auf, die an eine Migräne erinnern. So wird von ca. 45% der Patienten darüber berichtet, dass sie während Menièrescher Attacken auch Kopfschmerzen haben, Photophobie entwickeln oder über eine Aura klagen (Radtke et al., 2002). Die selbige prospektive Fall-Kontroll-Studie deutet darauf hin, dass bei Patienten mit Menière eine höhere Auftretenswahrscheinlichkeit für Migräne vorliegt (56%) als für gesunde Personen gleichen Alters und Geschlecht (25%, $p<0,001$). Zuletzt veröffentlichten Neff et al. im Jahr 2012 eine Studie, die darauf hinweist, dass für Patienten mit Migräne ein höheres Risiko besteht, einen Morbus Menière zu entwickeln (Neff et al., 2012).

2.6.2 Benigner Peripherer Paroxysmaler Lagerungsschwindel

Der Benigne Paroxysmale Lagerungsschwindel (BPPV) ist eine häufige, aber gutartige Form des Schwindels, der auch spontan remittiert, was eine genaue epidemiologische Häufigkeitserhebung erschwert. Eine Prävalenz von 2,4% in der Allgemeinbevölkerung wird angenommen (Fife et al., 2009).

Die Patienten klagen während der Attacke über Drehschwindel, der durch Lageänderungen des Kopfes hervorgerufen wird. Insbesondere nachts erwachen die Patienten häufig nach Lageänderungen. Die Attacken dauern typischerweise weniger als 30 Sekunden, nie länger als 1 Minute und sind gelegentlich von vegetativen Symptomen wie Übelkeit, Erbrechen oder Schwitzen begleitet (Parnes 2003; von Brevern 2002). Bei vielen Patienten tritt innerhalb weniger Wochen eine Spontanremission ein (Sherman et al., 2001), diese kann aber auch durch Vermeidungsverhalten von starken Kopfbewegungen begünstigt sein (von Brevern et al., 2002). Auch Gang- und Standunsicherheit, die die Attacke überdauern können, werden in den Studien erwähnt. Diese zeigten sich aber primär subjektiv und konnten in oben genannten Studien nicht objektiviert werden.

Diagnosekriterien des Benignen Peripheren Paroxysmalen Lagerungsschwindels

Die Diagnosekriterien wurden zuletzt von der *American Academy of Otolaryngology, Head and Neck Surgery* 2017 überarbeitet (AAO-HNS 2017). Die Diagnosekriterien beschränken sich auf episodische, kurze und heftige Drehschwindelattacken, die nach Sekunden bis wenigen Minuten wieder sistieren. Sie treten typischerweise nach Lageänderungen des Kopfes auf. Es treten keine kochleären Symptome wie Hörminderung oder Tinnitus auf

Nach entsprechender Anamnese wird der BPPV anhand des Lagerungsmanövers nach Dix und Hallpike verifiziert. Hierzu wird der Kopf des Patienten um etwa 20 Grad nach hinten und zur betroffenen Seite gedreht. Lagert man den Patienten nun in die Horizontale, erleidet der Patient einen Drehschwindel nach einigen Sekunden, den man mit Frenzelbrille beobachten kann. In diesem Fall ist der Test nach Dix und Hallpike positiv (Talmud et al., 2020).

Pathophysiologie des Benignen Peripheren Paroxysmalen Lagerungsschwindels

Als Ursache des BPPVs wird angenommen, dass sich kleine Calciumcarbonatkristalle, sogenannte Otokonien, aus dem Utriculus des Vestibularsystems lösen und in die Bogengänge des Innenohrs gelangen. Dort bewirken sie durch Masseverschiebung der Innenohrflüssigkeit die Auslenkung der Haarzellen im Innenohr. Die hiernach ausgelösten Aktionspotentiale entsprechen dann nicht den Flüssigkeitsverschiebungen bei korrelierenden Kopfbewegungen, sondern folgen den Richtungsvektoren der Otokonien. Da die Richtungsvektoren nicht den Kopfbewegungen folgen, ergibt sich eine Missemmpfindung von Kopfbewegungen ohne physiologisches Korrelat (sog. vestibulärer *Missmatch*). Die Otokonien lösen sich durch unterschiedliche Mechanismen, zum Beispiel durch Traumata oder durch altersbedingte Degeneration (Walther et al., 2014), weswegen auch die Erkrankungswahrscheinlichkeit mit dem Alter steigt. Auch der Benigne Paroxysmale Lagerungsschwindel tritt familiär gehäuft auf (Strupp et al., 2020), was auf eine genetische (Mit-)Ursache schließen lässt.

Benigner Peripherer Paroxysmaler Lagerungsschwindel und Migräne

Der BPPV ist die häufigste periphere vestibuläre Erkrankung mit Lebenszeitprävalenz von ungefähr 10% (von Brevern et al., 2007). Bei Patienten mit idiopathischem BPPV lag die gemeinsame Auftrittswahrscheinlichkeit von Migräne 2,5-mal höher als bei

Patienten mit sekundärem BPPV. Insgesamt zeigte sich eine starke Assoziation von Migräne und idiopathischem BPPV. Migränepatienten hatten dabei ein 7,5faches Risiko, an einem idiopathischen BPPV zu erkranken im Vergleich zur Normalbevölkerung (von Brevern et al., 2007). Eine weitere Studie untersuchte die Auftrittswahrscheinlichkeit von Migräne bei Patienten mit idiopathischem BPPV (primär) im Vergleich zu Patienten mit BPPV nach Trauma oder Labyrinththerkrankung (sekundär). Das Ergebnis zeigte eine 3-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für Migräne bei Patienten mit primärem BPPV im Vergleich zur sekundären Form (Ishiyama 2000). Zudem wird die These, dass BPPV und Migräne einen ätiologischen Zusammenhang aufweisen, unterstützt von der Tatsache, dass der primäre BPPV im Gegensatz zum sekundären BPPV eine höhere Auftretenswahrscheinlichkeit bei Frauen im Vergleich zu Männern hat, wie dies auch bei Migräne beobachtet wurde (Vetvik et al., 2017).

Zusammenfassung der genetischen Zusammenhänge

Zusammenfassend zeigen die GWAS der vergangenen Jahre wie auch die Analysen zur gehäuften Auftretenswahrscheinlichkeit in Familien für die Migräne (Freilinger et al. 2014) eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine genetische Komponente in Ihrer Pathogenese. Bei dieser Pathogenese wird ein multifaktorielles Geschehen angenommen, eine monogene Ursache für die Entstehung von Migräne konnte bisher nicht gefunden werden.

Gleichzeitig treten mit der Migräne häufig symptomatisch überlappende Erkrankungen aus dem Formenkreis der primären Schwindelerkrankungen auf, hierzu zählen der Morbus Menière, der BPPV und die vestibuläre Migräne als Unterform der Migräne. Bei diesen primären Schwindelerkrankungen wird ebenfalls eine genetische Komponente in der Entstehung angenommen, da auch hier ein gehäuftes Auftreten in Familien beobachtet wird (Strupp et al., 2020; Gallego-Martinez et al., 2019).

2.7 Fragestellung

In GWAS-Studien konnten bereits Kandidatengene für die Migräne identifiziert werden. Zu diesen Genen zählen: MEF2D, TGFBR2, PHACTR1, TRPM8, LRP1, MTDH und PRDM16. Weiterhin zeigte sich in epidemiologischen Studien ein Zusammenhang zwischen Migräne und dem Symptomkomplex Schwindel sowie primären Schwindelerkrankungen.

Daher sollten im Rahmen der vorliegenden Arbeit folgende Fragestellungen untersucht werden:

1. Können Assoziationen von genetischen Varianten in Migräne-Kandidatengenen (MEF2D, TGFBR2, PHACTR1, TRPM8, LRP1, MTDH und PRDM16) in einem Probandenkollektiv aus 254 Migränepatienten ohne vestibuläre Komponente und 927 Kontrollprobanden aus Deutschland repliziert werden?
2. Lassen sich die migräneassoziierten Genvarianten bei Patienten mit Morbus Menière oder BPPV replizieren?

3 Material und Methoden

3.1 Voraussetzungen der Studie

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt. Die Patienten wurden vor Beginn über mögliche Risiken, Datensicherung und Datenschutz, sowie die freiwillige Teilnahme aufgeklärt. In einem persönlichen Gespräch wurden sie darüber informiert, dass sie sich jederzeit ohne Angabe von Gründen gegen die Teilnahme entscheiden können. Dieses Gespräch wurde mit einer schriftlichen Einverständniserklärung der Probanden bestätigt.

3.2 Rekrutierung der Patienten

Die Patienten wurden alle im Deutschen Schwindel- und Gleichgewichtszentrum (DSGZ) in München, welches ein integriertes Forschungs- und Behandlungszentrum beherbergte, rekrutiert. Die Migränepatienten wurden dorthin von niedergelassenen Fachärzten zur weiteren Diagnostik überwiesen. Im Schwindel- und Gleichgewichtszentrum wurden sie jeweils von Fachärzten der Neurologie und Hals-Nasen-Ohrenheilkunde betreut. Im Schwindelzentrum erfolgte zunächst die Anamnese und genauere Untersuchungen zu den entsprechenden Krankheiten. Entsprach die Gesamtschau aller Befunde einer in Frage kommenden Diagnose, wurde der Patient dem Studienteam zugewiesen. Hier wurde nach Einwilligung für eine Studienteilnahme dem Patienten Blut abgenommen. Folgende Patientengruppen wurden für die Studie gebildet:

Tabelle 3: Patientengruppen

Phänotypgruppe	Diagnoskriterien
Migräne	Migräne ohne vestibuläre Symptomatik nach Diagnosekriterien der International Headache Society (IHS, 2018)
Vestibuläre Migräne	Vestibuläre Migräne nach Diagnosekriterien der Barany-Society (Lempert et al., 2012)
Benigner Paroxysmaler Lagerungsschwindel	BPPV nach Diagnosekriterien der American Academy of Otolaryngology, Head and Neck Surgery (von Brevern et al., 2015)
Morbus Menière	Morbus Menière nach Diagnosekriterien der Barany Society (Lopez-Escamez et al., 2015)
Vestibuläre Migräne und Migräne	Migräne und/oder vestibuläre Migräne
BPPV und Migräne	BPPV und (vestibuläre) Migräne
Morbus Menière und Migräne	Morbus Menière und (vestibuläre) Migräne

Wie aus Tabelle 3 ersichtlich ergaben sich sowohl Gruppen mit Einzeldiagnosen, als auch Gruppen, in denen eine Migräne sowie eine primäre Schwindelerkrankung vorlagen. In der Gruppe Vestibuläre Migräne und Migräne lagen sowohl Episoden mit reiner Migräne als auch Episoden mit Vestibulärer Migräne vor, so dass hier eine Mischdiagnose gestellt wurde. Da die Gruppenzuordnung anhand der Anamnese und entsprechenden Untersuchung erfolgte, ergab sich eine rein retrospektive Einordnung.

3.3 Diagnostik der jeweiligen Krankheiten und Kontrollen

Anamnese von Patienten und Kontrollprobanden

Alle Patienten wurden intensiv zu ihrer Krankengeschichte, Komorbiditäten und eventuell in Verbindung stehenden Krankheiten in der Familie befragt. Dieser Fragebogen, der standardisiert durch jeden Patienten ausgefüllt wurde, beinhaltete die folgenden Punkte:

1. Allgemeine Angaben: Geschlecht, Ethnizität, Alter
2. Geburtskomplikationen, Angaben über Adoption
3. Nikotin- und Alkoholkonsum
4. Psychiatrische und neurologische Kurzanamnese

5. Angaben zu Erkrankungen des Probanden und familiäre Vorerkrankungen (jeweils mit Angabe des Ersterkrankungsalters) aus dem Formenkreis der mit Schwindel assoziierten Erkrankungen

Die gesunden und nicht verwandten, freiwilligen Kontrollprobanden (deutschstämmig) kamen aus der Münchener Umgegend und wurden ebenfalls anhand standardisierter Fragebögen befragt. Hierzu zählte neben der allgemeinen Anamnese vor allem die Erfragung neurologischer und psychiatrischer Erkrankungen. Weiterhin wurden hinsichtlich dieser Erkrankungen Informationen über Verwandte ersten Grades eingeholt. Es folgte eine umfassende Befragung mittels SCID I und SCID II (*Structured Clinical Interview for DMS-IV*; First et al., 1997) und FHAM (*Family History Assessment Module*; First et al., 1996). Störungen des zentralen Nervensystems wurden durch eine orientierende neurologische Untersuchung ausgeschlossen. Kontrollprobanden mit neurologischen oder psychiatrischen Erkrankungen wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Migräne und vestibuläre Migräne

In vorliegender Studie wurden Migränepatienten anhand der Diagnosekriterien der International Headache Society (IHS, 2018; Lempert et al., 2012) unabhängig von dem Auftreten einer Aurasymptomatik aufgenommen. Wichtigstes Unterscheidungsmerkmal war hinsichtlich der Studie das Auftreten von Schwindel während der Migräneattacke, welche als Differentialdiagnose die Migräne vom vestibulären Typ wahrscheinlich macht. In diesem Fall erfolgte die Kategorisierung des Patienten in die Patientengruppe „Vestibuläre Migräne“. Weitere Differentialdiagnosen wie der Clusterkopfschmerz oder der Kopfschmerz vom Spannungstyp mussten anamnestisch ausgeschlossen werden.

Bei der Diagnostik der Migräne ist insbesondere die Unterscheidung von primären Kopfschmerzen und sekundären Kopfschmerzen wichtig, da sie auch als Folge von oder im Zusammenhang mit Tumoren, Traumata, Blutungen und Entzündungen beobachtet werden kann. Bestand bei Erstdiagnose ein Verdacht auf eine sekundäre Erkrankung, wurden die Patienten allgemein körperlich untersucht, ggf. eine Laboruntersuchung angefertigt (Entzündungszeichen, Hämolyse-Zeichen, hämorrhagische Diathese) und ggf. bildgebende Untersuchungen durchgeführt (cCT,

cMRT). Wurde eine sekundäre Ursache ausgeschlossen, konnten die Patienten in die Studie aufgenommen werden.

Im Falle einer vestibulären Migräne mussten noch weitere vestibuläre und neurologische Erkrankungen ausgeschlossen werden. Hierzu erfolgten Tonschwellenaudiometrie, Untersuchungen mittels Frenzelbrille (zentral-vestibuläre Erkrankung) und das Hallpike-Manöver. Bestand auch hier kein Hinweis auf eine sekundäre Schwindelursache, konnte die Einordnung in die Gruppe vestibuläre Migräne erfolgen.

Morbus Menière

Die Diagnosestellung des Morbus Menière wurde auf Basis der Diagnosekriterien der Barany Society (Barany Society, 2017) durchgeführt und beruht primär auf der ausgiebigen Anamnese. Pathologisch in der klinischen Untersuchung zeigte sich ein eventuell vorhandener horizontaler Nystagmus zur kranken oder gesunden Seite während der Attacke. Da die Patienten meist im symptomfreien Intervall untersucht wurden, war der Nystagmus wenig wegweisend. Im Weber-Versuch lateralisierten die Patienten ins gesunde Ohr während der Attacke, der Rinne-Versuch war beidseitig positiv (Gürkov R et al., 2018).

Zur differentialdiagnostischen Abklärung wurden einige Krankheiten ausgeschlossen, die die Symptomkonstellation zumindest hypothetisch bedingen können (Infektionen des Gehörgangs, Vascular-Loop-Syndrom, Bandscheibenvorfall der Halswirbelsäule, Tumarkin-Anfall, Semizirkuläres Dehiszenz-Syndrom). Hierzu zählten Erkrankungen des Mittelohres (Otitis media), des Innenohres (Hörsturz, Bogengangdehiszenz), der Hör- und Gleichgewichtsnerven (Akustikusneurinom, Neuritis vestibularis) und des Gehirns (Schlaganfall, Multiple Sklerose, Migräne vom Basilaristyp).

In der apparativen Diagnostik wird in der Tonschwellenaudiometrie meist eine Tieftonschwerhörigkeit in der Attacke festgestellt, die im Spätstadium oft in eine Schwerhörigkeit auf allen Frequenzen übergeht. Alle Menière-Patienten wurden einer Tonschwellenaudiometrie unterzogen. Zur Unterscheidung von anderen peripheren Schwindelerkrankungen wurde eine kalorische Testung mit Frenzel-Brille durchgeführt.

Im Jahr 2007 gelang es in Japan erstmals den Endolymphhydrops im MRT darzustellen (Nakashima et al., 2007). Da diese Methode kein Standard in der

Diagnostik des Morbus Menière ist, konnte auf diese Weise lediglich bei einigen Patienten Morbus Menière nochmals bestätigt werden. Das MRT war demnach keine Standarduntersuchung in vorliegender Studie.

Wurden Differentialdiagnosen ausgeschlossen und die anamnestischen Angaben bzw. die zusätzlichen Untersuchungen sprachen für einen Morbus Menière, so wurde der Patient in die Patientengruppe „Morbus Menière“ eingeordnet.

BPPV

Die Diagnose des BPPV erfolgte anhand der Diagnosekriterien der *American Academy of Otolaryngology, Head and Neck Surgery 2017* (AAO-HNS 2017). Der BPPV erzeugt im Gegensatz zum Morbus Menière keine kochleären Symptome, somit entfallen die Hörminderung und der Tinnitus. Dennoch sollte der Morbus Menière immer in Betracht gezogen und ausgeschlossen werden. Eine audiometrische Abgrenzung zum Morbus Menière war daher Teil der Untersuchungen an Patienten, die für die Studie in Frage kamen.

In der klinischen Untersuchung des BPPV zeigt sich häufig ein Nystagmus zur kranken Seite und eine Fallneigung zur gesunden Seite. Zusätzlich wurde immer das sogenannte Hallpike-Manöver am Patienten durchgeführt, welches ein Provokationstest für den BPPV ist (Ling et al., 2018). Bei diesem Manöver wird der Patient rasch in Kopfhängelage und 45° seitlich gedrehtem Kopf gebracht. Die betroffene bzw. zu testende Seite soll dabei nach unten zeigen. Bei einer rechtsseitigen Pathologie zeigt sich nach wenigen Sekunden ein rotatorischer Nystagmus mit rascher Nystagmuskomponente gegen den Uhrzeigersinn. Ist dagegen die linke Seite betroffen, ist eine Bewegungskomponente im Uhrzeigersinn zu beobachten. Bei Rückkehr in Ausgangsposition tritt häufig ein rotatorischer Nystagmus zur jeweiligen Gegenseite auf. Ein positiver Test ist pathognomonisch für den BPPV. Falsch negative Ergebnisse können mit der Verwendung einer Frenzel-Brille vermieden werden.

Eine weitere Differentialdiagnose ist der phobische Schwankschwindel. Beim phobischen Schwankschwindel treten aber vegetative Symptome wie begleitendes Herzrasen oder Schweißausbrüche in den Vordergrund und es zeigt sich im Hallpike-Manöver kein auffälliger Untersuchungsbefund. Patienten mit starker vegetativer

Symptomatik und negativem Provokationstest mittels Hallpike-Manöver wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Kontrollprobanden

Die Rekrutierung der Kontrollprobanden fand in mehreren Schritten statt, die von der zufälligen Auswahl der Probanden über den Ausschluss relevanter Komorbiditäten bis hin zu einer neurologischen und psychiatrischen Einschätzung reichten. Zur zufälligen Auswahl der Kontrollprobanden wurde aus dem Einwohnermeldeamt eine Liste von Personen aus dem Raum München erstellt, die per Schreiben zu der Studienteilnahme eingeladen wurden.

Bei positiver Rückmeldung erfolgten neben einem Telefonscreening, welches dem Ausschluss relevanter psychiatrischer und neurologischer Krankheiten diente, eine ausführliche Anamnese. Des Weiteren zählte hierzu eine Evaluation von relevanten neurologischen Parametern, die häufig mit Schwindel vergesellschaftet sind wie zum Beispiel Hörstürze, Sehstörungen oder einer Halswirbelsäulenproblematik.

Bei blander Anamnese wurden die Patienten zu einem Interview in die Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der LMU eingeladen und einer orientierenden körperlichen Untersuchung unterzogen. Probanden mit relevanten neurologischen Erkrankungen wurden aus der Studie ausgeschlossen.

3.4 Laborteil

DNA Extraktion, Konzentrationsbestimmung und Genotypisierung wurden nach etablierten Standardprotokollen der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Die Auswahl der hier verwendeten SNPs erfolgte anhand der großen GWAS-Studien und deren Kandidatengenen für Migräne, die unter 1.7 beschrieben sind (Anttila et al., 2010; Chasman et al., 2011; Freilinger et al., 2012).

DNA-Extraktion

Es erfolgte die venöse Blutabnahme bei allen Studienteilnehmern. Die Röhrchen enthielten zur Gerinnungshemmung EDTA. Plasma wurde nach Zentrifugation aus dem Röhrchen entfernt, der verbliebene Blutkuchen bis zur Extraktion bei -80°C gelagert.

Die Extraktion der DNA erfolgte nach etabliertem Protokoll mit dem QIAamp Blood Maxi Kit (Qiagen, 2005). Die verwendeten Reagenzien sind in Tabelle 4 aufgeführt.

Tabelle 4: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die DNA-Extraktion

Reagenz	Menge
10x PBS-Puffer	80g NaCl, 2g KCl, 14,4g Na2HPO4, 2,4g, KH2PO4, Ad 1l Aqua dest., NaOH
1x PBS-Puffer:	100ml 10x PBS-Puffer 900ml Aqua dest.
Proteinase K	500µl
Puffer AL (Guanidin-HCl-haltig)	12ml
Puffer AW1 (Guanidin-HCl-haltig)	5ml
Puffer AW2 (Ethanol-haltig)	5ml
QIAamp Maxi Säule	1 Säule
Puffer AE (Tris-Puffer, pH>9.0)	1ml

Dafür wurde der Blutkuchen zunächst aufgetaut und mit 1xPBS-Puffer resuspendiert und auf ca. 10 ml Volumen gebracht.

Zur Lyse der Leukozyten wurde die Lösung mit 500µl Proteinase K versetzt und nach Zugabe von 12ml Guanidin-HCl-haltigem AL-Puffer ca. 60 Sekunden gevortext, bevor eine 30-minütige Inkubation in einem Wasserbad (70°C) erfolgte, die eine weitgehende Lyse der Zellen ermöglichte.

Anschließend wurde die Lösung mit den aufgeschlossenen Zellen mit 10 ml reinem Ethanol zur Fällung der DNA versetzt, und 2 Minuten auf dem Vortexer vermischt. Darauffolgend wurde das Gemisch in Säulen überführt, die eine Silikagelmembran enthielten und für 3 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) bei Raumtemperatur zentrifugiert. Eine Bindung zwischen RNA und Proteinen wurde durch entsprechenden pH-Wert und Salzbedingungen verhindert, wodurch es zu einer selektiven Anlagerung der ausgefällten DNA auf der Silikagelmembran kam.

Die RNA- und Proteinverunreinigungen wurden durch Hinzufügen von 5 ml Guanidin-HCl-haltigem Waschpuffer (AW1-Puffer) und Zentrifugation bei 4000 rpm und Raumtemperatur für 2 Minuten entfernt. Anschließend wurden die Guanidiniumsalze mit 5 ml ethanolhaltigem Waschpuffer (AW2-Puffer) durch Zentrifugation (für 15 Minuten bei 5000 rpm und Raumtemperatur) ausgewaschen.

Nach den Waschschritten erfolgte die Elution der DNA von der Silikagelmembran durch Zugabe von AE-Puffer (Tris-Puffer, pH > 9). Da die DNA zuvor im sauren Milieu gebunden wurde, ermöglichte der basische Puffer nun deren Elution. Dazu wurde die Silikagelmembran mit 0,75ml AE-Puffer versetzt, bei Raumtemperatur fünf Minuten lang inkubiert und danach 2 Minuten bei 5000 rpm zentrifugiert. Dieser Schritt wurde noch einmal wiederholt, sodass ein Endvolumen von 1,5ml eluierter DNA entstand. Die eluierte DNA wurde bei -80°C gelagert.

Bestimmung der DNA-Konzentration

Zur Bestimmung der DNA-Konzentration diente der Farbstoff PicoGreen (Quant iT PicoGreen dsDNA reagent, Invitrogen, Karlsruhe), der zum Nachweis von Doppelstrang-DNA verwendet wird, da er selektiv an diese bindet. Die DNA-Proben wurden mit PicoGreen im Verhältnis 1:200 verdünnt und danach wurde die Konzentrationsbestimmung unter Verwendung einer parallel gemessenen Eichkurve aus genomischer DNA (Standard-DNA) durchgeführt. Die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die Konzentrationseinstellung

Material	Hersteller
Human genomic DNA 100 ng/µl	Clontech, Mountain View, USA
Quant iT PicoGreen dsDNA reagent	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
96 Well Flat Bottom Plate Black	Greiner Bio-One, Frickenhausen
Janus Automated Workstation	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Victor 3 Multilabel Counter 1420	Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA
Thermo Fast 96 well Plate	ABgene, Hamburg

Die Standardkurve wurde aus 8 Messpunkten (100, 50, 25, 12,5, 6,25, 3,125, 1,5625 0 ng/ml) einer 1:2 Verdünnungsreihe eines 100ng/µl DNA-Standards (Clontech, Mountain View, USA) erstellt. Zudem wurden alle zu messenden DNA-Proben in einer Thermo fast 96 well plate (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) mit destilliertem Wasser vorverdünnt (Verhältnis 1:10). Die Proben der Standardverdünnungsreihe wurden nicht weiter verdünnt. Von den DNA-Proben unbekannter Konzentration wurden jeweils 5µl in eine schwarze 96 well Platte gegeben, in die zuvor jeweils 45µl Aqua bidest. vorgelegt wurden. Alle Proben wurden in Duplikaten gemessen. Dabei

wurden die Proben auf die 96 well Plate wie folgt verteilt: genomicscher DNA-Standard (Reihe 1 + 2) und verdünnte DNA-Proben, jeweils in Doppelreihen (Reihe 3+4, Reihe 5+6, Reihe 7+8, Reihe 9+10) (Tabelle 6). Dies wurde mit der Janus Automated Workstation (Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA) durchgeführt.

Tabelle 6: Messplattendesign für die DNA-Konzentrationsbestimmung

	1 DNA-Std. ng/µl	2 DNA Std. ng/µl	3	4	5	6	7	8	9	10
A	100	100	DNA1	DNA1	DNA9	DNA9	DNA17	DNA17	DNA25	DNA25
B	50	50	DNA2	DNA2	DNA10	DNA10	DNA18	DNA18	DNA26	DNA26
C	25	25	DNA3	DNA3	DNA11	DNA11	DNA19	DNA19	DNA27	DNA27
D	12,5	12,5	DNA4	DNA4	DNA12	DNA12	DNA20	DNA20	DNA28	DNA28
E	6,25	6,25	DNA5	DNA5	DNA13	DNA13	DNA21	DNA21	DNA29	DNA29
F	3,125	3,125	DNA6	DNA6	DNA14	DNA14	DNA22	DNA22	DNA30	DNA30
G	1,5625	1,5625	DNA7	DNA7	DNA15	DNA15	DNA23	DNA23	DNA31	DNA31
H	0	0	DNA8	DNA8	DNA16	DNA16	DNA24	DNA24	DNA32	DNA32

Bei möglichst geringem Lichteinfall wurde unmittelbar vor der Messung in einem 50-ml fassenden Röhrchen das photosensible PicoGreen mit Aqua bidest. 1:156 verdünnt. Von dieser Lösung wurden 145µl zur vorbereiteten Standard- und Proben-DNA gegeben (Endverdünnung des PicoGreen 1:200). Die gefüllte Platte wurde mit der Janus Workstation in den Victor 3 Multilabel Counter 1420 (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) überführt. Im Gerät wurde die Platte für 30 s in horizontaler Ebene in Doppelellipsen geschüttelt, um eine homogene Durchmischung der Lösungen zu bewirken.

Mit der Wallac 1420 Workstation-Software (Perkin Elmer, Massachusetts, USA) konnte die Fluoreszenzmessung verfolgt werden (Anregung des PicoGreens bei 485 nm und Messung der Emissionen bei 520 nm Wellenlänge). Die ermittelten Fluoreszenzwerte der DNA-Lösungen wurden durch einen Computer berechnet, in eine Excel-Tabelle übertragen und gesichert. Hieraus wurden unter Verwendung der Standardkurve die jeweiligen Konzentrationen der DNA-Lösungen berechnet. Um eine Zielkonzentration der DNA-Proben von 50 ng/µl zu erreichen, wurden zudem die jeweiligen Mengen an DNA und Wasser berechnet und die Verdünnung durch den Pipettierroboter durchgeführt. Diese Arbeitslösung wurde bei -80°C gelagert und im Bedarfsfall bei 4°C aufgetaut.

Genotypisierung

Für die Genotypisierung der SNPs, welche im Rahmen dieser Studie untersucht wurden, kam das iPlex-Verfahren zum Einsatz. Dieses Verfahren beruht im Wesentlichen aus drei Schritten:

1. Vervielfältigung des zu untersuchenden Genombereichs (konventionelle PCR)
2. iPlex-Reaktion, eine spezielle PCR-Reaktion (Polymerasekettenreaktion), bei der für jedes Allel eines SNPs massenspezifische Produkte entstehen.
3. Die Messung der Massen der einzelnen PCR-Produkte mittels Matrix-Assistierter-Laser-Desorption-Ionisierung-Time-of-Flight Massenspektrometrie (Maldi-TOF MS)

Diese Genotypisierung wurde in dieser Studie für die folgenden SNPs durchgeführt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Informationen über die untersuchten SNPs

SNP-ID	Gen	Chromosom	Chr.-Position	Allele
rs2651899	PRDM16	1	3083712	C/T
rs3790455	MEF2D	1	156456301	C/T
rs10166942	TRPM8	2	234825093	C/T
rs7640543	TGFB2	3	30462403	A/G
rs9349379	PHACTR1	6	12903957	A/G
rs1835740	MTDH	8	98166913	C/T
rs11172113	LRP1	12	57527283	C/T

Design der Primer

Das Design der Primer wurde mit dem Programm Assay-Design 3.1 (Sequenom, San Diego, USA) entworfen. Die notwendigen genomischen Sequenzen wurden auf Basis der im NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) hinterlegten Sequenzen erstellt (Tabelle 8). Für jeden SNP entwirft das Programm ein Primerset, welches aus zwei PCR-Primern und einem Extensionsprimer besteht und ermittelt die optimale Plexzusammenstellung.

Tabelle 8: Primer der untersuchten SNPs

SNP	Primer 1	Primer 2	Länge	Extensionsprimer
rs2651899	ACGTTGGATGCC TCCTCCTCTATT TTCTC	ACGTTGGATG TGGTGGCTGGTC TACATGGCT	115	CTACTACTACCACC GGGGAGCC
rs3790455	ACGTTGGATGTA AATGCAGGAACT GCTGAG	ACGTTGGATG GAGAGGGAGA TAGTAAAGGG	95	GAGATAGTAAAGGG GAGAGA
rs10166942	ACGTTGGATGCT CCTGCAGAAAGC ATGTTC	ACGTTGGATGA GTTTGAGACC TCTGTCTGG	103	GAGTCTTTGTCTC TCTTTGT
rs7640543	ACGTTGGATGCG AATCCACAGTGT TAGAAG	ACGTTGGAT GACATCCCA AAAGTCTCTCTC	111	GCTATCTCATGTTT CTACCCCTC
rs9349379	ACGTTGGATGGT CTATGCCCTGA GATCAT	ACGTTGGAT GTTTAAAAC TCAGCTCGTGG	99	GAGTTGGCCAATGA TTTTAAGCTA
rs1835740	ACGTTGGATGTT TTTCACAACTTGA TTCC	ACGTTGGATGGA GCAGACTTGGGA CAGTTC	91	CAGAAAATTATGT GAATCTACATAC
rs11172113	ACGTTGGATGAC CCAAACCGAGAG GTTTTC	ACGTTGGATG GTGTCTGAGC CTCAGGAAAG	97	AGGAGCCTCAGGAA AGAGCCAC

Amplifikation mittels PCR

Das iPlex-Verfahren benötigt genügend Material zur Durchführung der verschiedenen Reaktionsschritte. Zur Vervielfältigung des DNA-Materials diente die konventionelle PCR. Tabelle 9 zeigt die Verbrauchsmaterialien, Puffer und Reagenzien für die konventionelle PCR.

Tabelle 9: Materialien für die konventionelle PCR

Material	Hersteller
dNTP Set, 100nM	ABene, Hamburg
Gene Amp PCR System 9700	Applied Biosystems (Foster City, USA)
HotStar Taq DNA Polymerase (5U/µl)	Qiagen (Hilden)
MgCl ₂ , 25mM	Qiagen (Hilden)
Primer	Qiagen (Hilden)
PCR-Puffer 10x	Metabion (Martinsried)
Thermo Fast 96 Well Plate	ABgene (Hamburg)
Thermo Fast 384 Well Plate	ABgene (Hamburg)
PCR Thermal Cycler	Applied Biosystems (Foster City, USA)

Zur Durchführung der PCR wurde in eine 384 well Platte (Thermo Fast 384 well plate, Abgene) die in Tabelle 10 gezeigte Mischung pipettiert:

Tabelle 10: Mischung und Volumina der einzelnen Materialien für die PCR

Reagenz	Volumen pro Reaktion (incl. 25% Überhang)	Volumen für 384 Reaktionen (incl. 25% Überhang)
autoklaviertes H ₂ O	1,850 µl	1368 µl
PCR Puffer mit MgCl ₂	0,625 µl	300 µl
MgCl ₂ (25 mM)	0,325 µl	156 µl
dNTP Mix (25 mM)	0,100 µl	48 µl
Primer Mix (je 500 nM)	1,000 µl	480 µl
Hotstar Taq Polymerase (5U/µl)	0,100 µl	48 µl

Die Platte wurde zunächst zentrifugiert, anschließend lief die PCR in einem Thermocycler (GeneAmp, PCR System 9700, Applied Biosystems) ab.

Die initiale Denaturierung der DNA fand dabei bei 95°C statt. Die Proben wurden 5 Minuten auf diese Temperatur erwärmt und anschließend 20 Sekunden bei dieser Temperatur gehalten. Der nächste Schritt zielte auf die Anlagerung (Annealing) der Primer 1+2 (Tabelle 8). Hierzu wurde die Probe von 95°C auf 56°C abgekühlt und verblieb für 30 Sekunden bei dieser Temperatur. Die hinzugegebene Taq-Polymerase arbeitet bei 72°C optimal, um die Nukleotide an die Primer anzufügen, entsprechend wurde die Elongation bei dieser Temperatur für 1 Minute durchgeführt. Diese Schritte (Denaturierung 20s bei 94°C, Annealing 30s, 56°C, Elongation 1min, 72°C) wurden 45-mal wiederholt, damit danach genügend DNA-Material zur Verfügung stand. Abschließend wurde die Temperatur für die finale Extension 3 Minuten lang auf 72°C gehalten.

In der Probe blieben nach Abschluss der finalen Extension einige Nukleotide übrig, die die Taq-Polymerase nicht verwertet hatte. Diese Nukleotide stören die nachfolgenden Reaktionen, sodass sie eliminiert werden müssen. Dies geschah durch Hinzugeben des Enzyms SAP (Shrimp Alkaline Phosphatase), das die Nukleotide dephosphoryliert. Hierzu wurde jeder Lösung 2 µl der SAP-Mischung (Tabelle 11) hinzugegeben, 40 Minuten bei 37° C inkubiert und anschließend zur Inaktivierung des Enzyms auf 85°C 10 Minuten lang erhitzt (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA).

Tabelle 11: SAP-Mischung

Reagenz	Volumen	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	1,52µl	Sequenom (San Diego, USA)
SAP Puffer 10x	0,17µl	Sequenom (San Diego, USA)
SAP Enzym (1U/µl)	0,30µl	Sequenom (San Diego, USA)

iPlex-Reaktion

Die iPlex-Reaktion stellt die Voraussetzung dar, mittels Massenspektroskopie die Allele der SNPs bestimmen zu können. Hierzu erzeugt diese Reaktion in mehreren Schritten ein massenspezifisches Produkt für jeden SNP je nach Allel. Die Verbrauchsmaterialien, Reagenzien und Geräte für die iPlex-Reaktion sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Materialien für die iPlex-Reaktion

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
iPLEX Puffer Plus	Sequenom (San Diego, USA)
iPLEX Enzym	Sequenom (San Diego, USA)
iPLEX Terminationsmix	Sequenom (San Diego, USA)
Extensionsprimer	Metabion, Martinsried
Gene Amp PCR System 9700	Applied Biosystems (Foster City, USA)

Die Extensionsprimer (Tabelle 8) lagern sich jeweils neben die zu untersuchenden SNPs an, sodass die nächste hinzugefügte Base dem jeweiligen komplementären Allel des SNPs entspricht. Die Primer wurden nach Anlagerung an die DNA jeweils genau um eine Base verlängert, was durch den Einsatz von Didesoxynukleotidtriphosphate (ddNTP) ermöglicht wurde. Die angelagerten ddNTPs wurden vorher mit speziellen funktionellen Gruppen versehen, die den unterschiedlichen Basen ein spezifisches bekanntes Gewicht zuwiesen. Die iPlex-Reaktion wurde (wie die PCR) mithilfe eines Thermocyclers durchgeführt. Jeder PCR-Reaktion wurde initial eine iPlex-Mischung (Tabelle 13) hinzugegeben.

Tabelle 13: iPLEX-Mischung

Reagenz	Volumen pro Reaktion	Hersteller
Autoklaviertes H ₂ O	0,755µl	Sequenom (San Diego, USA)
iPLEX Puffer (10x)	0,200µl	Sequenom (San Diego, USA)
iPLEX Abbruch-Mischung	0,200µl	Sequenom (San Diego, USA)
Primer Mix (7µm:14µm)	0,804µl	Sequenom (San Diego, USA)
iPLEX Enzyme	2,000µl	Sequenom (San Diego, USA)

Analog zur konventionellen PCR wurde die Lösung zunächst auf 94°C erhitzt und 30 Sekunden lang auf dieser Temperatur gehalten (Gene Amp PCR System 9700, Applied Biosystems, Foster City, USA). Anschließend konnte die Temperatur auf 52°C erniedrigt werden (5 Sekunden), damit sich die Extensionsprimer anlagern konnten (Annealing). Eine darauffolgende Erhöhung der Temperatur auf 80°C für 5 Sekunden ermöglichte die Extension der DNA um ein Didesoxynukleotid. Annealing und Extension wurden insgesamt 5-mal wiederholt, bevor wieder eine Denaturierung bei 94°C 5 Sekunden lang erfolgte. Der gesamte Prozess – Denaturierung, 5-maliges Annealing und Extension, Denaturierung – wurde 40-mal wiederholt. Danach erfolgte eine abschließende 3-minütige Extension bei 72°C. Die Probe wurde anschließend mit „Clean Resin“ entsalzt, um Interferenzen zwischen Extensionsprodukten und Ionen zu verhindern.

Massenspektrometrische Analyse

Die massenspektrometrische Analyse beruht auf dem Prinzip, dass ein im Vakuum beschleunigtes Ion (in diesem Falle kokristallisierte DNA) eine definierte Flugzeit benötigt, die proportional zu seiner Masse ist. Die Masse wurde durch die unterschiedlichen Basen der Allele definiert. Die Analyse wurde mithilfe des MALDI-TOF MS (Agena Bioscience, Hamburg) durchgeführt.

Um die Flugzeit der DNA-Proben in dem Massenspektrometer zu messen, wurden sie zuerst mittels eines MassARRAY Nanodispensers (Sequenom) auf einen Siliziumchip mit 384 Matrix-Spots und 8 Kalibrantenpunkten (Sequenom) gegeben. Dieser enthielt eine Matrix mit 3-Hydroxypicolinsäure, die mit der zu untersuchenden DNA kokristallisiert. Mit einer Vakuumsschleuse wurde dieser Chip nun in das Flugzeitmassenspektrometer gegeben, wo die Proben unter Hochvakuumbedingungen einem intensiven Laserpuls (einige Nanosekunden lang) ausgesetzt wurden. Durch diesen Puls kam es zur Verdampfung des Materials unter

Ionisation, wodurch das zu untersuchende Material in das Vakuum freigesetzt wurde. Die Analyse der Flugzeit (*Time-of-flight*) bezog sich auf eine definierte Driftstrecke in einem elektrostatischen Feld. Diese Driftstrecke begann mit der Beschleunigungselektrode und endete mit dem Detektor, wobei die Zeit berechnet wurde, die von dem Ion für diese Strecke benötigt wurde. Je schwerer das Ion, desto länger brauchte es für die definierte Strecke. Mithilfe der TYPER Analyzer 3.4.0.18 Software (Sequenom) konnte über die Flugzeit die jeweilige Masse des Ions und damit der Genotyp des SNPs ermittelt werden. Die verwendeten Materialien sind Tabelle 14 zu entnehmen.

Tabelle 14: Verbrauchsmaterialien, Geräte und Software zur Genotypisierung mittels MALDI-TOF

Material, Reagenz, Gerät	Hersteller
3-Punkt-Kalibrant	Sequenom (San Diego, USA)
MassARRAY Point Nanodispenser	Sequenom (San Diego, USA)
MassARRAY Analyzer 4	Sequenom (San Diego, USA)
SpectroCHIPs	Sequenom (San Diego, USA)
TyperAnalyzer 3.4.0.18	Sequenom (San Diego, USA)

3.5 Qualitätskriterien und statistische Auswertung

Die untersuchten SNPs mussten einigen Qualitätskriterien entsprechen, um für die Auswertung in Frage zu kommen. So wurde mithilfe der TyperAnalyzer Software (Sequenom) ein *clusterplot* für jeden SNP erstellt, der eindeutig von dem jeweils anderen *clusterplot* zu unterscheiden war. Jede 96 well DNA-Platte wurde mit einer Blindprobe (H_2O) versehen, die keinen Genotyp aufweisen durfte. Ebenso wurde mit den SNPs der Kontrollprobanden verfahren. Des Weiteren wurde eine Referenzplatte (96 well) mit Proben des Centre d'Etude du Polymorphisme Humain (CEPH) bestückt und gemessen, deren Genotypen dem zu erwartenden Genotyp entsprechen mussten.

War dieser primäre Test bestanden, wurden die Ergebnisse auf ihre *Callrate* hin überprüft. Diese wurde auf 0,8 festgelegt, demnach mussten in einem Plex 80% der Polymorphismen einen auswertbaren Genotypen ergeben. Für die SNP-Callrate wurde eine Grenze von 0,9 festgelegt.

Die statistischen Auswertungen wurden unter Anwendung der Programme PLINK (Purcell et al., 2007) und R v 2.13.0 (Developmet Core Team, 2011) ausgeführt.

Für die Analyse des genetischen Einflusses der verschiedenen Polymorphismen auf die Symptomkonstellation Migräne und Schwindel wurde logistische Regression angewendet. Mittels eines additiven Modells wurde unter Einbezug von Alter und Geschlecht als Kovariablen der Unterschied der Genotypfrequenzen zwischen den Kontrollen und den jeweiligen Schwindel bzw. Migränephänotypen berechnet. Für die Verteilung der Genotypen der Patienten sowie der Kontrollprobanden wurde das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht (HWE) errechnet und SNPs mit Abweichungen vom HWE ab einem $p < 10^{-5}$ wurden ausgeschlossen. Das HWE beschreibt die prozentuelle Genotypverteilung in Abhängigkeit von der jeweiligen Allel-Häufigkeit in einer idealen Population (keine Einflussnahme von Evolutionsfaktoren wie Migration, Selektion und Mutation). Das Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wurde mithilfe des Fisher's-Exact-Tests ermittelt.

Für alle statistischen Berechnungen wurde das Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Beschreibung der Stichprobe

Die vorliegende Arbeit ist eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie, die insgesamt eine Teilnehmerzahl von 1710 Probanden einschloss, von denen 841 (49,2%) Männer und 869 (50,8%) Frauen waren. Die Teilnehmer waren zwischen 18 und 92 Jahren alt. Die Kontrollgruppe bestand aus insgesamt 927 Probanden, davon 495 (53,4%) männlich und 432 (46,6%) weiblich. Damit waren in der Kontrollgruppe etwas mehr Männer vertreten, der Mittelwert des Alters betrug 58,71 Jahre (Standardabweichung: 12,55 Jahre). Die Gruppe der Patienten mit Vestibulärer Migräne enthielt 152 Patienten mit einem Altersmittelwert von 47,92 Jahren und bestand zu 68% aus Frauen. Die Gruppe Morbus Menière enthielt 268 Patienten mit einem Altersmittelwert von 60,65 Jahren und bestand zu 55,2% aus Männern. Die Gruppe des Benignen Paroxysmalen Lagerungsschwindels enthielt 225 Patienten mit einem Altersmittelwert von 61,25 Jahren und bestand zu 59,6% aus Frauen. Die reinen Migränepatienten unterteilten sich in 70,5% Frauen (29,5% Männer) bei einem Altersmittelwert von 52,22 Jahren (Tabelle 15).

Tabelle 15: Alters- und Geschlechtsverteilung in den Patientengruppen und Kontrollen mit Monodiagnosen

Gruppe	Alter MW (SD)	Geschlecht n (%) männlich	Geschlecht n (%) weiblich	Gesamt n
Kontrollen	58,71 (12,55)	495 (53,4)	432 (46,6)	927
Migräne	52,22 (14,64)	75 (29,5)	179 (70,5)	254
Vestibuläre Migräne	47,92 (15,09)	48 (31,6)	104 (68,4)	152
Morbus Menière	60,65 (13,18)	148 (55,2)	120 (44,8)	268
BPPV	61,25 (13,88)	91 (40,4)	134 (59,6)	225
Gesamtsumme	57,86 (13,87)	841 (49,2)	869 (50,8)	1710

SD= Standardabweichung, n= Anzahl; MW= Mittelwert

Im gesamten Probandenkollektiv war die Gruppe BPPV die durchschnittlich älteste Gruppe (Mittelwert= 61,25 Jahre). Die einzige Patientengruppe mit überwiegend männlichen Teilnehmern war die Gruppe Morbus Menière (55,2%). In allen anderen Einzeldiagnosen überwog die Anzahl der Frauen. Am deutlichsten zeigte sich dieses Verhältnis in der Gruppe Migräne und der Gruppe Vestibuläre Migräne mit ca. 70%

weiblichen Patienten, dies entspricht näherungsweise dem Verhältnis von Frauen zu Männern von 3:1 bei Migränepatienten in der europäischen Normalbevölkerung (Kamm et al., 2020). Auch in den Mischdiagnosen zeigte sich ein ähnliches Verhältnis von Frauen zu Männern mit ca. 3:1, wie in Tabelle 16 ersichtlich wird:

Tabelle 16: Alters- und Geschlechtsverteilung in den Gruppen der Mischdiagnosen

Gruppe	Alter (Jahre) Mittelwert (SD)	Geschlecht n (%) männlich	Geschlecht n (%) weiblich	Gesamt n
Vestibuläre Migräne und Migräne	51,48 (15,18)	100 (31,7)	215 (68,3)	315
BPPV mit Migräne / Vestibuläre Migräne	56,43 (13,41)	13 (25,5)	38 (74,5)	51
Morbus Menière mit Migräne / Vestibuläre Migräne	59,65 (12,50)	19 (35,2)	35 (64,8)	54

SD=Standardabweichung, n=Anzahl

4.2 Analyse der einzelnen Polymorphismen

4.2.1 Analyse des PRDM16 Polymorphismus rs2651899

Der Basenaustauschpolymorphismus rs2651899 mit den Varianten Cytosin und Thymin liegt im Intron 1 des Gens PRDM16 in einer nicht kodierenden Region. Gemäß dieser Lokalisation in einem Intron bewirkt dieser Austausch keine Änderung der Aminosäuresequenz. PRDM16 liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 1 (Abbildung 1).

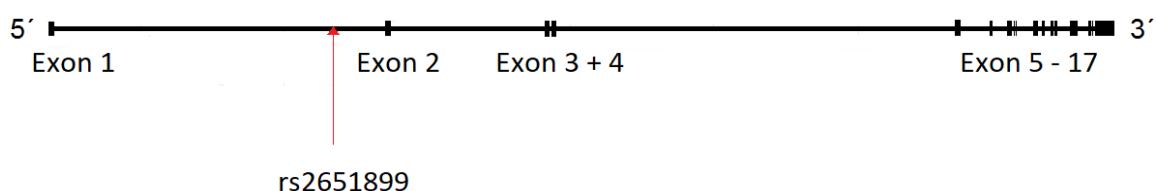


Abb. 1: Position des SNPs rs2651899 auf dem Gen PRDM16 auf Chromosom 1

Analyse der Genotypen von rs2651899

Die Genotypen (CC, CT, TT) wurden im Zusammenhang mit den Phänotypen Migräne, Vestibuläre Migräne, BPPV und Morbus Menière und den Mischdiagnosen untersucht. Die Genotypverteilung der Stichprobe lag für alle Phänotypen innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Tabelle 17).

Tabelle 17: Genotypverteilung, HWE und MAF für rs2651899

Gruppe	Genotyp			HWE	MAF
	CC	CT	TT		
Migräne	59	115	69	0,634	47,9%
Vestibuläre Migräne	36	72	41	0,455	48,3%
BPPV	38	112	67	0,204	43,3%
Morbus Menière	59	121	79	0,678	46,1%
Vestibuläre Migräne und Migräne	71	147	86	0,562	47,5%
BPPV und Migräne	11	24	15	0,359	46,0%
Morbus Menière und Migräne	15	27	12	0,328	52,8%
Kontrollen	166	464	280	0,312	43,7%

MAF=Minore Allelfrequenz, HWE=Hardy-Weinberg-Equilibrium

In der Gesamtstichprobe trat der Genotyp CC des PRDM16-Polymorphismus rs2651899 am seltensten auf mit 18,98%, der Genotyp CT mit 50,56% (häufigster) und der Genotyp TT mit 30,46%. Die prozentuale Verteilung der Genotypen innerhalb der einzelnen Subgruppen ist der Abbildung 2 zu entnehmen.

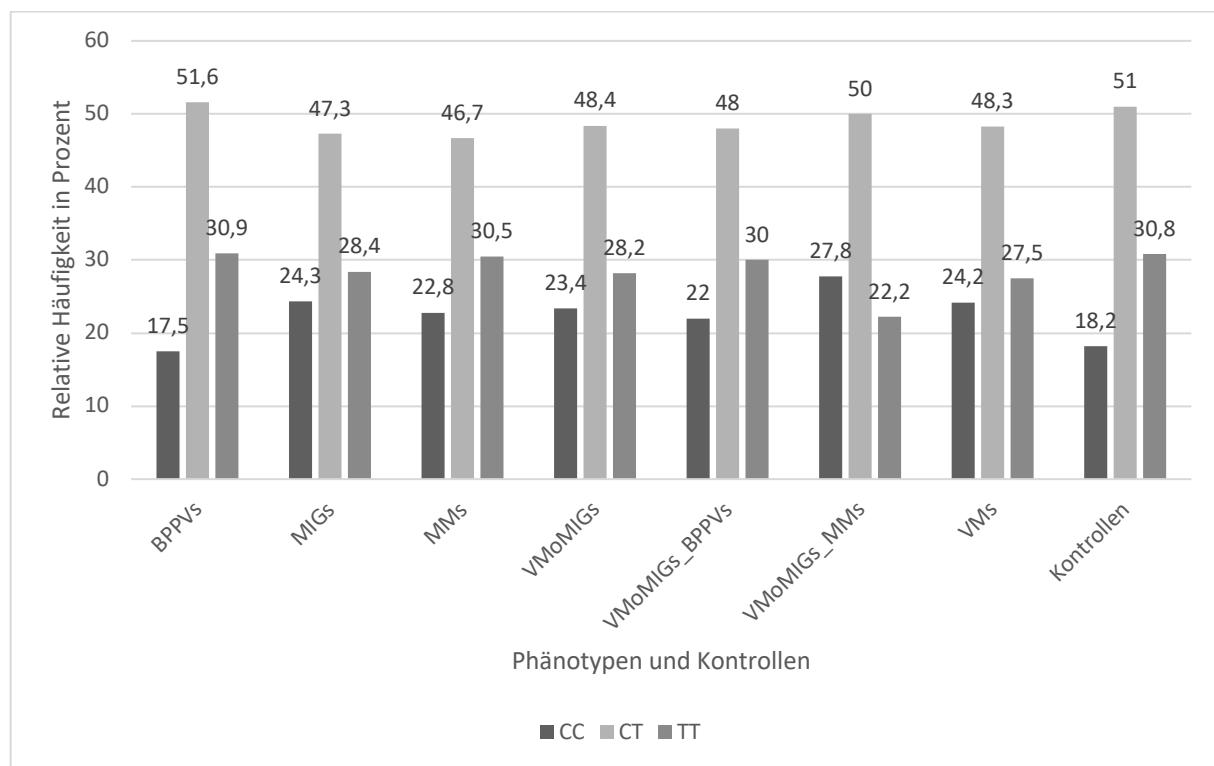


Abb 2: Relative Häufigkeiten der Genotypen nach Phänotyp für rs2651899

BPPV=Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel; MIG=Migräne; MM= Morbus Menière; VMoMIG=Vestibuläre Migräne / Migräne; VMoMIG_BPPV=BPPV mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VMoMIG_MM= Morbus Menière mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VM= Vestibuläre Migräne

Für den PRDM16-Polymorphismus rs2651899 zeigten sich nominal signifikante Zusammenhänge für zwei der genannten Phänotypen.

Tabelle 18: Vergleich der Genotypfrequenzen zwischen Kontrollen und Migräne bzw. Schwindelphänotypen für rs2651899

Phänotyp	p-Wert	OR (95% CI)
Migräne	0,048	1,23 (1,00 - 1,52)
Vestibuläre Migräne	0,052	1,30 (1,00 - 1,69)
Vestibuläre Migräne / Migräne	0,040	1,22 (1,01 - 1,48)
BPPV mit Migräne / Vestibulärer Migräne	0,579	1,12 (0,74 - 1,70)
Morbus Menière mit Migräne / Vest. Mig.	0,065	1,45 (0,98 - 2,16)
BPPV	0,840	0,98 (0,79 - 1,22)
Morbus Menière	0,378	1,09 (0,90 - 1,33)

OR=Odds Ratio, CI=Konfidenzintervall, Rot=signifikante Ergebnisse

Wie aus der Tabelle 18 ersichtlich, zeigt sich für den Vergleich der Genotypfrequenzen zwischen Kontrollen und der Gruppe der Migränepatienten einerseits, sowie der durch Patienten mit Vestibulärer Migräne erweiterten Gruppe andererseits eine erhöhte Odds Ratio in Bezug auf das minore Allel C (Referenzallel) und somit eine höhere

Erkrankungswahrscheinlichkeit für Träger der entsprechenden Genotypen in den assoziierten Phänotypen.

4.2.2 Analyse des TGFBR2 Polymorphismus rs7640543

Der Basenaustauschpolymorphismus rs7640543 mit den Varianten Adenin und Guanin liegt im Intron 4 des Gens TGFBR2, in einer nicht kodierenden Region. Gemäß dieser Lokalisation in einem Intron bewirkt dieser Austausch keine Änderung der Aminosäuresequenz (Abbildung 3).

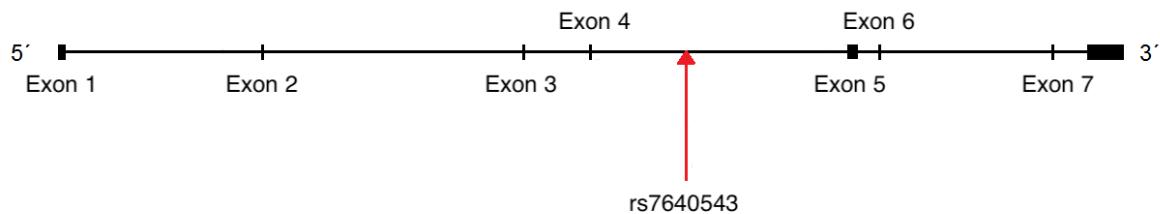


Abb. 3: Position des SNPs rs7640543 auf dem Gen TGFBR2 auf Chromosom 3

Analyse der Genotypen von rs7640543

Die Genotypen (AA, AG, GG) wurden im Zusammenhang mit den Phänotypen Migräne, Vestibuläre Migräne, BPPV und Morbus Menière und den Mischdiagnosen untersucht. Die Genotypverteilung der Stichprobe lag für alle Phänotypen innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Tabelle 19).

Tabelle 19: Genotypverteilung, HWE und MAF für rs7640543

Gruppe	Genotyp			HWE	MAF (A)
	AA	AG	GG		
Migräne	39	96	107	0,088	36,0%
Vestibuläre Migräne	18	59	69	0,312	32,5%
BPPV	24	96	98	0,530	33,0%
Morbus Menière	26	114	121	0,583	31,8%
Vestibuläre Migräne und Migräne	42	120	139	0,109	33,9%
BPPV und Migräne	9	17	24	0,287	35,0%
Morbus Menière und Migräne	12	20	22	0,229	40,7%
Kontrollen	88	377	448	0,531	30,3%

MAF=Minore Allelfrequenz, HWE=Hardy-Weinberg-Equilibrium

In der gesamten Stichprobe trat der Genotyp AA des TGFBR2-Polymorphismus rs7640543 am seltensten auf mit 10,26%, der Genotyp AG mit 41,25% und der Genotyp GG mit 48,49%. Die Verteilung der Genotypen innerhalb des Probandenkollektivs ist der Abbildung 4 zu entnehmen.

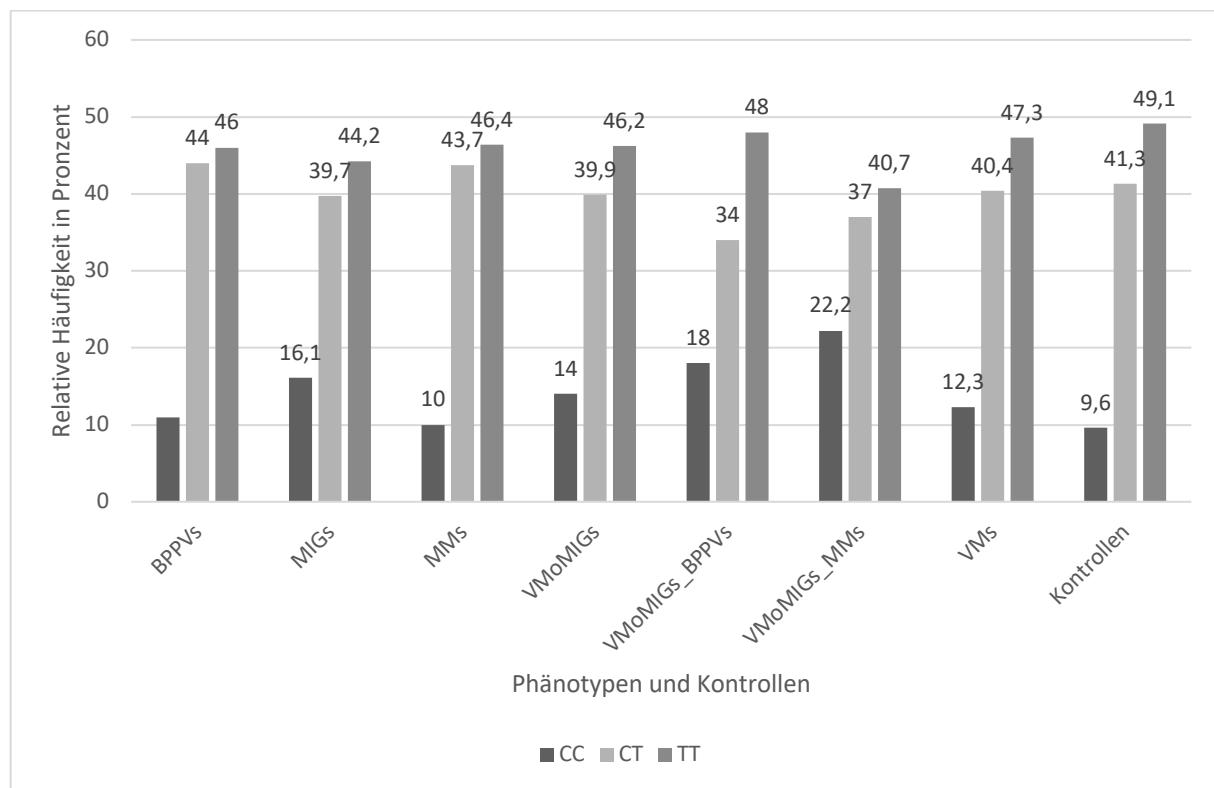


Abb. 4: Relative Häufigkeiten der Genotypen nach Phänotyp im SNP rs7640543

BPPV=Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel; MIG=Migräne; MM= Morbus Menière; VMoMIG=Vestibuläre Migräne oder Migräne; VMoMIG_BPPV=BPPV mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VMoMIG_MM= Morbus Menière mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VM= Vestibuläre Migräne

Für den TGFBR2-Polymorphismus rs7640543 zeigten sich nominal signifikante Zusammenhänge mit zwei der oben genannten Phänotypen. Die Unterschiede fanden sich zwischen den Kontrollen und der Patientengruppe Migräne ($p=0,016$), sowie der Patientengruppe Vestibuläre Migräne/Migräne mit Morbus Menière ($p=0,02$). Bei Migränepatienten zeigten sich die Genotypen mit dem selteneren A-Allel (Referenzallel) insgesamt in den Patientengruppen häufiger als in der Kontrollgruppe.

Tabelle 20: Vergleich der Genotypfrequenzen zwischen Kontrollen und Migräne bzw. Schwindelphänotypen für rs7640543

Phänotyp	p-Wert	OR (95% CI)
Migräne	0,016	1,30 (1,05 - 1,61)
Vestibuläre Migräne	0,480	1,10 (0,84 - 1,45)
Vestibuläre Migräne / Migräne	0,075	1,20 (0,98 - 1,46)
BPPV mit Migräne / Vestibulärer Migräne	0,239	1,28 (0,85 - 1,95)
Morbus Menière mit Migräne / Vest. Mig.	0,020	1,59 (1,08 - 2,35)
BPPV	0,216	1,15 (0,92 - 1,44)
Morbus Menière	0,539	1,07 (0,87 - 1,32)

OR=Odds Ratio, CI=Konfidenzintervall, Rot=signifikante Ergebnisse

Wie aus der Tabelle 20 ersichtlich, ergibt sich für das häufigere Vorkommen des Referenzallels A eine Odds Ratio über 1, somit eine höhere Erkrankungswahrscheinlichkeit für Träger der entsprechenden Genotypen in den assoziierten Erkrankungen.

4.2.3 Analyse des PHACTR1 Polymorphismus rs9349379

Der Basenaustauschpolymorphismus rs9349379 mit den Varianten Adenin und Guanin liegt im Intron 2 des Gens PHACTR1, demnach in einer nicht kodierenden Region. Gemäß dieser Lokalisation in einem Intron bewirkt dieser Austausch keine Änderung der Aminosäuresequenz (Abbildung 5). PHACTR1 liegt auf dem kurzen Arm von Chromosom 6.

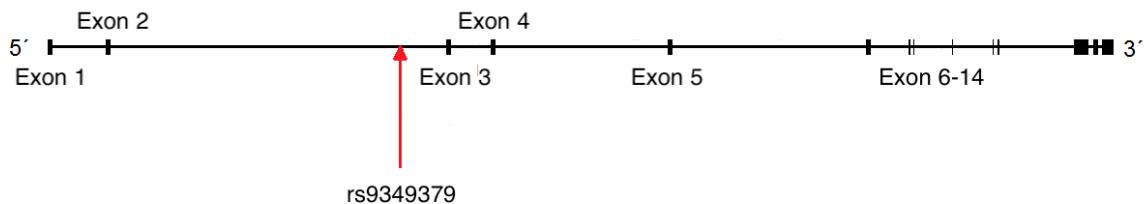


Abb. 5: Position des SNPs rs9349379 auf dem Gen PHACTR1 auf Chromosom 6

Die Genotypen (AA, AG, GG) wurden im Zusammenhang mit den Phänotypen Migräne, Vestibuläre Migräne, BPPV und Morbus Menière untersucht. Die Genotypverteilung der Stichprobe lag für alle Phänotypen innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Tabelle 21).

Tabelle 21: Genotypverteilung, HWE und MAF für Patienten und Kontrollen des SNPs rs9349379

Gruppe	Genotyp			HWE	MAF (G)
	AA	AG	GG		
Migräne	98	109	35	0,177	37,0%
Vestibuläre Migräne	18	59	69	0,225	35,9%
BPPV	24	96	98	0,386	36,9%
Morbus Menière	26	114	121	0,625	35,4%
Vestibuläre Migräne und Migräne	42	120	139	0,135	36,8%
BPPV und Migräne	9	17	24	0,349	37,0%
Morbus Menière und Migräne	12	20	22	0,109	38,0%
Kontrollen	88	377	448	0,217	40,8%

MAF=Minore Allelfrequenz, HWE=Hardy-Weinberg-Equilibrium

Die Verteilung der Genotypen innerhalb des Probandenkollektivs ist der Abbildung 6 zu entnehmen. Der Genotyp GG im PHACTR1-Polymorphismus trat am seltensten auf mit 16,92%, der Genotyp AG mit 46,37% und der Genotyp AA mit 36,71%.

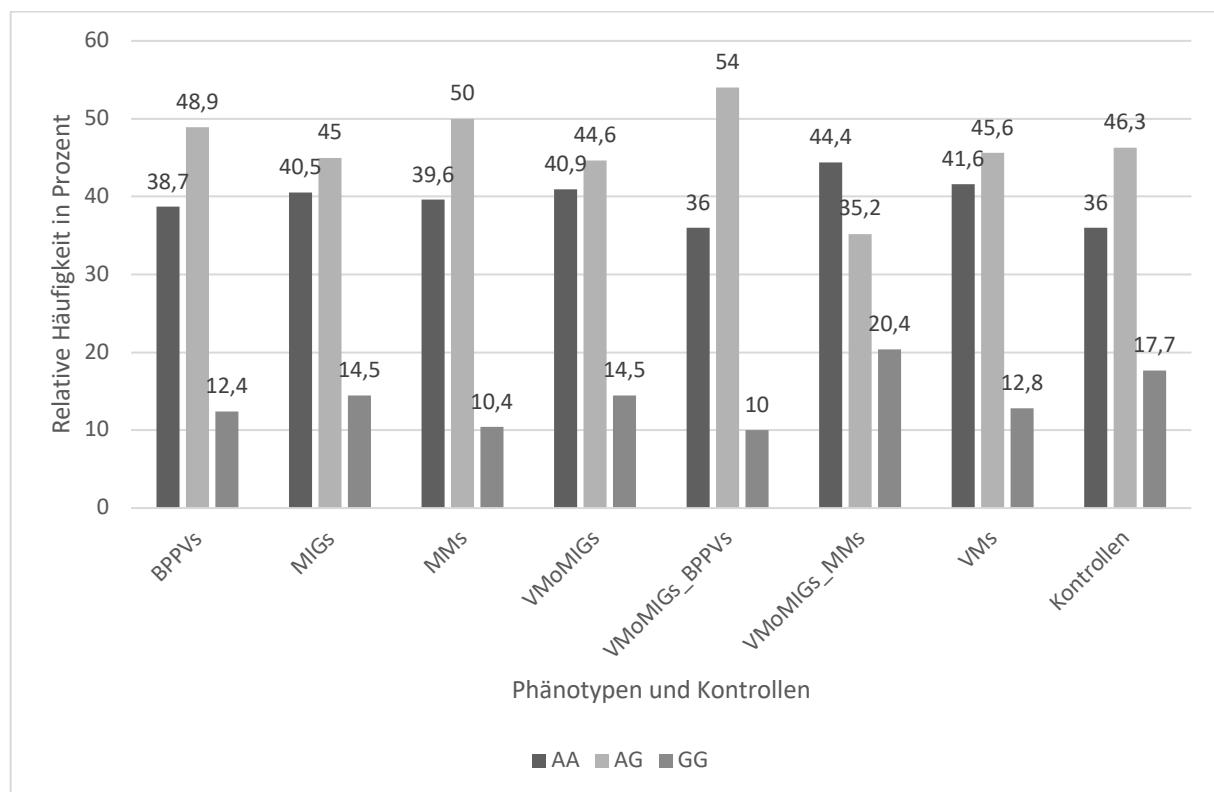


Abb. 6: Häufigkeiten der Genotypen nach Phänotyp im SNP rs9349379
 BPPV=Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel; MIG=Migräne; MM= Morbus Menière; VMoMIG=Vestibuläre Migräne oder Migräne; VMoMIG_BPPV=BPPV mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VMoMIG_MM= Morbus Menière mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VM= Vestibuläre Migräne

Für den PAHCTR1-Polymorphismus rs9349379 zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Genotypverteilung zwischen den Kontrollen und der Patientengruppe mit Morbus Menière ($p=0,027$). Hier zeigte sich das seltener Referenzallel G mit 35,4% häufiger in der Kontrollgruppe mit 40,8%.

Tabelle 22: MAF für Referenzallel G und Signifikanzniveaus der Ergebnisse für rs9349379

Phänotyp	p-Wert	OR (95% CI)
Migräne	0,119	0,85 (0,69 - 1,04)
Vestibuläre Migräne	0,059	0,78 (0,6 - 1,01)
Vestibuläre Migräne / Migräne	0,07	0,84 (0,69 - 1,01)
BPPV mit Migräne / Vestibulärer Migräne	0,346	0,82 (0,54 - 1,24)
Morbus Menière mit Migräne / Vestibulärer Migräne	0,472	0,87 (0,58 - 1,28)
Migräne		
BPPV	0,087	0,83 (0,67 - 1,03)
Morbus Menière	0,027	0,8 (0,65 - 0,97)

OR=Odds Ratio, CI=Konfidenzintervall, Rot=signifikante Ergebnisse

Wie aus der Tabelle 22 ersichtlich, ergibt sich für das niedrigere Vorkommen des Referenzallels G in der Patientengruppe eine Odds Ratio unter 1, somit eine geringere Erkrankungswahrscheinlichkeit für die Träger der entsprechenden Genotypen.

4.2.4 Analyse des MTDH Polymorphismus rs1835740

Der Basenaustauschpolymorphismus rs1835740 mit den Varianten Cytosin und Thymin liegt im Intron 2 des Gens MTDH (siehe Abbildung 7). MTDH liegt auf dem langen Arm von Chromosom 8.

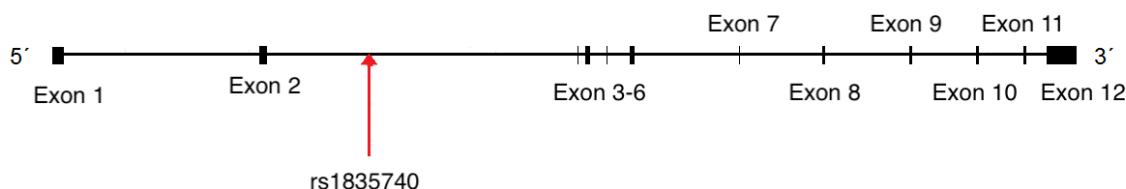


Abb. 7: Position des SNPs rs1835740 auf dem Gen MTDH auf Chromosom 8

Die Genotypen (CC, CT, TT) wurden im Zusammenhang mit den Phänotypen Migräne, Vestibuläre Migräne, BPPV und Morbus Menière untersucht. Die Genotypverteilung der Stichprobe lag für alle Phänotypen innerhalb des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (Tabelle 23).

Tabelle 23: Genotypverteilung, HWE und MAF für Patienten und Kontrollen des SNPs rs1835740

Gruppe	Genotyp			HWE	MAF (T)
	AA	AG	GG		
Migräne	152	80	10	0,402	20,7%
Vestibuläre Migräne	82	61	5	0,145	24,0%
BPPV	147	60	9	0,668	18,1%
Morbus Menière	157	91	13	0,411	22,4%
Vestibuläre Migräne und Migräne	185	107	11	0,221	21,3%
BPPV und Migräne	33	15	2	0,413	19,0%
Morbus Menière und Migräne	32	19	3	0,417	23,1%
Kontrollen	534	336	44	0,403	23,2%

MAF=Minore Allelfrequenz, HWE=Hardy-Weinberg-Equilibrium

Im gesamten Probandenkollektiv trat der Genotyp CC des MTDH-Polymorphismus rs1835740 am häufigsten auf mit einer relativen Häufigkeit von 60,42%, der Genotyp CT mit 35,15% und der Genotyp TT mit 4,43%. Die Verteilung der Genotypen innerhalb des Probandenkollektivs ist der Abbildung 8 zu entnehmen.

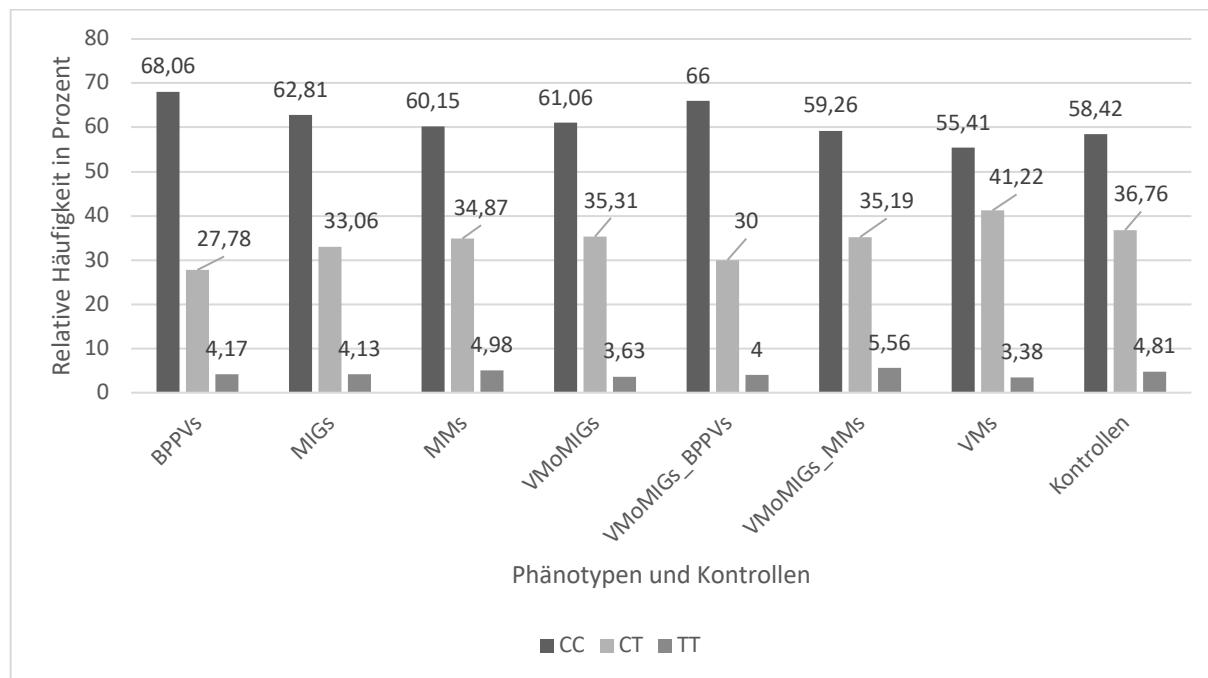


Abb. 8: Relative Häufigkeiten der Genotypen nach Phänotyp im SNP rs1835740
 BPPV=Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel; MIG=Migräne; MM= Morbus Menière; VMoMIG=Vestibuläre Migräne oder Migräne; VMoMIG_BPPV=BPPV mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VMoMIG_MM= Morbus Menière mit Vestibulärer Migräne / Migräne; VM= Vestibuläre Migräne

Für den MTDH-Polymorphismus rs1835740 zeigte sich ein nominal signifikanter Zusammenhang der Genotypverteilung mit BPPV. Hier trat das Referenzallel T mit 18,1% seltener auf als in der Kontrollgruppe mit 23,2%, die Odds Ratio lag bei 0,72 mit einem 95%-Konfidenzintervall von 0,55 bis 0,94 ($p=0,018$). Für alle übrigen Patientengruppen ergab sich im Vergleich zur Kontrollgruppe kein Unterschied in der Genotypverteilung von rs1835740.

4.2.5 Analyse der SNPs rs3790455, rs10166942 und rs11172113

Für die SNPs rs3790455 (MEF2D), rs10166942 (TRPM8) und rs11172113 (LRP1) lieferte die Studie keinen Zusammenhang zwischen den Genotypverteilungen und den untersuchten Phänotypen / Probandengruppen.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde der Zusammenhang von sieben mit Migräne assoziierten genetischen Varianten, die in den Genregionen MEF2D, TGFBR2, PHACTR1, TRPM8, LRP1, MTDH und PRDM16 lokalisiert sind, mit Migräne, vestibulärer Migräne, Morbus Menière und BPPV untersucht und mit gesunden Kontrollen verglichen. Darüber hinaus wurden Untergruppen von Patienten gebildet, die sowohl an einer Migräne als auch an einer der Schwindelerkrankungen litten.

Für die Varianten in den Genen PRDM16 (rs2651899, $p=0,048$) und TGFBR2 (rs7640543, $p=0,016$) wurden nominal signifikante Assoziationen mit Migräne gefunden. Weiterhin zeigte sich für die Variante im PRDM16-Gen ein Zusammenhang mit der Gesamtgruppe Vestibuläre Migräne und Migräne ($p=0,04$) und für die Variante im TGFBR2-Gen ein Zusammenhang in der Mischdiagnosengruppe Morbus Menière und Migräne ($p=0,02$). Für den PHACTR1-Polymorphismus rs9349379 ergab sich eine Assoziation mit Morbus Menière ($p=0,027$), für den MTDH-Polymorphismus rs1835740 ein Zusammenhang mit BPPV ($p=0,018$).

Tabelle 24: Zusammenfassung der nominal signifikanten Ergebnisse

Phänotyp	SNP			
	rs2651899 (PRDM16)	rs7640543 (TGFBR2)	rs1835740 (MTDH)	rs9349379 (PHACTR1)
Migräne	C (↑)	A (↑)		
Vestibuläre Migräne oder Migräne	C (↑)			
Morbus Menière				G (↓)
BPPV			T (↓)	
Morbus Menière mit Vestibulärer Migräne oder Migräne		A (↑)		

Pfeil nach oben: höheres Erkrankungsrisiko bei Vorkommen des minoren Allels; Pfeil nach unten: geringeres Erkrankungsrisiko bei Vorkommen des minoren Allels

5.2 Diskussion der Methoden

Für die vorliegende Arbeit wurde als Studiendesign eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie gewählt. Um die Wahrscheinlichkeit für Fehlassoziationen zu begrenzen, müssen mehrere Gütekriterien beachtet werden, die im Folgenden erörtert werden. Hierzu zählen die ethnische Herkunft, Stichprobengröße, Alter und Geschlecht der Teilnehmer, sowie die Einschlusskriterien und die verwendeten Testverfahren.

Ethnische Abstammung

Da sich die Allelfrequenzen insbesondere innerhalb der verschiedenen Ethnien häufig voneinander unterscheiden, ist nicht zwangsläufig eine untersuchte Variante in der einen Ethnie assoziiert mit demselben Phänotyp in einer anderen Ethnie. So lässt sich auch erklären, dass in den einzelnen Regionen der Welt unterschiedliche Ergebnisse für Fall-Kontroll-Assoziationsstudien erzielt werden, da die ethnische Abstammung der Populationen eine andere ist.

Die verschiedenen Studien zur Migräne wurden an Populationen mit kaukasischer Ethnizität durchgeführt (Anttila et al., 2010; Chasman et al., 2011 und Freilinger et al., 2012). In einer ersten Replikationsstudie zu Chasman 2011 in einer außereuropäischen Population konnten die Ergebnisse für assoziierte Polymorphismen mit Migräne nicht oder nur teilweise bestätigt werden (Ghosh et al., 2013).

Um das Risiko der Fehlassoziation zu begrenzen und einen Vergleich mit bereits publizierten Ergebnissen zu ermöglichen, wurden in diese Studie daher nur Teilnehmer kaukasischer Abstammung aufgenommen.

Um möglichst viele genetische Variationen zu identifizieren, die mit einer Häufigkeit von mindestens 1% in den untersuchten Populationen vorhanden waren, wurden im Rahmen des 1000 Genomes Projekts bis 2015 DNA von 2504 Individuen aus 26 Populationen sequenziert. Die Daten sind öffentlich verfügbar und werden seit Ende des Projekts durch das International Genome Sample Resource (IGSR) am EMBL-EBI gepflegt (International Genome, 2021). Auf der Basis der dort erhobenen Daten lässt sich darstellen, inwiefern sich die Allelfrequenzen der hier assoziierten Polymorphismen in den unterschiedlichen Populationen unterscheiden (Tabellen 25).

Tabelle 25: Allelfrequenzen der assoziierten SNPs in unterschiedlichen Ethnien

Population	Anzahl	Frequenz Allel 1	Frequenz Allel 2
rs2651899 (PRDM16)		T	C
Afrika	1322	0,27	0,73
Ost-Asien	1008	0,59	0,41
Europa	1006	0,57	0,43
Süd-Asien	978	0,50	0,51
Amerika	694	0,51	0,49
Vergleichsstudie 1 (Europa)	18108	0,57	0,43
Vorliegende Studie	911	0,57	0,43
rs7640543 (TGFB2)		A	G
Afrika	1322	0,10	0,90
Ost-Asien	1008	0,11	0,89
Europa	1006	0,33	0,68
Süd-Asien	978	0,17	0,83
Amerika	694	0,26	0,74
Vergleichsstudie 2 (Europa)	4580	0,32	0,68
Vorliegende Studie	911	0,30	0,70
rs1835740 (MTDH)		T	C
Afrika	1322	0,25	0,75
Ost-Asien	1008	0,62	0,38
Europa	1006	0,22	0,78
Süd-Asien	978	0,43	0,57
Amerika	694	0,22	0,78
Vergleichsstudie 3 (Europa)	10747	0,23	0,77
Vorliegende Studie	911	0,23	0,77
rs9349379 (PHACTR1)		G	A
Afrika	1322	0,03	0,97
Ost-Asien	1008	0,69	0,31
Europa	1006	0,40	0,60
Süd-Asien	978	0,51	0,49
Amerika	694	0,38	0,62
Vergleichsstudie 2 (Europa)	4580	0,38	0,62
Vorliegende Studie	911	0,40	0,60

Vergleichsstudie 1: Chasman et al., 2011, Vergleichsstudie 2: Freilinger et al., 2012, Vergleichsstudie 3: Anttila et al., 2010

Für dem PHACTR1-Polymorphismus rs9349379 zeigen sich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Ethnizitäten. Während die Allelfrequenz in der europäischen Population eine Häufigkeit für das A-Allel von 40% aufweist, kommt selbiges Allel unter Asiaten mit bis zu 69% vor, bei Afrikanern sind es allerdings nur 3%. Dies

veranschaulicht die große Varianz von Polymorphismen in den unterschiedlichen Ethnizitäten. Wie zu erwarten war, kam vorliegende Studie der europäischen Ethnizität am nächsten, da nur Probanden kaukasischer Abstammung in die Studie eingeschlossen wurden.

Auch für die SNPs in den Genen TGFBR2 und MTDH zeigt sich eine große ethnienspezifische Schwankungsbreite in der Allelfrequenz, wobei hier ebenfalls die europäische Abstammung den Genotypen- bzw. Allelfrequenzen der vorliegenden Studie am nächsten kommt. Lediglich rs2651899 (PRDM16) scheint abgesehen von der afrikanischen Population über einen größeren geografischen Raum ähnliche Frequenzen aufzuweisen (Tabelle 25).

Die Daten der vorliegenden Studie wurden mit den Daten des 1000 Genomes Projekts verglichen. Diese sollten weitgehend deckungsgleich sein, da das 1000 Genome Projekt die Allel- und Genotypverteilung der Grundgesamtheit einer Ethnie zeigen. Die signifikant assoziierten SNPs dieser Studie erwiesen sich dabei als übereinstimmend. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit genotypisierten Studienteilnehmer stammten aus dem Raum München mit kaukasischer Herkunft. Wie aus Tabelle 25 ersichtlich stimmten auch die Allel- und Genotypverteilung dieser Studie sowie die Ergebnisse der Studien von Anttila et al. (2010), Chasman et al. (2011), und Freilinger et al. (2012) in etwa mit der Allelverteilung der 1000 Genomes-Gruppe aus Europa überein.

Diagnostik

Das Feld des Phänotyps Migräne ist sehr heterogen, so dass unterschiedliche Ausprägungsmerkmale der Erkrankung berücksichtigt werden müssen. Nicht unterschieden wurde in der vorliegenden Studie zwischen Migräne mit Aura und Migräne ohne Aura. Dies erschwert die Vergleichbarkeit mit den vorangegangenen GWAS, die jeweils in Gruppen unterschieden zwischen Migräne mit und ohne Aura.

Diagnostische Sicherheit der Migräne

Die Diagnose im Integrierten Forschungs- und Behandlungszentrum in München stützte sich auf die Anamnese der Patienten anhand der Diagnosekriterien der IHS (International Headache Society 2020). Über die relativ eindeutigen Symptommuster von Migräne und der Differentialdiagnosen konnte anhand des Fragebogens standardisiert eine Kategorisierung erfolgen. Die Anamnese in dieser Studie wurde um einen Fragebogen zu anderen neurologischen Erkrankungen,

Medikamenteneinnahme und zur Familienanamnese erweitert, um mögliche sekundäre Erkrankungen und deren Einflüsse auszuschließen.

Trotzdem birgt die anamnestische Kategorisierung Risiken, da die Patientenangaben verschiedenen Fehlern unterliegen. Hierzu zählt die unvollständige Angabe, die nicht eindeutige Angabe und die Fehlinterpretation seitens des Untersuchers. Zur Unterscheidung von primären und sekundären Kopfschmerzen wurden apparative Untersuchungen hinzugefügt, hierunter zählten eine Laboruntersuchung und bildgebende Verfahren wie cCT und MRT. In den drei Vergleichsstudien kamen ebenfalls körperliche Untersuchung sowie bildgebende Verfahren zum Ausschluss einer sekundären Kopfschmerzursache zur Anwendung.

Diagnostische Sicherheit der Vestibulären Migräne

Ebenso wie die Migräne ist die vestibuläre Migräne eine anamnestische Diagnose und unterliegt somit denselben Fehlern wie die Diagnose der Migräne im Allgemeinen. Aufgrund dessen erfolgte wie bei der Migräne die Anamnese anhand eines standardisierten Fragebogens gemäß Diagnosekriterien der IHS (International Headache Society 2020).

Um einzuschätzen, ob der Schwindel auf psychosomatischer Überlagerung oder anderen primären Ursachen beruhte, wurde eine fachärztliche Meinung herangezogen. Blieb die diagnostische Einschätzung unklar oder war von einem sekundären Schwindel auszugehen, kam es zum Ausschluss. In den drei Vergleichsstudien wurde eine vestibuläre symptomatische Komponente dem Symptomkomplex Migräne zugeordnet und somit nicht zwischen Migräne und vestibulärer Migräne unterschieden. Insofern zeigt sich mit den Gruppen vestibuläre Migräne (ohne Migräne), Migräne (ohne vestibuläre Migräne) und der Gruppe mit der Mischdiagnose Migräne und/oder vestibuläre Migräne nur eine eingeschränkte Vergleichbarkeit, da Migräne in den Vergleichsstudien Grundbedingung für die Zuordnung zur Patientengruppe war, während in der hier vorliegenden Studie die dieser Einteilung am nächsten kommende Gruppe der Mischdiagnosen auch Probanden mit reiner vestibulärer Migräne enthielt.

Diagnostische Sicherheit des Morbus Menière

Um die Vergleichbarkeit der Studie mit genetischen Studien zum Morbus Menière zu erhöhen, wurde nach den Diagnosekriterien der Barany-Society das Patientengut

selektiert. Diese beruhen auf der Anamnese mit der Trias Tinnitus, Hörverlust und Schwindel. Leitliniengerecht gehört ein Ausschluss von sekundären Ursachen zur Diagnostik eines Morbus Menière, die die Symptomkonstellation zumindest hypothetisch bedingen können. Hierzu zählten Untersuchungen des Mittelohres (Otitis media), des Innenohres (Hörsturz, Bogengangsdehiszenz), der Hör- und Gleichgewichtsnerven (Akustikusneurinom, Neuritis vestibularis) und des Gehirns (Schlaganfall, Multiple Sklerose, Migräne vom Basilaristyp). Aus diesem Grund wurden alle Patienten sowohl HNO-ärztlich als auch neurologisch vorgestellt. Ergaben die Untersuchungen keine weiteren Hinweise für das Vorliegen eines sekundären Morbus Menière's, so erfolgte die Aufnahme in die Studie.

Das Vorgehen über die Erhebung einer Anamnese, die körperliche und apparative Untersuchung und bildgebende Verfahren entspricht größeren Studien zum Morbus Menière (Alba et al., 2020), sodass auch diese Studie vergleichbar mit weiteren Genotypisierungen von Suszeptibilitätsgenen des Morbus Menière ist.

Diagnostische Sicherheit des BPPV

Die Diagnose eines BPPV ist meist schon bei Anamneseerhebung recht eindeutig und lässt sich auf wenige Erkrankungen, die differentialdiagnostisch in Frage kommen, einschränken. Der BPPV erzeugt, im Gegensatz zum Morbus Menière, keine kochleären Symptome, somit entfallen die Hörminderung und der Tinnitus. Dennoch sollte der Morbus Menière immer in Betracht gezogen und ausgeschlossen werden. Eine audiometrische Abgrenzung zum Morbus Menière war daher Teil der Untersuchungen an Patienten, die für die Studie in Frage kamen. Wie im vorangegangenen Abschnitt bereits angesprochen, treten diese Symptome aber nur im akuten Anfall auf oder lassen sich nur dann nachvollziehen, sodass es hier zu einer diagnostischen Unsicherheit kommen kann.

Weitere Differentialdiagnosen waren der phobische Schwankschwindel (begleitendes Herzrasen, Schweißausbruch und kein auffälliger Untersuchungsbefund) und die Neuritis vestibularis (über Tage anhaltender Schwindel, Nystagmus zur gesunden Seite), die ebenfalls über die Anamneseerhebung und die körperliche Untersuchung ausgeschlossen wurden.

Zusätzlich wurde immer das sogenannte Hallpike-Manöver am Patienten durchgeführt, welches ein Provokationstest für den BPPV ist (Beschreibung des Hallpike-Manöver siehe unter 1.6). Ein positiver Test ist pathognomonisch für den BPPV.

In den meisten größeren Studien zum BPPV zählen eine ausführliche Anamnese, die körperliche Untersuchung mit Frenzelbrille sowie das Hallpike-Manöver zu den Standardverfahren der Diagnostik (Vgl. Strupp et al., 2020). Diese Untersuchungen wurden in vorliegender Studie durchgeführt.

Kontrollprobanden

Die Kontrollprobanden wurden ebenso wie die Patienten standardisiert befragt und untersucht, um mögliche Fehlassoziationen zu vermeiden. Hierzu zählte neben der Erhebung von Alter und Geschlecht die Familienanamnese für das Vorliegen von Migräne und primären Schwindelerkrankungen, da bei verminderter Penetranz eine Erkrankung erst in der Zukunft auftreten kann oder gar nicht auftritt. Ebenso wurde für jede Patientengruppe ein standardisierter Fragebogen entwickelt, um die jeweils anderen Erkrankungen auszuschließen und somit Überlappungen von mehreren peripheren Schwindelerkrankungen zu vermeiden. In den Vergleichsstudien von Anttila et al. (2010), Chasman et al. (2011), und Freilinger et al. (2012), wurde nicht explizit unterschieden, ob Migräne mit oder ohne symptomatischen Schwindel auftrat. Gleichermassen wurde in vorliegender Studie in der Gruppe der Migräne nicht unterschieden, ob eine Migräne mit oder ohne Aura vorlag. Insofern sind die Studienergebnisse in der Gruppe Migräne mit den Migränegruppen der Vergleichsstudien nur eingeschränkt vergleichbar.

Stichprobengröße

Die Stichprobengröße stellt ein entscheidendes Gütekriterium für Fall-Kontrollassoziationsstudien dar, da ein zu geringer Stichprobenumfang zu falsch-positiven wie auch falsch-negativen Ergebnissen führen kann (Propping et al., 1994). An vorliegender Studie nahmen insgesamt 1710 Teilnehmer teil, wobei diese sich wiederum in Kontrollen und einzelne Patientengruppen aufteilten. Die Patientengruppen wurden einer Kontrollgruppe von 927 Probanden gegenübergestellt. In die Patientengruppen konnten jeweils über 200 Probanden eingeschlossen werden bis auf die Patientengruppe Vestibuläre Migräne. Hier konnten nur 152 Patienten eingeschlossen werden.

Vergleicht man die Zahlen mit den Referenzstudien zur Migräne, so konnten die Referenzstudien deutlich mehr Patienten mit Migräne in ihre Analyse einschließen (vergleiche z.B. Anttila et al. mit über 20.000 Patienten; Anttila et al., 2010) Dies könnte ein Grund dafür sein, dass 4 Varianten in dieser Studie in der Gruppe Migräne nicht repliziert werden konnten. In diesem Sinne ist auch die Übertragbarkeit auf ein Patientengut mit primären Schwindelerkrankungen bisher nur eingeschränkt beurteilbar, da auch deren Stichproben nur klein waren. Größere Studien sowie Replikationen an unterschiedlichen Ethnien stehen noch aus.

Alter der Patienten und Kontrollen

Das Alter der Patienten betrug im Mittel 57,86 Jahre und lag somit deutlich über dem durchschnittlichen Erkrankungsalter für Migränepatienten zwischen 12. Und 20. Lebensjahr (Strupp et al., 2020). Auch in der Kontrollgruppe lag das Erkrankungsalter bei einem Mittelwert von 58,71 Jahren. Da sich bei Frauen, bei denen die Migräne häufiger auftritt als bei Männern, in der Menopause häufig durch hormonelle Faktoren eine Änderung der Intensität der Migräne oder sogar ein Sistieren der Symptome beobachtet wird (Nihaal et al., 2021), wäre prinzipiell ein niedrigeres Alter für Studien zur Migräne anzustreben. Deswegen sind auch in den Vergleichsstudien die Mittelwerte der Migränepatienten deutlich jünger angesetzt mit Werten unter 40 Jahren. In diesem Sinne ist die Vergleichbarkeit eingeschränkt.

Bezüglich der primären Schwindelerkrankungen entspricht das Alter der Patienten ungefähr dem Erkrankungsalter mit Mittelwerten um 60 Jahre, was zu dem Charakter der degenerativen Erkrankungen passt. Das mittlere Erkrankungsalter beim Morbus Menière und BPPV trifft die fünfte Lebensdekade (Strupp et al., 2020). Insofern ist die Übertragung von Migräne auf primäre Schwindelerkrankungen schwierig, da die Migräne bei Frauen oft in der Menopause wie oben beschrieben an Intensität verliert oder ganz sistiert. Insofern wäre ein mittleres Alter aller Patienten und Kontrollen für das gleichzeitige Auftreten von Migräne und primären Schwindelerkrankungen zumindest in der Gruppe der Frauen in der fünften Lebensdekade am günstigsten gewesen.

Geschlecht der Patienten und Kontrollen

Hinsichtlich des Geschlechts ist die Verteilung in dieser Studie innerhalb der Kontrollen ausgeglichen, hingegen bei den Migränepatienten zugunsten des weiblichen

Geschlechts verschoben und entspricht in dieser Gruppe der Normalverteilung von Migräne in der Bevölkerung (Frauen zu Männern 3:1). Somit ist die Vergleichbarkeit von Migränepatienten und Kontrollen etwas eingeschränkt. Auch beim BPPV sind deutlich mehr Frauen in die Studie aufgenommen worden als in der Kontrollgruppe. Lediglich die Gruppe des Morbus Meniere zeigt ein fast ausgeglichenes Patientengut hinsichtlich des Geschlechts und ist somit mit der Kontrollgruppe am besten vergleichbar. Hinsichtlich der Migräneerkrankungen (Vestibular und nicht vestibular) sollten noch Studien folgen, die eine vergleichbare Kontrollgruppe mit einer Geschlechterverteilung von 3:1 zugunsten der weiblichen Probandinnen enthält. In den Vergleichsstudien wurde auch in der Kontrollgruppe das Verhältnis von 3:1 von Frauen zu Männern eingehalten.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Fragestellung 1: Replikation von GWAS-Ergebnissen bei Migräne

Die Gene MEF2D, TGFBR2, PHACTR1, TRPM8, LRP1, MTDH, ASTN1 und PRDM16 wurden in genomweiten Assoziationsstudien als Suszeptibilitätsgene für die Entstehung von Migräne identifiziert (Anttila et al., 2010; Chasman et al., 2011; Freilinger et al., 2012;) und hiernach in mehreren Kohorten repliziert (Lighthart et al., 2011; Esserlind et al., 2013; Ran et al., 2014; Gormley et al., 2016).

In einer ersten GWAS zur Migräne identifizierten Anttila et al. (2010) an knapp 6000 Migränepatienten und 50.000 Kontrollen eine Assoziation zu einer Variante des MTDH Locus (rs1835740). Diese konnte im weiteren Verlauf teilweise repliziert werden (Ran et al., 2018), teilweise zeigte sich für diesen Locus jedoch kein Zusammenhang (Freilinger et al. 2012; Sintas et al., 2012). Auch in vorliegender Studie ergab sich kein Zusammenhang der MTDH-Variation mit Migräne, jedoch eine Assoziation zu BPPV. Dies könnte zum einen daran liegen, dass die Expression von MTDH im Innenohr sehr hoch ist (Shield Datenbank, 2020) und somit auch dort für den größten Effekt sorgt, zum anderen zeigt MTDH eine sehr hohe ethnienspezifische Schwankungsbreite hinsichtlich der Allelfrequenz (MAF in Europa 22%, in Asien 62%, International Genome, 2021), sodass nur eine hohe Ethnienübereinstimmung der verschiedenen Studien zu einer Vergleichbarkeit der Ergebnisse führen könnte.

Eine weitere große genomweite Studie wurde an einer Kohorte mit 22.000 amerikanischen Migräne-Patientinnen europäischer Abstammung durchgeführt (Chasman et al. 2011). Diese Studie konnte zwar die Assoziation mit Varianten im MTDH-Gen nicht bestätigen, lieferte jedoch drei neue mit Migräne assoziierte Loci: rs2651899 im Gen PRDM16, rs10166942 in der Nähe von TRPM8 und rs11172113 in der Nähe von LRP1 (nicht spezifisch für Migräne mit Aura oder ohne Aura). Ghosh et al. führten im Jahr 2013 erstmals eine GWAS zu migräneassoziierten Genvarianten an einer nichteuropäischen Kohorte durch, hier zeigten sich ebenfalls TRPM8, LRP1 und MTDH signifikant assoziiert (Ghosh et al., 2013). Xianguo et al. konnten diese Ergebnisse nur teilweise an einer Population der She-Bevölkerung (chinesische Subpopulation) bei Migränepatienten mit Aura replizieren (assoziiert zeigte sich lediglich PRDM16; Xianguo et al., 2019). Im Unterschied zu den Studien von Antilla et al. (2012), Ghosh et al. (2013) und Xianguo et al. (2019) enthielt die Studie von Chasman nur weibliche Probanden. Da die Migräne deutlich häufiger bei Frauen auftritt, ist eine Vorselektion des Patientenguts hinsichtlich des weiblichen Geschlechts zwar sehr sinnvoll, erschwert jedoch den Vergleich mit geschlechtlich gemischten Populationen.

Freilinger et al. (2012) identifizierten in ihrer GWAS an 2326 Patienten und 4580 Kontrollen fünf neue Loci (MEF2D, TGFBR2, PHACTR1, ASTN2) und bestätigten einen bereits bekannten Locus (PRDM16) mit einer genomweit signifikanten Assoziation für Migräne ohne Aura. Von weiteren bereits bekannten Loci, konnten TRPM8 und LRP1 repliziert werden, MTDH jedoch nicht.

Die vorliegende Fall-Kontroll-Assoziationsstudie konnte die Ergebnisse dieser GWAS in einer Kohorte von 254 Migränepatienten und 927 Kontrollen kaukasischer Abstammung teilweise bestätigen. Die SNPs in den Genen TGFBR2 ($p=0,016$) und PRDM16 ($p=0,048$) zeigten eine signifikante Assoziation mit Migränepatienten. Die Effektrichtung war dabei identisch mit den GWAS-Ergebnissen der Studien von Chasman 2011 (Chasman et al., 2011) für das Gen PRDM16 und von Freilinger 2012 (Freilinger et al., 2012) für das Gen TGFBR2 (jeweils höheres Erkrankungsrisiko bei Vorhandensein der minoren Allels).

Für PRDM16 ist die Verbindung zur Pathophysiologie der Migräne jedoch nicht offensichtlich herzustellen, da es weder in neuronalem noch in vaskulärem (epithelialem) Gewebe vorkommt (Seale et al., 2011). Es gilt als Koregulator der

Transkription von Adipozyten, hämatopoetischen Stammzellen und Kardiomyozyten (Arndt et al., 2013). Das Gen kommt ubiquitär vor und das zugehörige Genprodukt ist ein Zink-Finger-Transkriptionsfaktor (Seale et al., 2011).

In Studien konnte bisher nachgewiesen werden, dass PRDM16 bei der Entstehung des metabolischen Syndroms und Adipositas eine Rolle spielt (Yue et al., 2013). Zudem führt ein Gendefekt in PRDM16 zu hämatopoetischen Krankheitsbildern und greift in Prozesse der Blutbildung ein (Shing et al., 2007). Außerdem führt eine Deletion im Bereich des PRDM16-Gens vermehrt zu linksventrikulären Kardiomyopathien (Arndt et al., 2013). Über einen Zusammenhang zur Migräne kann bisher nur spekuliert werden.

TGFBR2 ist als Serin-/Threonin-Kinase der Gruppe der Mitogen-aktivierten Proteinkinasen zuzuordnen, die als Mittler zwischen extrazellulären Signalen wie Zytokinen, Wachstumsfaktoren oder Karzinogenen und zellulärer Proliferation fungieren. Die Fähigkeiten zur Regulation von Zelluntergang und der damit verbundene Einfluss auf neurodegenerative Prozesse spielen im Rahmen der Erforschung zur Ätiologie der Migräne eine große Rolle. So wird vermutet, dass Plastizitätsveränderungen im Gehirn zu Übererregbarkeit einzelner Regionen des zerebralen Kortex führen, welche dann ein spezifisches kortikales Ausbreitungsmuster (*cortical spreading*) neurogener Erregung zur Folge hat, was in der funktionellen Magnetresonanztomographie beobachtet werden kann (Lauritzen et al., 2016). TGFBR2 setzt über die intrazelluläre Kinase eine Signalkaskade in Gang, die wiederum zur Proliferation des Neurons anregt (Clark et al., 2005). Expressionsmuster im TGFBR2-Gen, die von der Norm abweichen, hätten folglich einen Effekt auf die Proliferation von Neuronen im Gehirn, was eine veränderte fokale Plastizität zur Folge hätte.

Die Plastizität des Gehirns beschreibt die aktivitätsabhängige Änderung der Größe, Konnektivität und Aktivierungsmuster neuronaler Netzwerke. Werden einzelne Areale des Gehirns, vor allem der Kortex, unterschiedlich stark aktiviert, verändert das Areal die bestehende Morphologie und synaptische Erregungsmuster. Diese Plastizität kann durch äußere Reize (z.B. durch die trainierte Fingerfertigkeit eines Geigenspielers oder durch Amputationen), aber auch endogen durch Wachstumsfaktoren oder Entzündungsmediatoren, verändert werden (Langer et al., 2012). Wie genau diese Veränderung der Plastizität und damit die der synaptischen Erregungsmuster bei

einem Migränepatienten aussieht und welche Expressionsmuster von TGFBR2 – zu hoch oder zu niedrig oder beides – zu einer veränderten Plastizität im Gehirn führen und damit die Wahrscheinlichkeit einer Entstehung von Migräne steigern, ist bisher nicht bekannt.

Abseits der neuronalen Erregbarkeit ist TGFBR2 zudem mit Gefäßwanddefekten assoziiert und spielt damit eine Rolle für die vaskuläre Hypothese zur Entstehung von Migräne. Law et al. (Law et al., 2006) fanden in mehreren Generationen einer Familie, in der sowohl Aortendissektionen und Migräne auftraten, dass in 11 von 14 Fällen, in denen beide Krankheiten auftraten, auch eine Mutation im TGFBR2-Gen nachzuweisen war. Die Theorie von TGFBR2 und neurovaskulären Defekten wird gestärkt durch neuere Untersuchungen, in denen Knock-Out-Mäuse TGFBR2-abhängig vaskuläre Defekte im sich entwickelnden Telencephalon aufwiesen (Hellbach et al., 2015). Die vaskuläre Hypothese bezüglich der Migräne beruht auf der Beobachtung, dass während einer Attacke die Blutgefäße ebenfalls erweitert sind und auf diese Weise auf die Hirnhäute drücken und einen Schmerzreiz setzen (Buture et al., 2016). Gestützt wird dies durch die Beobachtung, dass gefäßverengende Medikamente wie Triptane den Schmerz einer Migräneattacke lindern (Xu et al., 2016; Messlinger et al., 2011). Ein Gendefekt von TGFBR2 könnte zu einem aussackenden Gefäßwanddefekt führen und die Schmerzen einer Migräneattacke erklären.

Da die Migränesymptomatik aber nicht vollständig durch die vaskuläre Hypothese erklärt werden kann, vor allem nicht die begleitende Aurasymptomatik, gilt sie lediglich als Kofaktor zur Erklärung der Genese der Migräne. Ein Zusammenhang zwischen vaskulärer Hypothese und der Übererregbarkeitshypothese wurde bisher nicht gefunden. TGFBR2 könnte als ein Gen, das für beide Hypothesen Erklärungen bietet, als solch ein Link verstanden werden.

5.3.2 Fragestellung 2: Genetischer Link zwischen Migräne und Schwindel

Die zweite Fragestellung der vorliegenden Studie zielte auf einen genetischen Link zwischen Migräne und den primären Schwindelerkrankungen vestibuläre Migräne, Morbus Menière und BPPV ab. Diese Krankheiten treten häufiger gemeinsam auf, als die allgemeine Prävalenz beider alleiniger Symptome vermuten lassen würde (Neuhauser et al., 2011), weswegen überlappende Entstehungsmechanismen für

diese Erkrankungen möglich erscheinen. Bei der Annahme einer Prävalenz von 14% für Migräne und 7% für Schwindel läge eine Kalkulation eines gemeinsamen Auftretens bei 1% (Neuhauser et al., 2011). In mehreren großen Studien konnte allerdings nachgewiesen werden, dass Schwindel und Migräne mit mehr als 3% gemeinsamer Auftretenswahrscheinlichkeit deutlich häufiger gemeinsam vorkommen (Neuhauser et al., 2005, Neuhauser et al., 2008, Cha et al., 2009, Rassekh et al., 1992). Ein gemeinsamer Pathomechanismus von Migräne und primär vestibulären Störungen ist bisher allerdings nicht nachgewiesen worden.

Auch in der Assoziationsuntersuchung zwischen Kontrollen und Morbus Menière (mit Migräne) zeigt sich die untersuchte Variation des TGFBR2-Gen als relevant (Assoziation mit $p=0,02$) signifikant.

Wie oben erläutert, greift TGFBR2 in mehrere zelluläre Prozesse ein, die in der Hypothesen-Bildung der Migräne eine Rolle spielen. TGFBR2 trägt zur Veränderung der neuronalen Plastizität bei, hat aber auch einen Effekt auf die Entstehung von Gefäßwanddefekten. Damit kann es als Link zwischen beiden Hypothesen – vaskulär und Übererregbarkeit – gelten. Aufgrund der Assoziation sowohl mit Migräne als auch mit Morbus Menière/Migräne kann über einen gemeinsamen zugrundeliegenden Pathomechanismus spekuliert werden. Am ehesten könnte es sich dabei um die Entstehung von Gefäßwanddefekten handeln, die bei beiden Erkrankungen angenommen werden. So wird bei der Migräneattacke eine Weitung der Gefäße beobachtet und bei der Menière-Attacke eine Aussackung oder Risse der Reissner-Membran, die zu einem endolymphatischen Hydrops führen (Mancini et al., 2002).

Für den Polymorphismus des PHACTR1-Gens (rs9349379) wurde mit Morbus Menière ein nominal signifikanter Zusammenhang gefunden ($p=0,027$).

PHACTR1 (Phosphatase and Actin Regulator 1) liegt auf Chromosom 6q24.2. Mittels Realtime PCR und ELISA wurden Expressionsmuster in verschiedenen Geweben kartiert, wobei die höchste Expressionsrate im Herz und im Gehirn gefunden wurde. Am häufigsten wurde das Gen innerhalb des Gehirns im Nucleus caudatus und im Hippocampus exprimiert, wobei die größten Vorkommen direkt an der Synapse zu sehen waren (Nagase et al., 2000).

Allen et al. klonierten 2004 ebenfalls PHACTR1 mit überlappenden Ergebnissen hinsichtlich der Expressionsmuster im Gehirn. Sie verglichen darüber hinaus

PHACTR1 Genregionen von der Ratte mit Genen von Maus und Mensch und identifizierten so 4 PHACTR Gene, eins davon war PHACTR1 (Allen et al., 2004). Ihr geklontes Protein enthielt außerdem eine Reihe von RPEL repeats. Proteine mit diesen Repeats binden unpolymerisiertes Aktin und sind damit fähig, Veränderungen am Zytoskelett einer Zelle (Aktin ist ein Mikrofilament des Zytoskeletts) vorzunehmen (Huet et al., 2013).

C-terminal enthält PHACTR1 Bindedomänen für das Protein PP1 (Protein Phosphatase 1), welches von PHACTR1 in seiner Aktivität moduliert wird. PP1 ist ein multifunktionales Enzym mit diversen Rollen im Nervensystem, insbesondere in der Regulation der synaptischen Aktivität und der dendritischen Morphologie. Die synaptische Aktivität wird dabei maßgebend durch die Umgestaltung der synaptischen Plastizität beeinflusst. Darüber hinaus spielt PP1 eine Rolle in der Kontrolle von Ionenkanälen und Signal-Transduktions-Enzymen (Lisman et al., 2001) im Gehirn. Ein Defekt im Regulationsprotein PHACTR1 löst folglich eine Dysbalance der synaptischen Aktivität im Gehirn aus. PP1 fungiert dabei als molekularer Mediator.

Neuere Studien zeigen auch eine Assoziation von PHACTR1 mit inflammatorischen Reaktionen. 2015 zeigten Jarray et al. (Jarray et al., 2015), dass die Downregulation von PHACTR1 zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren wie beispielsweise Thrombin führt und so eine inflammatorische Reaktion in den Gefäßen bedingt. Weiterhin induzierte diese Downregulation ein erhöhtes Auftreten von Biomarkern für Atherosklerose. Da eine Variante im PHACTR1-Gen mit Morbus Menière einen Zusammenhang zeigte, könnte das Gen einen Hinweis auf deren gemeinsame Pathogenese geben.

Die Datenbank *Shield* (*Shared Harvard Inner-Ear Laboratory Database*), in der Genexpressionsmuster für das Innenohr gelistet sind, zeigt, dass PHACTR1 Bestandteil der Haarzellen im Innenohr sind. Die Auslenkung der Haarzellen geht mit einem Kaliumeinstrom und einer Depolarisation einher, die dann für eine Aktivierung von Synapsen sorgen. Haarzellen liegen als Mechanorezeptoren im Innenohr vor und wandeln sowohl Schall als auch Rotations- bzw. Linearbeschleunigungen in elektrische Aktivität um (Mancini et al., 2002). Da PHACTR1 als Regulationsprotein eine Dysbalance der synaptischen Aktivität im Gehirn verursacht, könnte hier der Grund für eine Hypo- oder Hyperexzitation von Nerven liegen, die in der Folge

Schwindel und auch Hörstörungen (Morbus Menière) verursachen. Genauere Untersuchungen zum Pathomechanismus müssen noch folgen.

Das Gen MTDH zeigte sich nur in der Patientengruppe BPPV (mit Migräne) als signifikant assoziiert.

MTDH spielt ebenfalls eine Rolle in Erregung von Synapsen und führt über eine erhöhte Expression vom Glutamat-Transporter-Gen SLV1A2 (auch bekannt unter EAAT2 oder GLT-1) zu einer vermehrten Ausschüttung von Glutamat in betroffenen Hirnregionen (Kang et al., 2005). Dass MTDH in der Patientengruppe BPPV signifikant assoziiert ist, kann also darauf hindeuten, dass nicht nur die Otokonienbewegung im Gehörgang die Symptomatik des BPPV auslösen, sondern auch eine Übererregbarkeit des Gehirns. MTDH wird in der Gendatenbank *Shield (Shared Harvard Inner-Ear Laboratory Database)* gelistet, die die Genexpressionsmuster im Innenohr aufzeigt und wird, wie auch PHACTR1, in den Haarzellen des Innenohrs exprimiert. Somit könnte auch das veränderte Expressionsmuster von MTDH zu einer Hyper- oder Hypoexzitabilität im Innenohr beitragen und folglich Schwindel oder Hörstörungen verursachen.

5.4 Ausblick auf zukünftige Untersuchungen

In der vorliegenden Studie konnten verschiedene Assoziationen der oben genannten Polymorphismen auf Migräne repliziert und erstmals bei Patienten mit primären Schwindelerkrankungen untersucht werden, die gehäuft mit Migräne zusammen auftreten.

Um die Relevanz der Einzelbefunde zu Assoziationen von Polymorphismen in den unterschiedlichen Genen zu den einzelnen Phänotypen beurteilen zu können, sind weitere Untersuchungen sowie Replikationsstudien nötig. So sollte vor allem die Stichprobengröße der einzelnen Probandengruppen mit primären Schwindelerkrankungen vergrößert werden, sodass statistische Schwankungen geglättet werden können.

Migräne wie auch primäre Schwindelerkrankungen weisen eine sehr heterogene Klinik auf, weswegen auch eine stärkere Ausdifferenzierung der Subgruppen denkbar wäre (Migräne mit und ohne Aura; Schwere des Hörverlusts bei Morbus Menière, einseitig

vs. beidseitig Erkrankte bei Schwindelerkrankungen etc.), um eine stärkere Korrelation zwischen Ausprägungsmerkmal und zu untersuchendem SNP zu begünstigen.

Da bereits pharmakologische Therapien zur neuronalen Hypererregbarkeit als auch gefäßverengende Therapien bei Migräne existieren, könnte eine solche Grundlagenforschung langfristig die Übertragbarkeit solcher Therapieformen auf primäre Schwindelerkrankungen erleichtern oder potenziell neue Ansätze für eine pharmakologische Therapie darstellen.

In weiteren Studien könnte zudem untersucht werden, ob und inwiefern Gene geschlechtsspezifisch für Migräne ein Risiko darstellen. Die Migräne ist eine Erkrankung, die gehäuft bei Frauen auftritt. Dieser Tatsache folgend, könnte es auch unterschiedliche genetische Risikoprofile von weiblich und männlich geben.

6 Abkürzungsverzeichnis

ASTN2	Astrotactin 2
CAMP	Cyclisches Adenosinmonophosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxyribonukleosidtriphosphate
dsDNA	Doppelstrang-DNA
EDTA	Ethyldiamintetraacetat
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
iPLEX	Increased Plexing Efficiency and Flexibility for MassARRAY
LRP1	Low-density-lipoprotein receptor-related Protein 1
MALDI-TOF MS	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Massenspektrometer
MEF2D	Myocyte enhancer factor 2D
MTDH	Metadherin
NCBI	National Centre of Biotechnology Information
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PHACTR1	Phosphatase and actin Regulator 1
PRDM16	PR-Domain-containing Protein 16
rpm	Umdrehungen pro Minute
SAP	Shrimp Alkaline Phosphatase
SD	Standardabweichung
SNP	Single nucleotide polymorphism
TGFBR2	Transforming growth factor β -receptor 2
Tris	Tris(hydroxymethyl)-aminomethan, Trometamol
TRPM8	Transient receptor potential cation channel subfamily M member 8
VM	Vestibuläre Migräne

7 Literaturverzeichnis

Alba EB, Roman-Naranjo P, Lopez-Escamez JP. Systematic Review of Sequencing Studies and Gene Expression Profiling in Familial Meniere Disease [Journal] // Genes. - 2020. - S. 1414.

Alexander TH, Harris JP. Current epidemiology of Meniere's syndrome. [Artikel] // Otolaryngologic Clinics of North America. - Oktober 2010. - S. 965-970.

Allen PB, Greenfield AT, Svennungsson P, Haspeslagh DC, Greengard P. Phactrs 1-4: a family of protein phosphatase 1 and actin regulatory proteins. [Artikel] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 4. Mai 2004. - S. 7187-7192.

Allen PB, Hvalby O, Jensen V, Errington ML, Ramsay M, Chaudhry FA, Bliss TV, Storm-Mathisen J, Morris RG, Andersen P, Greengard P. Protein Phosphatase-1 Regulation in the Induction of Long-Term Potentiation: Heterogeneous Molecular Mechanisms [Artikel] // The Journal of Neuroscience. - 15. Mai 2000. - S. 3537-3543.

American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Foundation Inc. Diagnosis in Menières Disease [Artikel] // Otolaryngol Head Neck Surgery. - 1995. - S. 181-185.

Anttila V, Stefansson H, Kallela M, Todt U, Terwindt GM, Calafato MS, Nyholt DR, Dimas AS, Freilinger T, Müller-Myhsok B, Artto V, Inouye M, Alakurtti K, Kaunisto MA, Hämäläinen E, de Vries B, Stam AH, Weller CM, Heinze A, Heinze-Kuhn K, Goebel I, Borck. Genome-wide association study of migraine implicates a common susceptibility variant on 8q22.1. [Artikel] // Nature Genetics. - Oktober 2010. - S. 869-873.

Arndt AK, Schafer S, Drenckhahn JD, Sabeh MK, Plovie ER, Caliebe A, Klopocki E, Musso G, Werdich AA, Kalwa H, Heinig M, Padera RF, Wassilew K, Bluhm J, Harnack C, Martitz J, Barton PJ, Greutmann M, Berger F, Hubner N, Siebert R, Kramer HH, Cook SA. Fine mapping of the 1p36 deletion syndrome identifies mutation of PRDM16 as a cause of cardiomyopathy. [Artikel] // American journal of human genetics. - 11. Juli 2013. - S. 67-77.

Atkinson M. Migraine and Meniere's disease [Artikel] // Archive of Otolaryngology. - März 1962. - S. 220-225.

Attyé A, Eliezer M, Galloux A, Pietras J, Tropres I, Schmerber S, Dumas G, Krainik A. Endolymphatic hydrops imaging: Differential diagnosis in patients with Meniere disease symptoms. [Artikel] // Diagnostic and Interventional Imaging. - Oktober 2017. - S. 699-706.

Babalian A, Vibert N, Assie G, Serafin M, Mühlethaler M, Vidal PP. Central vestibular networks in the guinea-pig: functional characterization in the isolated whole brain in vitro [Artikel] // Neuroscience. - November 1997. - S. 405-426.

Bautista DM, Siemens J, Glazer JM. The menthol receptor TRPM8 is the principal detector of environmental cold [Artikel] // Nature. - 12. Juli 2007. - S. 204-208.

Breitbart RE, Liang CS, Smoot LB, Laheru DA, Mahdavi V, Nadal-Ginard B. A fourth human MEF2 transcription factor, hMEF2D, is an early marker of the myogenic lineage [Artikel] // Development (Cambridge, England). - August 1993. - S. 1095-1106.

Britt DE, Yang DF, Yang DQ, Flanagan D, Callanan H, Lim YP, Lin SH, Hixson DC. Identification of a novel protein, LYRIC, localized to tight junctions of polarized epithelial cells. [Artikel] // Experimental cell research. - Oktober 2004. - S. 134-148.

Brown DM, Ruoslahti E. Metadherin, a cell surface protein in breast tumors that mediates lung metastasis [Artikel] // Cancer Cell. - April 2004. - S. 365-374.

Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. [Artikel] // Nature reviews. Neuroscience. - Mai 2009. - S. 333-344.

Buture A Goorah R, Nimeri R, Ahmed F Current Understanding on Pain Mechanism in Migraine and Cluster Headache. [Artikel] // Anesthesiology and Pain Medicine. - April 2016.

Cal R, Bahmad Jr. R Migraine associated with auditory-vestibular dysfunction [Artikel] // Brazilian Journal of Otorhinolaryngology. - Juli-August 2008. - S. 606-612.

Cha Y, Brodsky J, Ishiyama G, Sabatti C, Baloh W The relevance of migraine in patients with Meniere's disease [Artikel] // Acta Otolaryngologica. - 2007. - S. 1241-1245.

Cha Y, Lee H, Santell L, Baloh R Association of benign recurrent vertigo and migraine in 208 patients [Artikel]. - Februar 2009. - S. 550-555.

Chasman DI, Schürks M, Anttila V, de Vries B, Schminke U, Launer LJ, Terwindt GM, van den Maagdenberg AM, Fendrich K, Völzke H, Ernst F, Griffiths LR, Buring JE, Kallela M, Freilinger T, Kubisch C, Ridker PM, Palotie A, Ferrari MD, Hoffmann W, Zee RY. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population [Artikel] // Nature Genetics. - Juni 2011. - S. 695-698.

Clark DE, Errington TM, Smith JA, Frierson HF Jr, Weber MJ, Lannigan DA. The serine/threonine protein kinase, p90 ribosomal S6 kinase, is an important regulator of prostate cancer cell proliferation. [Artikel] // Cancer Research. - 15. April 2005. - S. 3108-3116.

Close LN, Eftekhari S, Wang M, Charles AC, Russo AF. Cortical spreading depression as a site of origin for migraine: Role of CGRP. [Artikel] // Cephalgia. - März 2019. - S. 428-434.

Corey DP, Shen J. Shield [Online]. - 28. 09. 2020. - https://shield.hms.harvard.edu/about_us.html.

Cutrer FM, Baloh RW. Migraine-associated dizziness. [Artikel] // Headache . - Juni 1992. - S. 300-304.

Database Shared Harvard Inner-Ear Laboratory Shared Harvard Inner-Ear Laboratory Database [Online]. - 08 2020. - <https://shield.hms.harvard.edu/viewgene.html?gene=Mtdh>.

Debette S, Kamatani Y, Metso TM, Kloss M, Chauhan G, Engelter ST, Pezzini A, Thijs V, Markus HS, Dichgans M, Wolf C, Dittrich R, Touzé E, Southerland AM, Samson Y, Abboud S, Béjot Y, Caso V, Bersano A, Gschwendtner A, Sessa M, Cole J, Lamy C, Medeiros. Common variation in PHACTR1 is associated with susceptibility to cervical artery dissection [Artikel] // Nature Genetics. - Januar 2015. - S. 78-83.

Derebery MJ, Berliner KI. Allergy and its relation to Meniere's disease. [Artikel] // Otolaryngologic clinics of North America.. - Oktober 2010. - S. 1047-1058.

Deutsches Schwindelzentrum www.klinikum.uni-muenchen.de [Online]. - 2016. - 14. Februar 2016. - http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Deutsches-Schwindelzentrum-IFB-LMU/de/Patienten/Informationen_zu_Schwindel_und_Gleichgewicht/Diagnose/index.html#VestibuläreMigräne.

Dieterich M, Brandt T. Episodic vertigo related to migraine (90 cases): vestibular migraine? [Artikel] // Journal of Neurology. - Oktober 1999. - S. 883-892.

Dornhoffer J, Yuan L, Donaldson L, Rizk H. Factors Implicated in Response to Treatment/Prognosis of Vestibular Migraine [Artikel] // European Archive of Otorhinolaryngology. - Mai 2020.

Drummond PD. Triggers of motion sickness in migraine sufferers [Artikel] // Headache. - Juni 2005. - S. 653-656.

Baron EP. Headache, cerebral aneurysms, and the use of triptans and ergot derivatives. [Artikel] // Headache. - Mai 2015. - S. 739-747.

Esserlind AL, Christensen AF, Le H, Kirchmann M, Hauge AW, Toyserkani NM, Hansen T, Grarup N, Werge T, Steinberg S, Bettella F, Stefansson H, Olesen J. Replication and meta-analysis of common variants identifies a genome-wide significant locus in migraine. [Artikel] // European Journal of Neurology. - Mai 2013. - S. 765-772.

Esserlind AL, Christensen AF, Le H, Kirchmann M, Hauge AW, Toyserkani NM, Hansen T, Grarup N, Werge T, Steinberg S, Bettella F, Stefansson H, Olesen J. Replication and meta-analysis of common variants identifies a genome-wide significant locus in migraine [Artikel] // European journal of neurology. - Mai 2013. - S. 765-772.

Fan X, Wang J, FAn W, Chen L, Gui B, Tan G, Zhou J. Replication of migraine GWAS susceptibility loci in Chinese Han population. [Artikel] // Headache. - April 2014. - S. 709-715.

Feuerecker R, Dieterich M, Eckhardt-Henn A, Becker-Bense S. Somatoform Vertigo Syndroms [Artikel] // Fortschritte der Neurologie-Psychiatrie. - März 2015. - S. 135-141.

Fife TD. Benign positional vertigo [Artikel] // Seminars in Neurology. - November 2009. - S. 500-508.

First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JB. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders, Clinician Version (SCID-CV). [Artikel] // American Psychiatric Press. - 1996.

Flavell SW, Cowan CW, Kim TK, Greer PL, Lin Y, Paradis S, Griffith EC, Hu LS, Chen C, Greenberg ME. Activity-dependent regulation of MEF2 transcription factors suppresses excitatory synapse number. [Artikel] // Science. - Februar 2006. - S. 1008-1012.

Freilinger T, Anttila V, de Vries B, Malik R, Kallela M, Terwindt GM, Pozo-Rosich P, Winsvold B, Nyholt DR, van Oosterhout WP, Artto V, Todt U, Hämäläinen E, Fernández-Morales J, Louter MA, Kaunisto MA, Schoenen J, Raitakari O, Lehtimäki T, Vila-Pueyo M [et al.] Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura. [Artikel] // Nature Genetics. - 10. Juni 2012. - S. 777-782.

Freilinger T. Genetics of primary headache syndroms [Journal] // Bundesgesundheitsblatt. - 2014. - S. 919-927.

Gürkov R, Jerin C, Flatz W, Maxwell R. Clinical manifestations of hydropic ear disease (Menière's). [Artikel] // European Archives of oto-rhino-laryngology. - 10. 10 2018.

Gacek RR. Menière's disease is a viral neuropathy [Artikel] // Journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties. - Januar 2009. - S. 78-86.

Gallego-Martinez A, Lopez-Escamez JA. Genetic architecture of Meniere's disease [Artikel] // Hearing Research. - 13. Dezember 2019.

Gao L, She H, Li W, Zeng J, Zhu J, Jones DP, Mao Z, Gao G, Yang Q. Oxidation of survival factor MEF2D in neuronal death and Parkinson's disease. [Artikel] // Antioxidans and Redox signaling. - 20. Juni 2014. - S. 2936-48.

Gasparini CF, Sutherland HG, Griffiths LR. Studies on the Pathophysiology and Genetic Basis of Migraine [Artikel] // Current Genomics. - August 2013. - S. 300-315.

Geppetti P, Capone JG, Trvisani M, Zagli G, Tola MR. CGRP and migraine: neurogenic inflammation revisited. [Artikel] // Journal of Headache and Pain. - 8. April 2005. - S. 61-70.

Ghosh J, Pradhan S, Mittal B. Genome-wide-associated variants in migraine susceptibility: a replication study from North India. [Artikel] // Headache. - November-Dezember 2013. - S. 1583-1594.

Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. [Artikel] // Annals of Neurology. - August 1990. - S. 183-187.

Gormley P, Anttila V, Winsvold B, Palta P, Esko T, Pers T, Farh KH, Cuenca-Leon E, Muona M, Furlotte N, Kurth T, Ingason A, McMahon G, Lighthart L, Terwindt G, Kallela M. Meta-analysis of 375,000 individuals identifies 38 susceptibility loci for migraine [Artikel] // Nature Genetics. - 20. Juni 2016. - S. 856-866.

Grände G, Labrujere S, Haanes KA, VanDenBrink AM, Edvinsson L. Comparison of the vasodilator responses of isolated human and rat middle meningeal arteries to migraine related compounds [Artikel] // Journal of Headache and Pain. - 23. April 2014. - S. 15-22.

Graham JR, Wolff HG. Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate [Artikel] // Archives of Neurology and Psychiatry. - April 1938. - S. 737-763.

Greengard P, Allen PB, Nairn AC. Beyond the dopamine receptor: the DARPP-32/protein phosphatase-1 cascade [Artikel] // Neuron. - Juli 1999. - S. 435-447.

Hahm KB, Cho K, Lee C, Im YH, Chang J, Choi SG, Sorensen PH, Thiele CJ, Kim SJ. Repression of the gene encoding the TGF-beta type II receptor is a major target of the EWS-FLI1 oncoprotein. [Artikel] // Nature Genetics. - Oktober 1999. - S. 222-227.

Hallpike CS, Cairns H. Observations on the pathology of Menière's syndrome [Artikel] // Proceedings of the royal Society of Medicine. - September 1938. - S. 1317-1336.

Hammond-Weinberger DR, Wang Y, Glavis-Bloom A, Spitzer NC. Mechanism for neurotransmitter-receptor matching [Artikel] // Proceedings of the National Acadamy of Science of the USA. - 25. Februar 2020. - S. 4368-4374.

HapMap <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [Online]. - 2016. - 23. 1 2016. - http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=9349379.

Harris JP Alexander TH. Current-day prevalence of Ménière's syndrome. [Artikel] // Audiology and neuro-otology. - Februar 2010. - S. 318-322.

Hellbach N, Weise SC, Vogel T. Tgfb2 conditional knock-out in the developing telencephalon results in neurovascular defects [Artikel] // International Journal of Developmental Neuroscience. - Dezember 2015. - S. 1016.

Hinchcliffe R. Headache and Meniere's disease [Artikel] // Acta Otorrinolaringologica. - April 1967. - S. 384-390.

Huang D, Li S, Dhaka A, Story GM, Cao YQ. Expression of the transient receptor potential channels TRPV1, TRPA1 and TRPM8 in mouse trigeminal primary afferent neurons innervating the dura. [Artikel] // Molecular Pain . - 12. September 2012. - S. doi: 10.1186/1744-8069-8-66..

Huet G, Rayakulä EK, Viita T, Skarp KP, Crivaro M, Dopie J, Vartiainen MK. Actin-regulated feedback loop based on Phactr4, PP1 and cofilin maintains the actin monomer pool. [Artikel] // Journal of Cell Science. - 15. Januar 2013. - S. 497-507.

Ikeshima H, Imai S, Shimoda K, Hata J, Takano T. Expression of a MADS box gene, MEF2D, in neurons of the mouse central nervous system: implication of ist binary function in myogenic and neurogenic cell lineage [Artikel] // Neuroscience letters. - November 1995. - S. 117-120.

First M, Gibbon M, Spitzer R, Williams J, Benjamin L. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis II Personality Disorders, (SCID-II). [Artikel] // American Psychiatric Press. - (1997).

Johnson GD. Medical management of migraine-related dizziness and vertigo. [Artikel] // The Laryngoscope. - Januar 1998. - S. 1-28.

Kamm K, Straube A. Migraine - More than a headache [Artikel] // MMW - Fortschritte der Medizin. - Mai 2020. - S. 56 - 59.

Kang DC, Su ZZ, Sarkar D, Emdad L, Volsky DJ, Fisher PB. Cloning and characterization of HIV-1-inducible astrocyte elevated gene-1, AEG-1. [Artikel] // Gene. - Juni 2005. - S. 8-15.

Kim JS, Yue Q, Jen JC, Nelson SF, Baloh RW. Familial migraine with vertigo: no mutations found in CACNA1A [Artikel] // American journal of medical genetics.. - 1. September 1998. - S. 148-151.

Kim YJ, Kwon SU. Recurrent steroid-responsive cerebral vasogenic edema in status migrainosus and persistent aura. [Artikel] // Cephalgia. - Juli 2015. - S. 728-734.

Kitahara T, Doi K, Maekawa C, Kizawa K, Horii A, Kubo T, Kiyama H. Menière's attacks occur in the inner ear with excessive vasopressin type-2 receptors [Artikel] // Journal of neuroendocrinology. - Dezember 2008. - S. 1295-1300.

Kochen M. Allgemeinmedizin und Familienmedizin [Buch]. - 2006.

Kogelman LJ, Falkenberg K, Halldorsson GH, Poulsen LU, Worm J, Ingason A, Stefansson H, Hansen TF, Olesen J. Comparing migraine with and without aura to healthy controls using RNA sequencing. [Artikel] // Cephalgia. - 19. Mai 2019. - S. Epub ahead of print.

Kumagami H, Terakado M, Sainoo Y, Baba A, Fujiyama D, Fukuda T, Takasaki K, Takahashi H. Expression of the osmotically responsive cationic channel TRPV4 in the endolymphatic sac [Artikel] // Audiology and neuro-otology. - 2009. - S. 190-197.

Lampl C, Rapoport A, Levin M, Bräutigam E. Migraine and episodic Vertigo: a cohort survey study of their relationship. [Artikel] // The Journal of Headache and Pain. - 8. April 2019. - S. 33.

Langer N, Hänggi J, Müller NA, Simmen HP, Jäncke L. Effects of limb immobilization on brain plasticity. [Artikel] // Neurology. - Januar 2012. - S. 182-188.

Lauritzen M, Strong AJ. Spreading depression of Leão' and its emerging relevance to acute brain injury in humans. [Artikel] // Journal of cerebral blood flow and Metabolism. - Januar 2016.

Law C, Bunyan D, Castle B, Day L, Simpson I, Westwood G, Keeton B. Clinical features in a family with an R460H mutation in transforming growth factor β receptor 2 gene. [Artikel] // Journal of medical genetics. - Dezember 2006. - S. 908-916.

Leão AP. Spreading depression of activity in the cerebral cortex [Artikel] // Journal of Neurophysiology. - 1944. - S. 359-390.

Lee S, von Stülpnagel C, Heinen F. Therapie der Migräne im Kindesalter [Artikel] // Monatsschrift Kinderheilkunde. - August 2006. - S. 764-772.

Lempert T, Neuhauser H, Daroff RB. Vertigo as a symptom of migraine. [Artikel] // Annals of the New York Academy of Science. - Mai 2009. - S. 242-251.

Lempert T, Olesen J, Furman J, Waterston J, Seemungal B, Carey J, Bisdorff A, Versino M, Evers S, Newman-Toker D. Vestibuläre Migräne: diagnostische Kriterien, Konsensusdokument der Bárány-Society und der International Headache Society [Artikel] // Der Nervenarzt. - April 2013. - S. 511-516.

Lewis RF, Priesol AJ, Nicoucar K, Lim K, Merfeld DM. Dynamic tilt thresholds are reduced in vestibular migraine [Artikel] // Journal of Vestibular research. - 2011. - S. 323-330.

Li NF, Wang HM, Bi YW, Zhou L, Yao XG, Yan ZT, Zu FY. Association study of PRDM16 gene polymorphisms with essential hypertension in Xinjiang Uygur population [Artikel] // Chinese journal of medical genetics. - Dezember 2013. - S. 716-720.

Ligthart L, de Vries B, Smith AV, Ikram MA, Amin N, Hottenga JJ, Koelewijn SC, Kattenberg VM, de Moor MH, Janssens AC, Aulchenko YS, Oostra BA, de Geus EJ, Smit JH, Zitman FG, Uitterlinden AG, Hofman A, Willemse G, Nyholt DR, Montgomery GW, Terwindt GM. Meta-analysis of genome-wide association for migraine in six populationbased European cohorts. [Artikel] // European journal of human genetics. - August 2011. - S. 901-907.

Lin HY, Wang XF, Ng-Eaton E, Weinberg RA, Lodish HF. Expression cloning of the TGF-beta type II receptor, a functional transmembrane serine/ threonine kinase. [Artikel] // Cell. - Februar 1992. - S. 775-785.

Lin X, Shah S, Bulleit RF. The expression of MEF2 genes is implicated in CNS neuronal differentiation [Artikel] // Brain research. Molecular brain research. - Dezember 1996. - S. 307-316.

Ling X, Li KZ, Shen B, Si LH, Hong Y, Yang X. Diagnosis and treatment of anterior canal benign paroxysmal positional vertigo. [Artikel] // International Journal of Audiology. - 15. Oktober 2018.

Lisman JE, Zhabotinsky AM. A model of synaptic memory: a CaMKII/PP1 switch that potentiates transmission by organizing an AMPA receptor anchoring assembly. [Artikel] // Neuron. - 2. August 2001. - S. 191-201.

Liu B, Fan L, Balakrishna S, Sui A, Morris JB, Jordt SE. TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain. [Artikel] // Pain. - Juni 2013. - S. 2169–2177.

Liu Q, Trotter J, Zhang J, Peters MM, Cheng H, Bao J, Han X, Weeber EJ, Bu G. Neuronal LRP1 knockout in adult mice leads to impaired brain lipid metabolism and progressive, age-dependent synapse loss and neurodegeneration. [Artikel] // Journal of Neuroscience. - 15. Dezember 2010. - S. 17068-17078.

Liveing E. On megrim, sick-headache and some allied disorders: a contribution to the pathology of nerve-storms. [Artikel]. - London, New Burlington Street: J. and A. Churchill, 1873.

Lopez-Escamez JA, Carey J, Chung WH, Goebel J, Magnusson M, Mandalà M, Newman-Toker D, Strupp M, Suzuki M, Trabalzini F, Bisdorff A. Diagnostic criteria for Menière's disease according to the Classification Committee of the Bárány Society [Journal] // HNO. - 2017. - S. 887-893.

Mancini F, Catalani M, Carru M, Monti B. History of Menière's disease and its clinical presentation. [Artikel] // Otolaryngologic clinics of North America.. - Juni 2002. - S. 565-580.

Marano E, Marcelli V, Di Stasio E, Bonuso S, Vacca G, Manganelli F, Marciano E, Perretti A. Trigeminal stimulation elicits a peripheral vestibular imbalance in migraine patients [Artikel] // Headache. - April 2005. - S. 325-331.

Martin PR, MacLeod C. Behavioral management of headache triggers: avoidance of triggers is an inadequate strategy [Artikel] // Clinical Psychology Review. - 2009. - S. 483-495.

May A, Goadsby PJ. The trigeminovascular system in humans: pathophysiologic implications for primary headache syndromes of the neural influences on the cerebral circulation [Artikel] // Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. - Februar 1999. - S. 115-127.

May P, Rohlmann A, Bock HH, Zurhove K, Marth JD, Schomburg ED, Noebels JL, Beffert U, Sweatt JD, Weeber EJ, Herz J. Neuronal LRP1 functionally associates with postsynaptic proteins and is required for normal motor function in mice. [Artikel] // Molecular and Cellular Biology. - 2004. - S. 8872-8883.

Messlinger K, Fischer MJ, Lennerz JK. Neuropeptide effects in the trigeminal system: pathophysiology and clinical relevance in migraine. [Artikel] // The Keio Journal of Medicine. - 2011. - S. 82-89.

Moretti G, Manzoni GC, Caffarra P, Parma M. "Benign recurrent vertigo" and its connection with migraine [Artikel] // Headache. - November 1980. - S. 344-346.

Morisaki T, Morisaki H. Genetics of hereditary large vessel diseases [Artikel] // Journal of Human Genetics.. - Januar 2016. - S. 21-26.

Moskowitz MA. Neurogenic inflammation in the pathophysiology and treatment of migraine [Artikel] // Neurology. - Juni 1993. - S. 16-20.

Murdin L, Davies RA, Bronstein AM. Vertigo as a migraine trigger. [Artikel] // Neurology. - August 2009. - S. 638-642.

Murdin L, Premachandra P, Davies R. Sensory dysmodulation in vestibular migraine: an otoacoustic emission suppression study [Artikel] // The Laryngoscope. - August 2010. - S. 1632-1636.

Nagase T, Kikuno R, Hattori A, Kondo Y, Okumura K, Ohara O. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XIX. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. [Artikel] // DNA research. - 31. Dezember 2000. - S. 347-355.

Nakashima T, Naganawa S, Sugiura M, Teranishi M, Sone M, Hayashi H, Nakata S, Katayama N, Ishida IM. Visualization of Endolymphatic Hydrops in Patients with Menière's Disease [Artikel] // The Laryngoscope. - März 2007. - S. 415-420.

Neff BA, Staab JP, Eggers SD, Carlson ML, Schmitt WR, Van Abel KM, Worthington DK, Beatty CW, Driscoll CL, Shepard NT. Auditory and vestibular symptoms and chronic subjective dizziness in patients with Ménière's disease, vestibular migraine, and Ménière's disease with concomitant vestibular migraine [Artikel] // *Otology and Neurotology*. - September 2012. - S. 1235-1244.

Neubauer G, Ujlaky R. Migräne - eine Volkskrankheit und ihre Kosten [Artikel] // *Pharmazie in unserer Zeit*. - September 2002. - S. 494-497.

Neugebauer H, Adrión C, Glaser M, Strupp M. Long-term changes of central ocular motor signs in patients with vestibular migraine [Artikel] // *European Neurology*. - 2012. November 2012. - S. 102-107.

Neuhauser H, Leopold M, von Brevern M, G Arnold und T Lempert. The interrelations of migraine, vertigo, and migrainous vertigo [Artikel] // *Neurology*. - 27. Februar 2001. - S. 436-441.

Neuhauser H, Radtke A, von Brevern M, Feldmann M, Lezius F, Ziese T, Lempert T. Migrainous vertigo: prevalence and impact on quality of life [Artikel] // *Neurology*. - 26. September 2006. - S. 1028 – 1033.

Neuhauser H, von Brevern M. Epidemiological evidence for a link between vertigo and migraine [Journal] // *Journal of vestibular research*. - 2011. - S. 299-304.

Neuhauser H, von Brevern M, Radtke A, Lempert T. Population-based epidemiological evidence for the link between dizziness and migraine [Journal] // *Aktuelle Neurologie*. - 2008. - S. 177.

Neuhauser H, von Brevern M, Radtke A, Lezius F, Feldmann M, Ziese T, Lempert T. Epidemiology of vestibular vertigo: a neurologic survey of the general population. [Journal] // *Neurology*. - September 2005. - S. 898-904.

Reddy N, Desai MN, Schoenbrunner A, Schneeberger S, Janis JE. The complex relationship between estrogen and migraines: a scoping review [Journal] // *Systematic reviews*. - 2021. - S. 10.

Nilsson A, Vesterlund L, Oldenborg PA. Macrophage expression of LRP1, a receptor for apoptotic cells and unopsonized erythrocytes, can be regulated by glucocorticoids. [Artikel] // *Biochemical and biophysical research communications*. - Januar 2012. - S. 1304-1309.

Nishikata I, Sasaki H, Iga M, Tateno Y, Imayoshi S, Asou N, Nakamura T, Morishita K. A novel EVI1 gene family, MEL1, lacking a PR domain (MELIS) is expressed mainly in t(1;3)(p36;q21)-positive AML and blocks G-CSF-induced myeloid differentiation. [Artikel] // *Blood*. - November 2003. - S. 3323-3332.

Obermann M, Katsarava Z. Epidemiology of unilateral headaches [Artikel] // *Expert Review of Neurotherapeutics*. - September 2008. - S. 1313-1320.

Obermann M, Strupp M, Holle D, Straube A, Förderreuther S, Katsarava Z, Diener HC. Vestibular Migraine [Online]. - 18. Oktober 2013. - 14. Februar 2016. - https://www.thieme.de/statics/bilder/thieme/final/de/bilder/tw_neurologie/migräne.pdf.

Ohmen JD, White CH, Li X, Wang J, Fisher L, Zhang H, Derebery MJ, Friedman RA. Genetic evidence for an ethnic diversity in the susceptibility to Ménière's disease [Artikel] // *Otology and Neurotology*. - September 2013. - S. 1336-41.

Olesen J. The economic cost of brain disorders in Europe. [Artikel] // European journal of Neurology. - Januar 2012. - S. 155-162.

Ozdamar B, Bose R, Barrios-Rodiles M, Wang HR, Zhang Y, Wrana JL. Regulation of the polarity protein Par6 by TGFbeta receptors controls epithelial cell plasticity. [Artikel] // Science. - März 2005. - S. 1603-1609.

Parnes LS, Agrawal SK, Atlas J. Diagnosis and management of benign paroxysmal positional vertigo (BPPV) [Artikel] // Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne. - September 2003. - S. 681-693.

Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni I, McIntyre P, Bevan S, Patapoutian A. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. [Artikel] // Cell. - 2002. - S. 705-715.

Perez Lopez L, Belinchon de Diego A, Bermell Carrion A, Perez Garrigues H, Morera Perez C. Ménière's disease and migraine [Artikel] // Acta otorrinolaryngologica espanola. - März 2006. - S. 126-129.

Phillips J, Longridge N, Mallison A, Robinson G. Migraine and vertigo: a marriage of convenience? [Artikel] // Headache. - September 2010. - S. 1362-1365.

Potthoff MJ, Olson EN. MEF2: a central regulator of diverse developmental programs [Artikel] // Development. - Dezember 2007. - S. 4131-4140.

Propping P, Nöthen MM, Körner J, Maier W. Genetic association in psychiatric diseases. Concepts and findings [Artikel] // Der Nervenarzt. - Dezember 1994. - S. 725-740.

Radtke A, Lempert T, Gresty MA, Brookes GB, Bronstein AM, Neuhauser H. Migraine and Meniere's disease: is there a link? [Artikel] // Neurology. - 2002. - S. 1700-1704.

Ran C, Fourier C, Zinnegger M, Steinberg A, Sjöstrand C, Waldenlind E, Belin AC. Implications for the migraine SNP rs1835740 in a Swedish cluster headache population [Journal] // Journal of Headache and Pain. - 2018. - S. 10194-10218.

Ran C, Graae L. replication study of GWAS findings in migraine identifies association in a Swedish case-control sample [Journal] // BMC medical genetics. - 2014. - S. 15-38.

Rassekh C, Harker L. The prevalence of migraine in Meniere's disease [Artikel] // The Laryngoscope. - Februar 1992. - S. 135-138.

Rogers D, Protti T, Smitherman T. Fear, Avoidance, and Disability in Headache Disorders [Artikel] // Current pain and headache reports. - Mei 2020. - S. 33.

Ronel J, Hennignsen P. Psychische Faktoren bei Schwindelerkrankungen [Buchabschnitt] // HNO Praxis heute. / Buchverf. Biesinger E. - Heidelberg : Springer, 2007.

Schaaf H, Holtmann H, hesse G, Kolbe U, Brehmer D. Der (reaktive) psychogene Schwindel. Eine wichtige Teilkomponente bei wiederholten M.Menière-Anfällen [Artikel] // HNO. - [s.l.] : Springer-Verlag, Oktober 1999. - S. 924-932.

Seale P, Conroe HM, Estall J, Kajimura S, Frontini A, Ishibashi J, Cohen P, Cinti S, Spiegelman BM. Prdm16 determines the thermogenic program of subcutaneous white adipose tissue in mice. [Artikel] // The Journal of clinical investigation. - Januar 2011. - S. 96-105.

Sherman D, Massoud EA. Treatment outcomes of benign paroxysmal positional vertigo. [Artikel] // Journal of Otolaryngology. - Oktober 2001. - S. 295-299.

Shing DC, Trubia M, Marchesi F, Radaelli E, Belloni E, Tapinassi C, Scanziani E, Mecucci C, Crescenzi B, Lahortiga I, Odero MD, Zardo G, Gruszka A, Minucci S, Di Fiore PP, Pelicci PG. Overexpression of sPRDM16 coupled with loss of p53 induces myeloid leukemias in mice. [Artikel] // The Journal of Clinical Investigation. - Dezember 2007. - S. 3696-3707.

Sintas C, Carreño O, Fernández-Morales J, Cacheiro P, Sobrido MJ, Narberhaus B, Pozo-Rosich P, Macaya A, Cormand B. A replication study of a GWAS finding in migraine does not identify association in a Spanish case-control sample [Journal] // Cephalgia. - 2012. - S. 1076-1080.

Sintas C, Fernandez-Morales J, Vila-Pueyo M, Narberhaus B, Arenas C, Pozo-Rosich P, Macaya A, Cormand B. Replication study of previous migraine genome-wide association study findings in a Spanish sample of migraine with aura. [Artikel] // Cephalgia. - August 2015. - S. 776-782.

Slater R. Benign recurrent vertigo. [Artikel] // Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. - April 1979. - S. 363-367.

Smitherman TA, Burch R, Sheikh H, Loder E. The prevalence, impact, and treatment of migraine and severe headaches in the United States: a review of statistics from national surveillance studies. [Artikel] // Headache. - März 2013. - S. 427-436.

Society International Headache Headache Classification Committee of the International Headache Society (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. [Journal] // Cephalgia. - 2018. - S. 1-211.

Society International Headache International Headache Society [Online]. - 22. 10 2018. - 22. 10 2018. - http://www.ihsklassifikation.de/de/02_klassifikation/02_teil1/01.01.00_migraine.html.

Somjen GG. Mechanisms of Spreading Depression and Hypoxic Spreading Depression-Like Depolarization [Artikel] // Physiological Review. - 2001. - S. 1065-1096.

Stovner L, Zwart J, Hagen K, Terwindt G, Pascual J. Epidemiology of headache in Europe [Artikel] // European Journal of Neurology. - April 2006. - S. 333-45.

Strong AJ, Fabricius M, Boutelle MG, Hibbins SJ, Hopwood SE, Jones R, Parkin MC, Lauritzen M. Spreading and synchronous depressions of cortical activity in acutely injured human brain. [Artikel] // Stroke. - Dezember 2002. - S. 2738-2743.

Strupp M, Dlugoszyk J, Ertl-Wagner BB, Rujescu D, Westhofen M, Dietrich M. Vestibular Disorders [Artikel] // Deutsches Ärzteblatt International. - April 2020. - S. 300-310.

Strupp M, Dlugoszyk J, Ertl-Wagner B, Rujescu D, Westhofen M, Dieterich M. Vestibular Disorders - Diagnosis, New Classification and Treatment [Journal] // Deutsches Ärzteblatt International. - 2020. - S. 300-310.

Sutherland HG, Griffiths LR. Genetics of Migraine: Insights into the Molecular Basis of Migraine Disorders. [Artikel] // Headache. - 8. März 2017.

Lempert T, Olesen J, Furman J, Waterston J, Seemungal B, Carey J, Bisdorff A, Versino M, Evers S, Newman-Toker D. Vestibular Migraine: Diagnostic criteria [Artikel] // Journal of vestibular Research. - 29. Juli 2012.

Takeda T, Taguchi D. Aquaporins as potential drug targets for Menière's diseases [Artikel] // Handbook of experimental pharmacology. - 2009. - S. 171-184.

Talmud D, Coffey R, Edemekong P. Dix Hallpike Maneuver [Artikel] // StatPearls Publishing. - Januar 2020.

Tannergård P, Liu T, Weger A, Nordenskjöld M, Lindblom A. Tumorigenesis in colorectal tumors from patients with hereditary non-polyposis colorectal cancer [Artikel] // Human Genetics.. - November 1997. - S. 51-55.

Tesseur I, Zou K, Esposito L, Bard F, Berber E, Can JV, Lin AH, Crews L, Tremblay P, Mathews P, Mucke L, Masliah E, Wyss-Coray T. Deficiency in neuronal TGF-beta signaling promotes neurodegeneration and Alzheimer's pathology [Artikel] // The Journal of clinical investigation. - November 2006. - S. 3060-3069.

Thomsen LL, Olesen J. Nitric oxide theory of migraine [Artikel] // Clinical Neuroscience. - 1998. - S. 28-33.

Tieshi ,L Lara L, Timothy J, Joseph D, Ronald L, Huseyin O, Clara C, Spagnoli A. Joint TGF- β Type II Receptor-Expressing Cells: Ontogeny and Characterization as Joint Progenitors [Artikel] // Stem Cells and Development. - 1. Mai 2013. - S. 1342–1359.

Turner DP, Lebowitz AD, Chtay I, Houle TT. Headache Triggers as Surprise [Artikel] // Headache. - April 2019. - S. 495-508.

Vass Z, Steyger PS, Hordichok AJ, Trune DR, Jancsó G, Nuttall AL. Capsaicin stimulation of the cochlea and electric stimulation of the trigeminal ganglion mediate vascular permeability in cochlear and vertebro-basilar arteries: a potential cause of inner ear dysfunction in headache [Artikel] // Neuroscience. - 2001. - S. 189-201.

Vass Z, Steyger PS, Hordichok AJ, Trune DR, Jancsó G, Nuttall AL. Capsaicin stimulation of the cochlea and electric stimulation of the trigeminal ganglion mediate vascular permeability in cochlear and vertebro-basilar arteries: a potential cause of inner ear dysfunction in headache [Artikel] // Neuroscience. - 2001. - S. 189-201.

Vetvik KG, MacGregor EA. Sex differences in the epidemiology, clinical features, and pathophysiology of migraine. [Artikel] // The Lancet, Neurology. - Januar 2017. - S. 76-87.

von Brevern M, Lempert T. Benign paroxysmal positional vertigo. Rapid diagnosis, successful treatment. [Artikel] // HNO. - Juli 2002. - S. 671-678.

von Brevern M, Radtke A, Lezius F, Feldmann M, Ziese T, Lempert T, Neuhauser H. Epidemiology of benign paroxysmal positional vertigo: a population based study. [Artikel] // Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry. - Juli 2007. - S. 710-715.

von Brevern M, Ta N, Shankar A, Wiste A, Siegel A, Radtke A, Sander T, Escayg A. Migrainous vertigo: mutation analysis of the candidate genes CACNA1A, ATP1A2, SCN1A, and CACNB4 [Artikel] // Headache. - August 2006. - S. 1136-1141.

Vukovic V, Plavec D und Galinovic I. Prevalence of vertigo, dizziness, and migrainous vertigo in patients with migraine [Artikel] // Headache. - 2007. - S. 1427 – 1435 .

Walther LE, Wenzel A, Buder J, Bloching MB, Kniep R, Blödow A. Detection of human utricular otoconia degeneration in vital specimen and implications for benign paroxysmal positional vertigo [Artikel] // European archives of oto-rhino-laryngology . - Dezember 2014. - S. 3133-3138.

Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, Benson AB 3rd, Hamilton SR. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer [Artikel] // The New England journal of medicine. - April 2001. - S. 1196-1206.

Waterston J. Chronic migrainous vertigo. [Artikel] // Journal of Clinical Neuroscience. - Mai 2004. - S. 384-388.

Weyer AD, Lehto SG. Development of TRPM8 Antagonists to Treat Chronic Pain and Migraine [Artikel] // Pharmaceuticals. - Juni 2017. - S. 37.

Wilson PM, Fryer RH, Fang Y, Hatten ME. Astn2, a novel member of the astrotactin gene family, regulates the trafficking of ASTN1 during glial-guided neuronal migration. [Artikel] // Journal of Neuroscience. - 23. Juni 2010. - S. 8529-8540.

Wladislavosky-Waserman P, Facer GW, Mokri B, Kurland LT. Meniere's disease: a 30-year epidemiologic and clinical study in Rochester, Mn, 1951-1980 [Artikel] // The Laryngoscope. - August 1984. - S. 1098-1102.

Xianguo X, Yang J, Wu X, Lin Q, Zeng Y, Xia Q, Cao L, Huang B, Huang G. Association between PRDM16, MEF2D, TRPM8, LRP1 gene polymorphisms and migraine susceptibility in the She ethnic population in China [Journal] // Clinical and investigative medicine. - 2019. - S. 42.

Xu H, Han W, Wang J, Li M. Network meta-analysis of migraine disorder treatment by NSAIDs and triptans. [Artikel] // Journal of Headache and Pain. - Dezember 2016. - S. 113.

Y Cha, H Lee und L Santell. Association of benign recurrent vertigo and migraine in 208 Patients [Artikel] // Cephalgia. - 2009. - S. 550-555.

Yan J, Dussor G. Ion channels and migraine [Artikel] // Headache. - April 2015. - S. 619-639.

Yoon M, Katsarava Z, Obermann M, Fritsche G, Oezyurt M, Kaesewinkel K, Katsarova A, Santowski I, Diener H, Moebus S. Prevalence of primary headaches in Germany: results of the German Headache Consortium Study. [Journal] // Journal of Headache and Pain. - 2012. - S. 215-223.

Yue H, He JW, Ke YH, Zhang H, Wang C, Hu WW, Gu JM, Fu WZ, Hu YQ, Li M, Liu YJ, Zhang ZL. Association of single nucleotide polymorphism Rs2236518 in PRDM16 gene with BMI in Chinese males [Artikel] // Acta pharmacologica Sinica. - Mai 2013. - S. 710-716.

8 Danksagung

Allen voran möchte ich mich bei Frau Pivatdozentin Dr.rer.biol.hum. Ina Giegling und Herrn Prof. Dr. med. Dan Rujescu, dem Leiter der Sektion molekulare und klinische Neurobiologie, für die Stellung des Themas und die Betreuung der Dissertation bedanken.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Michael Strupp danke ich dafür, dass ich diese Arbeit in seiner Abteilung durchführen durfte.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann, die als primäre Ansprechpartnerin während der schriftlichen Ausarbeitung durch ihre engmaschige Betreuung, zahlreichen Hinweise sowie das Korrekturlesen wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen hat.

Für die gute Betreuung während des praktischen Teils dieser Arbeit möchte ich mich insbesondere bei allen beteiligten Ärzten und Mitarbeitern des Deutschen Schwindelzentrums in München bedanken, die sowohl als zuweisende Ärzte sowie als gute Ratgeber einen großen Anteil an der Erstellung dieser Arbeit haben.

Ein herzlicher Dank für die gute und konstruktive Zusammenarbeit geht an alle weiteren Mitarbeiter der Abteilung molekulare und klinische Neurobiologie.

Weiterhin möchte ich allen Patienten und Probanden danken, ohne deren Studienteilnahme die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Zuletzt gilt mein Dank meiner Frau und meinen drei Kindern, sowie Eltern und Schwiegereltern. Ohne eure Hilfe und euer Durchtragen wäre diese Arbeit nie möglich gewesen.

9 Eidestattliche Versicherung

Ich, Simon Strunz, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Assoziationsstudie von migräneassoziierten Genvarianten mit Vestibulärer Migräne und peripher vestibulären Schwindelerkrankungen“

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Kelheim, 13.05.2022

Ort / Datum

Simon Strunz

Unterschrift