

Aus der
Neurologischen Klinik und Poliklinik
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Günter Höglinger

**Der Einfluss von genetischen Polymorphismen
im PARP1-Gen auf den Morbus Menière**

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

vorgelegt von
Vincent Jasper Szabo

aus
München

Jahr
2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. Ina Giegling
Mitberichterstatter: PD Dr. Markus Suckfüll

Mitbetreuung durch die Dr. Annette Hartmann
promovierte Mitarbeiterin:
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.2025

Meinen Eltern und Sami Mahmoud gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

ZUSAMMENFASSUNG	1
ABSTRACT	2
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	3
1 EINLEITUNG	5
1.1 MORBUS MENIÈRE	5
1.2 EPIDEMIOLOGIE	5
1.3 KRANKHEITSBILD UND DIAGNOSTIK	6
1.3.1 Diagnostik	6
1.3.2 Apparative Methoden	8
1.3.3 Behandlungsmöglichkeiten	9
1.4 PATHOGENESE	11
1.4.1 Anatomie des Innenohrs	11
1.4.2 Endolymphatischer Hydrops	12
1.5 ÄTIOLOGIE	14
1.5.1 Beteiligung des Immunsystems	14
1.5.2 Weitere Hypothesen	15
1.6 GENETIK DES MORBUS MENIÈRE	16
1.6.1 Familiärer Morbus Menière	16
1.6.2 Sporadischer Morbus Menière	18
1.7 POLY(ADP-RIBOSE)-POLYMERASE 1	21
1.7.1 PARP-1 und der TWEAK/Fn14 Stoffwechselweg und NF-κB	23
1.7.2 Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 und oxidativer Stress durch Rauchen	23
1.7.3 Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 und Morbus Menière	24
1.8 FRAGESTELLUNG	26
2 METHODEN	27
2.1 STUDIENBEDINGUNGEN	27
2.2 REKRUTIERUNG DER PATIENTEN MIT MORBUS MENIÈRE	27
2.2.1 Ausschlusskriterien	27
2.2.2 Standardisierte Anamnese	28
2.2.3 Blutentnahme und Dokumentation	28
2.3 REKRUTIERUNG DER KONTROLLPROBANDEN	28
2.4 ERFASSUNG DES RAUCHERSTATUS	29
2.5 LABORVERFAHREN	29
2.5.1 DNA-Extraktion	29
2.5.2 Konzentrationseinstellung der DNA	31
2.6 GENOTYPISIERUNG	32
2.6.1 Qualitätskontrolle	33
2.6.2 Imputation	35
2.6.3 Erstellung des Megadatensatzes	35
2.7 ZUSAMMENSTELLUNG DES PARP1-DATENSATZES	35
2.8 STATISTISCHE ANALYSE	36

Inhaltsverzeichnis

3	ERGEBNISSE	37
3.1	STUDIEN-TEILNEHMER.....	37
3.1.1	<i>Geschlechtsverteilung</i>	38
3.1.2	<i>Altersverteilung</i>	38
3.1.3	<i>Raucherstatus</i>	38
3.2	BESTIMMUNG DER INDEX-SNVs	40
3.2.1	<i>Assoziation der 272 PARP1-SNVs mit Morbus Menière</i>	40
3.2.2	<i>Assoziation der 272 PARP1-SNVs mit dem Raucherstatus</i>	41
3.2.3	<i>Berechnung der Index-SNVs</i>	42
3.3	ASSOZIATIONSANALYSEN DER 6 INDEX-SNVs DES <i>PARP1</i> -GENS.....	43
3.3.1	<i>Assoziation mit Morbus Menière</i>	43
3.3.2	<i>Assoziation mit dem Rauchersstatus</i>	46
3.3.3	<i>Analyse der 6 Index-SNVs mit Morbus Menière unter Berücksichtigung der Kovariable Raucherstatus</i>	49
4	DISKUSSION	50
	LITERATURVERZEICHNIS	64
	DANKSAGUNG	76
	AFFIDAVIT	77
	LEBENS- LAUF	78

Zusammenfassung

Der Morbus Menière ist eine Innenohrerkrankung, die durch Schwindelepisoden, Tinnitus, Hörverlust und Druckgefühl im betroffenen Ohr charakterisiert ist. Pathophysiologisch wird die Erkrankung mit einem endolymphatischen Hydrops assoziiert und ist ätiologisch multifaktoriell. Dabei wird eine Vielzahl von Faktoren wie eine Beteiligung des Immunsystems diskutiert. Auch der Untergang verschiedener Zelltypen im Innenohr und auch von Spiralganglienneuronen ist ein möglicher Faktor. Hierbei könnte die *Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1* (PARP-1) mit ihrer Funktion bei der Reparatur von DNA-Schäden, dem Zelltod und der Transkription im Zusammenhang mit dem *Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (NF- κ B) einen Einfluss haben. Die langen Allele eines Mikrosatelliten im *PARP1*-Promotorbereich konnten bereits in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit einem selteneren Auftreten des Morbus Menière assoziiert werden.

Um einen möglichen Zusammenhang des gesamten *PARP1*-Gens mit Morbus Menière in einer europäischen Kohorte zu untersuchen, wurden in dieser Arbeit 272 SNVs der *PARP1*-Genregion genotypisiert und in 6 *Linkage Disequilibrium* (LD) unabhängige Regionen unterteilt. Die Häufigkeit der Genotypen wurde anschließend zwischen 2597 Kontrollprobanden und 249 Patienten mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière verglichen. Die Patientenstichprobe beinhaltete 203 mindestens klinisch sichere und 51 beidseitig an Morbus Menière Erkrankte, die als Untergruppen auch jeweils den Kontrollprobanden gegenübergestellt wurden. Zusätzlich wurde die Genotypverteilung abhängig vom Raucherstatus analysiert, um den Einfluss von *PARP1* auf oxidativen Stress durch das Rauchen zu untersuchen.

Für den Index-SNV rs3219066 konnte in der Kontrollgruppe ein häufigeres Auftreten des selteneren C-Allels im Vergleich zu der Gruppe mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière festgestellt werden ($p = 0,032$); der Vergleich mit klinisch sicherem Morbus Menière zeigte einen Trend ($p = 0,055$). Der SNV befand sich dabei mit 19 der 272 Polymorphismen in einem LD. Der Raucherstatus scheint in diesem Kontext keine Bedeutung für eine Assoziation mit Morbus Menière zu haben, da ein Vergleich zwischen Rauchern und Nichtrauchern keinen Zusammenhang mit der Genotypverteilung dieser Variante zeigte. Auch ergab ein Vergleich unter zusätzlicher Berücksichtigung des Raucherstatus als Kovariable ein nahezu identisches Ergebnis wie bei der Berechnung ohne Kovariable.

Weitere Studien mit größeren Patientenstichproben werden benötigt, um diese Ergebnisse zu bestätigen. Da PARP-1 ein Enzym mit vielen Funktionen ist, wäre hierbei eine Personalisierung oder Unterteilung in klinische Subgruppen zur Analyse von Nutzen.

Abstract

Meniere's disease is an inner ear disorder characterized by recurrent episodes of vertigo, tinnitus, hearing loss and a feeling of fullness in the affected ear. The disease is pathophysiologically associated with an endolymphatic hydrops. The etiology of Meniere's disease is multifactorial. A variety of factors such as involvement of the immune system are being discussed. The destruction of cells in the labyrinth including spiral ganglion neurons could also contribute to the disease.

In this context, *poly(ADP-ribose) polymerase 1* (PARP-1) with its function in the repair of DNA damage, cell death and transcription in connection with *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (NF- κ B) could have an influence. The longer alleles of a microsatellite in the *PARP1* promoter region have already been associated with a lower incidence of Meniere's disease in a case-control association study.

To investigate the association of the entire *PARP1* gene with Meniere's disease in a European cohort, in this work 272 SNVs of the *PARP1* gene region were genotyped and divided into 6 linkage disequilibrium (LD) independent regions. The frequency of genotypes was compared between 2597 control subjects and 249 patients with at least clinically probable Meniere's disease. The patient sample included 203 patients with at least clinically definite Meniere's disease and 51 patients with bilateral Meniere's disease, which were also compared to the control subjects as subgroups. In addition, the frequency of genotypes was analyzed depending on smoking status in order to investigate the influence of *PARP1* on oxidative stress caused by smoking.

For index SNV rs3219066, a more frequent occurrence of the minor C allele was found in the control group compared to the group with at least clinically probable Meniere's disease ($p = 0,032$); the comparison with clinically definite Meniere's disease narrowly showed a trend ($p = 0,055$). The SNV was in LD with 19 of the 272 polymorphisms. In this context, smoking status does not appear to have any significance for an association with Meniere's disease, as a comparison between smokers and non-smokers showed no association with the genotype distribution of this variant. Also, a comparison with additional consideration of smoking status as a covariate showed an almost identical result as the calculation without a covariate.

Further studies with even larger patient samples are needed to confirm these results. As PARP-1 is an enzyme with many functions, personalization or subdivision into clinical subgroups would be useful for analysis.

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff
AAO-HNS	American Academy of Otolaryngology–Head and Neck Surgery
ADD 1/2/3	Adducin 1/2/3
AP	Summenaktionspotential
AQP 4/5	Aquaporin 4/5
BMD	Beidseitiger Morbus Menière
bds	Beidseitig
BRCT	BReast Cancer 1 (BRCA1) C-Terminus
CLDN14	Claudin 14
CM	Mikrophonopotential
COCH	Cochlin
DPT	Dermatopontin
DTNA	Dystrobrevin alpha
DSGZ	Deutsches Schwindel- und Gleichgewichtszentrum
EAONO	European Academy of Otolology and Neurotology
ECochG	Elektrocochleographie
ESRRB	Estrogen related receptor beta
FAM136A	Family With Sequence Similarity 136 Member A
GJB2	Gap junction protein beta 2
GPX	Glutathione peroxidase
HMX2	H6 Family Homeobox 2
HWE	Hardy-Weinberg-Equilibrium
I κ B α	Inhibitor of nuclear factor kappa B alpha
IL1	Interleukin-1 gene
IL-1 β ,	Interleukin-1 β
IL-1RA	Interleukin-1 receptor antagonist
KCNE 1/3	Potassium voltage-gated channel subfamily E regulatory subunit 1/3
kw	Klinisch wahrscheinlicher Morbus
ks	Klinisch sicherer Morbus Menière
LSAMP	Limbic system associated membrane protein
LD	Linkage Disequilibrium
miRNA	microRNA

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Begriff
MAO-B	Monoaminoxidase-B
MARVELD2	MARVEL domain containing 2
MIF	Macrophage migration inhibitory factor
MM	Morbus Menière
NIK	NFkB-inducing kinase
NFKB1	Nuclear factor kappa B subunit 1
NF-κB	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NTN4	Netrin 4
OTOG	Otogelin
PARP	Poly (ADP-Ribose-) Polymerase
PON	Paraoxonase
PRKCB	Protein Kinase C Beta
Rpm	Revolutions per minute
SLC26A4	Solute carrier family 26 member 4
SNHL	Sensorineural Hörverlust
SP	Summationspotential
STRC	Stereocilin
SEMA3D	Semaphorin 3D
SOD	Superoxide dismutase
TMEM55B	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 4-phosphatase 1
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
Trans-eQTL	Trans-Expression quantitative trait loci
TWEAK/FN14	Tumour necrosis factor (TNF)-like weak inducer of apoptosis/ fibroblast growth factor-inducible 14
USH1G	USH1 protein network component sans
VEMP	Vestibulär evozierte myogene Potentiale

1 Einleitung

1.1 Morbus Menière

Der Morbus Menière ist die zweithäufigste Ursache peripher vestibulären Schwindels in Deutschland (Hülse et al., 2019). Dieser ist charakterisiert durch rezidivierende Schwindelepisoden, die mit Hörverlust, Tinnitus und/oder Druckgefühl im Ohr einhergehen (Lopez-Escamez et al., 2015).

Im Jahr 1861 ordnete Prosper Menière den Symptomkomplex der Erkrankung erstmalig dem Innenohr zu (Menière, 1861). Im Jahr 1938 beschrieben Hallpike und Cairns erstmals den endolymphatischen Hydrops als eine pathologische Veränderung im Os temporale (Hallpike und Cairns, 1938). Die Ätiologie und Verbindung des Morbus Menière mit dem endolymphatischen Hydrops wird allerdings weiterhin diskutiert: Es wird von einem multifaktoriellen Krankheitsbild ausgegangen (Nakashima et al., 2016).

Die Diagnosekriterien haben sich über die Zeit verändert. Aktuell wird die Diagnose mit Hilfe klinischer Symptome und apparativer Diagnoseverfahren gestellt. Dabei werden Patienten in einen sicheren Morbus Menière und in einen wahrscheinlichen Morbus Menière eingeteilt (Lopez-Escamez et al., 2015). Bisher gibt es keine ausreichende Evidenz für eine der vielen Therapiemöglichkeiten des Morbus Menière (Lee et al., 2023; Webster et al., 2023a, b, c, d, e).

1.2 Epidemiologie

Die Prävalenz variiert erheblich, und zwar aufgrund unterschiedlicher Faktoren, wie verschiedener Ethnien, Demographien, der medizinischen Versorgung der einzelnen Länder, Erhebungen der Daten (beispielsweise Versicherungsdaten oder Umfragen) und der sich mit der Zeit veränderten Diagnosekriterien (Harris und Alexander, 2010; Ricchetti-Masterson et al., 2016; Lopez-Escamez et al., 2018; Basura et al., 2020).

So wurde die höchste Prävalenz mit 513 Morbus Menière-Erkrankten pro 100 000 Einwohnern in der finnischen Bevölkerung gefunden (Havia et al., 2005). In Japan wurde hingegen eine Prävalenz für Morbus Menière von 34,5 Erkrankten pro 100 000 Einwohnern nachgewiesen (Shojaku et al., 2005). Eine Untersuchung von 60 Millionen Patienten aus der *Lifelink Health Claims Database* aus den USA zeigte eine Prävalenz von 190 pro 100 000 Einwohnern. In dieser Studie wurde auch ein stark altersabhängiger Anstieg der Prävalenz festgestellt (von 9 pro 100 000 bei <18 Jahren bis 440 pro 100 000 bei >65 Jahre) (Harris und Alexander, 2010). Außerdem ist in den Studien eine Abhängigkeit der Prävalenz von der jeweiligen Ethnie zu beobachten. Beispielsweise erkranken Kaukasier häufiger an Morbus Menière (Ohmen et al.,

2013). Darüber hinaus sind Frauen häufiger betroffen als Männer. So liegt das Geschlechtsverhältnis Frauen zu Männern der Morbus Menière-Erkrankten in den USA bei 1,89:1 (Harris und Alexander, 2010).

1.3 Krankheitsbild und Diagnostik

Die Symptomatik des Morbus Menière wird durch Schwindel, Hörverlust, Tinnitus und einem Druckgefühl im Ohr definiert. Der Schwindel wird dabei oft als Drehschwindel beschrieben und tritt episodisch für Minuten bis Stunden auf. Dabei werden die Schwindelepisoden oft von Symptomen wie Kopfschmerzen, Erbrechen, Übelkeit, Schwitzen, Photophobien und Phonophobien begleitet. Die Symptome können sowohl unilateral als auch bilateral auftreten (House et al., 2006; Lopez-Escamez et al., 2015; Gürkov et al., 2018).

Während sich die Morbus Menière-Symptomatik (Schwindelepisoden, Hörverlust, Tinnitus) bei vielen Patienten gleich zu Beginn zeigt, können zuerst auch einzelne Symptome auftreten und es kann Jahre dauern, bis sich das volle Krankheitsbild zeigt (Belinchon et al., 2012). In den ersten 5-10 Jahre des Krankheitsverlaufs nimmt dann meist die Anzahl der Schwindelepisoden ab (Huppert et al., 2010).

Der Hörverlust der Morbus Menière-Erkrankung zeigt sich zu Beginn meist während der Schwindelattacken, verstärkt sich dann oft im Verlauf der Erkrankung und wird permanent. Zusätzlich verstärkt sich auch die Intensität des Tinnitus mit der Zeit (Havia et al., 2002).

Meist stellen sich die Patienten zuerst mit einseitigen Symptomen vor, jedoch entwickeln viele im Verlauf der Erkrankung einen beidseitigen Morbus Menière (House et al., 2006; Belinchon et al., 2012).

1.3.1 Diagnostik

Um die Diagnose und die Wahrscheinlichkeit einer Morbus Menière-Erkrankung zu standardisieren, hat das *Committee on Hearing and Equilibrium* der *American Academy of Head and Neck Surgery* (AAO-HNS) 1995 eine Klassifikation der Morbus Menière-Erkrankung etabliert (Tabelle 1) (*Committee on Hearing and Equilibrium, 1995*).

Einleitung

Tabelle 1: Morbus Menière-Klassifikation nach dem *Committee on Hearing and Equilibrium*, 1995

Nachgewiesener Morbus Menière (alle Punkte müssen zutreffen) <ul style="list-style-type: none">- sicherer Morbus Menière- histopathologische Bestätigung
Sicherer Morbus Menière (alle Punkte müssen zutreffen) <ul style="list-style-type: none">- zwei oder mehr spontane Schwindelepisoden, die 20 Minuten oder länger dauern- mindestens einmaliger audiometrisch nachgewiesener Hörverlust- Tinnitus oder Druckgefühl im betroffenen Ohr- Ausschluss anderer Ursachen
Wahrscheinlicher Morbus Menière (alle Punkte müssen zutreffen) <ul style="list-style-type: none">- eine Schwindelepisode- mindestens einmaliger audiometrisch nachgewiesener Hörverlust- Tinnitus oder Druckgefühl im betroffenen Ohr- Ausschluss anderer Ursachen
Möglicher Morbus Menière <ul style="list-style-type: none">- Menière-typische Schwindelattacke ohne nachgewiesenem Hörverlust oder- fluktuierender oder gleichbleibender sensorineuraler Hörverlust mit Gleichgewichtsstörungen ohne Schwindelepisoden- Ausschluss anderer Ursachen

Aufgrund des in der Zwischenzeit gewonnenen besseren Verständnisses des Morbus Menière wurde eine neue klinische Klassifikation zur Diagnose des Morbus Menière gemeinschaftlich von der *Japan Society for Equilibrium Research*, der *European Academy of Otolology and Neurotology* (EAONO), des *Equilibrium Committee of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* (AAO-HNS), der *Bárány Society* und der *Korean Balance Society* 2015 eingeführt (Tabelle 2, S. 8) (Lopez-Escamez et al., 2015).

Der Unterschied zwischen den beiden Kriterienkatalogen zeigt sich in der zeitlichen Limitierung der Schwindelepisoden auf 12 Stunden und einer genaueren Definition des Hörverlusts (mindestens 30 dB unter 2000 Hz) in der überarbeiteten Klassifikation. Auch müssen zur Diagnose eines wahrscheinlichen Morbus Menière zwei Schwindelepisoden, aber kein audiometrisch nachgewiesener Hörverlust vorliegen.

Tabelle 2: Überarbeitete Klassifikation des Morbus Menière (Aus: Lopez-Escamez et al., 2015)

<p>Sicherer Morbus Menière (alle Punkte müssen zutreffen)</p> <ul style="list-style-type: none">- zwei oder mehr spontane Schwindelepisoden, die zwischen 20 Minuten und 12 Stunden dauern- audiometrisch nachgewiesener Hörverlust (mindestens 30 dB unter 2000 Hz) in einem Ohr (innerhalb von 24 Stunden vor/während/nach einer Schwindelepisode)- fluktuierende Innenohrsymptome (Hören, Tinnitus oder Druckgefühl im betroffenen Ohr)- nicht besser erklärbar durch eine andere Vestibuläre Diagnose
<p>Wahrscheinlicher Morbus Menière (alle Punkte müssen zutreffen)</p> <ul style="list-style-type: none">- zwei oder mehr spontane Schwindelattacken, die zwischen 20 Minuten und 24 Stunden dauern.- fluktuierende Innenohrsymptome (Hören, Tinnitus oder Druckgefühl im betroffenen Ohr)- nicht besser erklärbar durch eine andere Vestibuläre Diagnose

1.3.2 Apparative Methoden

Zusätzlich zur anamnestischen Erhebung der aufgelisteten Diagnosekriterien können eine Reihe von Tests durchgeführt werden, um die Diagnose zu untermauern (Magnan et al., 2018).

Bei den diagnostischen Tests spielen neben der Anamnese und der körperlichen Untersuchung vor allem apparative vestibuläre und cochleäre Funktionsprüfungen eine Rolle, von denen wichtige im Folgendem näher erläutert werden (Basura et al., 2020; Teggi et al., 2020).

Neben der Audiometrie kann auch die Messung der evozierten otoakustischen Emissionen als cochleäre Funktionsprüfung bei der Diagnose hilfreich sein. Bei einer tonschwellenaudiometrischen Untersuchung der Menière-Patienten können hierbei subjektive Schallempfindungsschwerhörigkeiten des betroffenen Ohres für die tiefen Frequenzen nachgewiesen werden (Lopez-Escamez et al., 2015; Nevoux et al., 2017). Bei evozierten otoakustischen Emissionen können nach akustischer Stimulierung des Ohres akustische Emissionen gemessen und teilweise reduzierte Emissionen in den Ohren der Morbus Menière-Patienten nachgewiesen werden (Drexler et al., 2018).

Die Elektrocochleographie (ECochG) kann ebenfalls zur Unterstützung der Morbus Menière Diagnostik herangezogen werden. Hierbei werden die Potentiale gemessen, die akustische Signale am Hörnerv und an der Cochlea auslösen. Die Potentiale können in ein

Mikrophonopotential (CM), ein Summationspotential (SP) und ein Summenaktionspotential (AP) unterteilt werden (Hornibrook et al., 2017). Bei Morbus Menière-Patienten können teilweise Auffälligkeiten im SP/AP-Quotienten auftreten (Obeidat und Bell, 2019).

Zur Überprüfung der vestibulären Funktion kann ein Video-Kopfimpulstest oder eine kalorische Prüfung durchgeführt werden. Beim Video-Kopfimpulstest wird nach einem Kopfimpulstest die Augenbewegung mit einer Kamera aufgenommen und zur Diagnosefindung analysiert. Bei Morbus Menière-Patienten können dabei Beeinträchtigungen des vestibulookulären Reflexes auftreten (Zhou et al., 2020).

Bei der kalorischen Prüfung wird der äußere Gehörgang mit warmem und kaltem Wasser oder Luft gespült. Hierbei kann bei Morbus Menière teilweise eine Unterfunktion des vestibulookulären Reflexes aufgezeigt werden (Oliveira et al., 2021).

Auch die Messung von vestibulären myogenen Potentialen (VEMP) kann zur Diagnose beitragen. Dabei wird die vestibuläre Antwort auf akustische Reize oder Vibrationsreize als muskulärer Potentialunterschied abgeleitet (Rosengren et al., 2019). So können teilweise Unterschiede zwischen Patienten mit Morbus Menière und gesunden Probanden aufgezeigt werden (Angeli und Goncalves, 2019).

Da der endolymphatische Hydrops als pathologisches Korrelat für den Morbus Menière gilt (Li et al., 2020; Chen et al., 2021), kann dessen Nachweis in einer kontrastverstärkten Magnetresonanztomographie zur Sicherung der Diagnose beitragen. Hierbei wird als Kontrastmittel Gadolinium injiziert, das sich im Perilymphraum anreichert und den Endolymphraum ausspart. Im Fall eines endolymphatischen Hydrops kann der Endolymphraum vergrößert und der Perilymphraum verkleinert erscheinen (Bernaerts et al., 2019).

1.3.3 Behandlungsmöglichkeiten

Das Verhindern oder die Reduktion der Schwindelepisoden, des Hörverlusts, des Tinnitus und des Druckgefühls im Ohr sind das Therapieziel einer Behandlung des Morbus Menière (Basura et al., 2020). Da davon ausgegangen wird, dass es sich bei Morbus Menière um eine multifaktorielle und polygene Erkrankung handelt, ist es unwahrscheinlich, ein einzelnes Therapiekonzept zu entwickeln, das allen Patienten hilft (Nakashima et al., 2016). Obwohl Patienten mehrere Therapiemöglichkeiten angeboten werden können, gibt es keine ausreichende Evidenz in der Behandlung des Morbus Menière (Lee et al., 2023; Webster et al., 2023a, b, c, d, e).

Das in Europa am meisten verwendete Therapeutikum ist Betahistidin (Gibson, 2019). Es bindet als Agonist am H1-Rezeptor und als Antagonist am H3-Rezeptor (Fossati et al., 2001).

An Meerschweinchen konnte gezeigt werden, dass Betahistidin durch seine Wirkung die cochleäre Durchblutung steigert. Als Mechanismus wird dabei eine Dilatation von präkapillären Ateriolen diskutiert (Bertlich et al., 2017). Neben Betahistidin werden auch andere systemische Pharmakotherapien wie Kortikosteroide, Diuretika oder antivirale Medikamente diskutiert (Webster et al., 2023a). Bei einem Cochrane-Review zu systemischen Pharmakotherapien wurden Betahistidin, Kortikosteroide, Diuretika und antivirale Medikamente bei der Behandlung des Morbus Menière untersucht und nach der GRADE-Methodik eingestuft. Hierbei zeigte sich nur eine niedrige oder sehr niedrige Evidenz bei den systemischen pharmakologischen Interventionen (Webster et al., 2023a). Jedoch wird diskutiert, ob durch höhere Dosen oder eine Kombination mit MAO-B-Inhibitoren die Wirksamkeit von Betahistidin gesteigert werden kann (Tighilet et al., 2018; Strupp et al., 2020, 2023).

Bei Versagen einer konservativeren Behandlung kann Patienten eine intratympanale Gentamicin-Injektion als Therapie angeboten werden (Nevoux et al., 2018). Gentamicin ist ein Aminoglykosid-Antibiotikum mit einer ototoxischen Wirkung und weist aus diesem Grund ein deutliches Risiko für Hörverluste auf (Tanaka et al., 2021). Zusätzlich sollte bei einer intratympanalen Gentamicin-Therapie beachtet werden, dass viele Patienten mit einseitigem Morbus Menière im Verlauf der Erkrankung einen beidseitigen Morbus Menière entwickeln (House et al., 2006). Es kann also der Fall eintreten, dass beide Innenohre behandelt werden müssen. In einem Cochrane Review konnte nach der GRADE-Methodik nur eine sehr geringe Evidenz für eine intratympanale Gentamicin-Behandlung festgestellt werden (Webster et al., 2023b).

Zur Verbesserung der Symptomatik kann auch eine intratympanale Kortikosteroidgabe versucht werden. Auch zu dieser Therapiemöglichkeit konnte in einem Cochrane Review nach der GRADE-Methodik nur eine niedrige oder sehr niedrige Evidenz aufgezeigt werden (Webster et al., 2023e).

Beim Versagen einer konservativen Methode kann schwer betroffenen Morbus Menière-Patienten eine Operation am Innenohr angeboten werden, beispielsweise eine Dekompression am Saccus endolymphaticus oder das Einlegen eines Paukenröhrchen. Allerdings konnte auch für operative Interventionen in einem Cochrane-Review nach der GRADE-Methodik nur eine sehr niedrige oder niedrige Evidenz nachgewiesen werden (Lee et al., 2023). Ebenso gibt es die Möglichkeit Morbus Menière-Patienten eine positive Drucktherapie anzubieten, bei der nach dem Einlegen eines Paukenröhrchen über ein Pumpe Druck auf das Innenohr ausgeübt wird. Die positive Drucktherapie weist nach der GRADE-Methodik allerdings nur eine sehr geringe Evidenz auf (Webster et al., 2023c).

Auch ob eine Veränderung des *Lifestyles* zu einer Verbesserung der Morbus Menière-Symptomatik führen könnte, wird diskutiert. Dabei konnte bisher nur eine sehr niedrige Evidenz bei einer Veränderung des *Lifestyles* gegenüber Placebo aufgezeigt werden (Hussain et al., 2018; Webster et al., 2023d).

1.4 Pathogenese

Die Entwicklung und Entstehung einer Morbus Menière-Erkrankung ist noch nicht im Detail geklärt. Es zeigt sich allerdings ein Zusammenhang mit einer Volumenzunahme der Endolymphe im Innenohr, die zur Entstehung eines endolymphatischen Hydrops führt (Sun et al., 2021). Um diesen mit Morbus Menière verbundenen endolymphatischen Hydrops zu beschreiben, werden im Folgenden die wichtigsten dafür notwendigen anatomischen Strukturen im Innenohr aufgezeigt.

1.4.1 Anatomie des Innenohrs

Das Innenohr beinhaltet das Vestibularorgan mit Sacculus, Utrikulus sowie die Bogengänge und die Cochlea (Hörschnecke) (Schünke et al., 2006). Die Cochlea ist in drei aufeinander liegende Gänge unterteilt: Die Scala vestibuli, Scala tympani und die in der Mitte liegende Scala media. Die Scala media ist über die Reissner-Membran von der Scala vestibuli und über die Basilarmembran von der Scala tympani getrennt. Das Corti-Organ mit den Haarzellen liegt in der Scala media (Abbildung 1) (Jiang et al., 2017). Die afferenten Impulse der Cochlea werden über die Neurone der Spiralganglien weitergeleitet (Schünke et al., 2006).

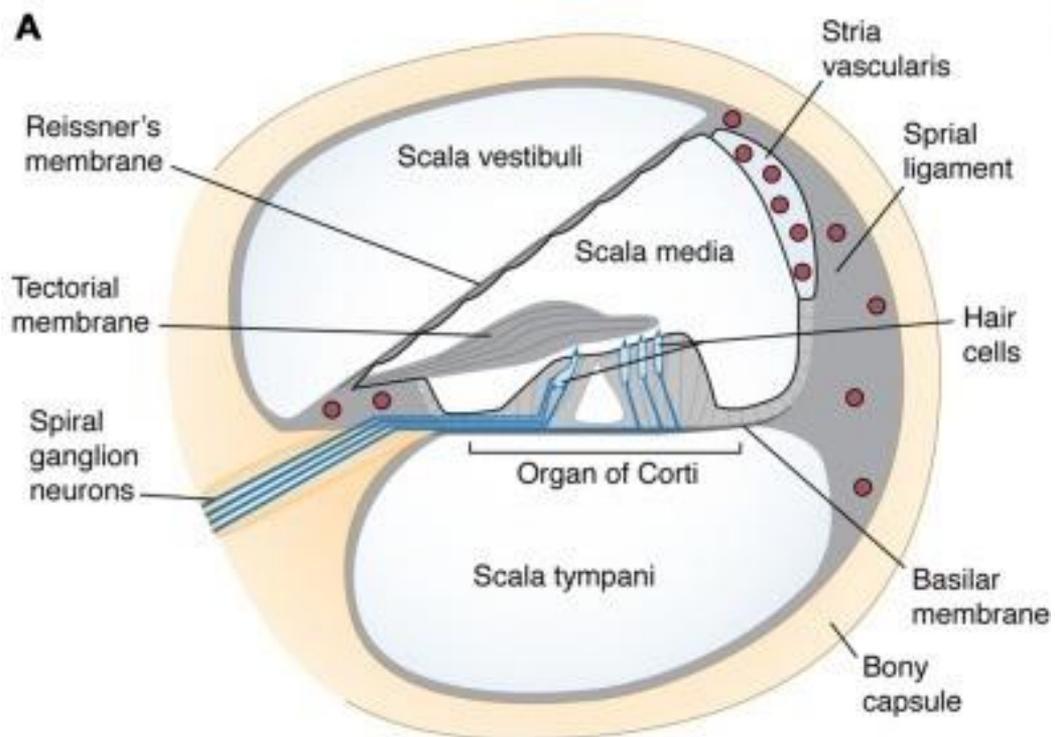


Abbildung 1: Querschnitt durch die Cochlea (Abbildung verändert aus Jiang et al., 2017)

Während die Scala media mit der kaliumreichen Endolymphe gefüllt ist, beinhalten die Scala tympani und Scala vestibuli die Perilymphe (Jiang et al., 2017). Die Endolymphe der Scala media steht über den Ductus reuniens mit dem Endolymphraum des Vestibularorgans und über den Ductus endolymphaticus mit dem Sacculus endolymphaticus in Kontakt (Schünke et al., 2006).

1.4.2 Endolymphatischer Hydrops

Der endolymphatische Hydrops kann mit einer hohen Signifikanz im Innenohr Morbus Menière betroffener Patienten nachgewiesen werden (Sun et al., 2021). Er wurde erstmals von Hallpike und Cairns 1938 beschrieben. Bei einem endolymphatischen Hydrops kommt es zu einer Volumenzunahme der Endolymphe. Durch Risse in der Reissner-Membran können sich dann die Perilymphe und die kaliumreiche Endolymphe vermischen (Abbildung 2).

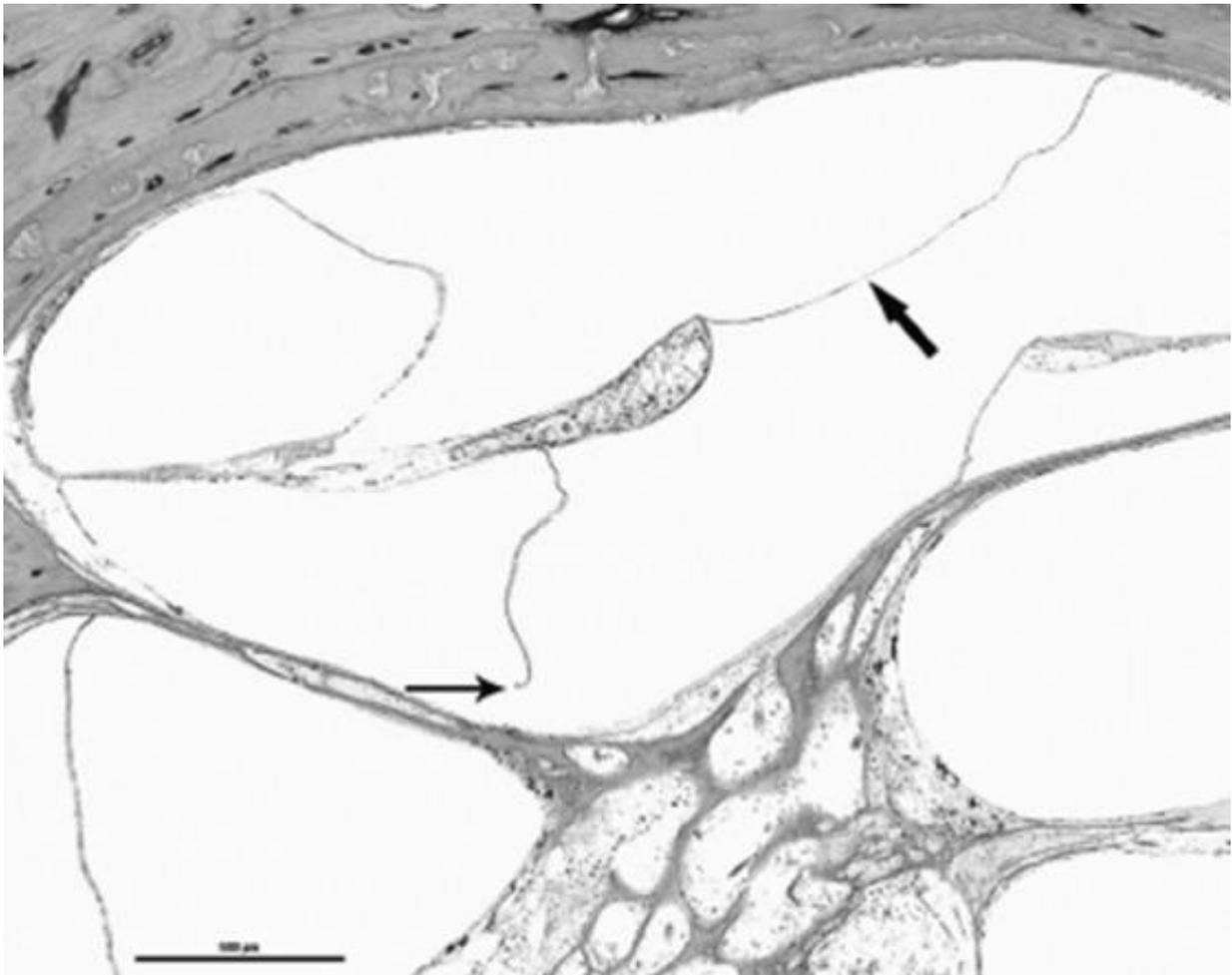


Abbildung 2: Histopathologischer cochleärer Hydrops

Dicker Pfeil: Hydrops, kleiner Pfeil: Riss in der Reissner Membran (Abbildung aus Oberman et al., 2017).

Es wird vermutet, dass die nun kaliumreiche Perilymphe dann eine pathologische Erregung der Neurone verursacht, die zu den Morbus Menière typischen Symptomen führt (Schuknecht, 1976; Kingma und Wit, 2010; Nakashima et al., 2016).

Bei einem endolymphatischen Hydrops wurde auch ein Untergang von Neuronen beobachtet. So konnte mit Hilfe eines Meerschweinchen-Modells, in welchem ein endolymphatischer Hydrops unilateral durch eine chirurgische Blockierung des Saccus endolymphaticus und des Ductus endolymphaticus herbeigeführt wurde, aufgezeigt werden, dass eine Verbindung zwischen dem Schweregrad eines endolymphatischen Hydrops und dem Zelltod der apikalen Spiralganglienneurone besteht (Bixenstine et al., 2008).

Der endolymphatische Hydrops führt allgemein zu oxidativem Stress im Innenohr. Anne et al. (2007) konnten im Tierversuch aufzeigen, dass es bei einem operativ herbeigeführten endolymphatischen Hydrops zu einem Anstieg von oxidativen Stressmarkern kommt.

Zudem konnten erhöhte oxidative Stressmarker im Innenohr bei Morbus Menière erkrankten Patienten gefunden werden (Ishiyama et al., 2019).

Wie es zur Druckerhöhung und Ausdehnung der Endolymphe kommt, ist noch ungeklärt. Es gibt hierzu einige Theorien, zum Beispiel wird über eine Beteiligung des Saccus endolymphaticus diskutiert, der bei der Endolymph-Regulation von Bedeutung ist (Schünke et al., 2006; Kim et al., 2019). Ebenfalls könnte beispielsweise eine Obstruktion im Ductus reuniens zur Entwicklung eines endolymphatischen Hydrops beitragen (Hornibrook et al., 2021). Auch eine Beteiligung des Immunsystems an der Ursache des endolymphatischen Hydrops wird diskutiert (Lopez-Escamez et al., 2018).

Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem endolymphatischen Hydrops und Morbus Menière konnte bisher nicht ausreichend belegt werden. So konnten sowohl Li et al. (2020) bei allen untersuchten 178 Patienten als auch Chen et al. (2021) bei jedem der 252 Patienten mit Morbus Menière-Diagnose einen endolymphatischen Hydrops im MRT nachweisen, allerdings tritt der endolymphatische Hydrops auch bei der gesunden Bevölkerung oder bei Patienten mit anderen Schwindelerkrankungen (z. B. vestibuläre Migräne oder Vestibularisschwannom) auf (Lubbe et al., 2020).

1.5 Ätiologie

Die genaue Ursache für das Auftreten des Morbus Menière ist immer noch ungeklärt. Es gibt einige verschiedene Theorien, allerdings kann keine davon die Ursache des Krankheitsbildes allein erklären. Aktuell wird daher von einer multifaktoriellen und individuellen Ätiologie ausgegangen. So könnte Morbus Menière zum Beispiel genetische und/ oder autoimmune Ursachen haben. Im Folgenden werden relevante Hypothesen zu möglichen Ätiologien beschrieben (Perez-Carpena und Lopez-Escamez, 2020).

1.5.1 Beteiligung des Immunsystems

Bei Morbus Menière wird häufig eine Verbindung zu Autoimmunerkrankungen diskutiert. Es konnte zum Beispiel eine Assoziation mit einer autoimmunen Arthritis hergestellt werden, jedoch ist die Evidenz umstritten (Caulley et al., 2018).

Ebenfalls konnte in einer kleinen Studie mit 10 Patienten in der Perilymphe von Morbus Menière-Erkrankten microRNA (miRNA) nachgewiesen werden, die bei Patienten ohne Morbus Menière nicht vorhanden waren. Mehrere von diesen miRNAs waren mit der Regulation von Genen assoziiert, die mit inflammatorischen und autoimmunen Zellwegen verbunden sind (Shew et al., 2021).

Zusätzlich könnte der mit dem endolymphatischen Hydrops assoziierte Saccus endolymphaticus eine Bedeutung bei Immunantworten im Innenohr haben (Kim et al., 2019). So konnten dort beispielsweise viele aktive Makrophagen nachgewiesen werden, die Immun-Zell-Marker exprimieren. Dies lässt eine Verbindung des Saccus endolymphaticus mit der Immunantwort des Innenohrs vermuten (Nordström et al., 2019).

Auch konnten erhöhte Mengen proinflammatorischer Zytokine bei Morbus Menière-Patienten nachgewiesen werden. Frejo et al. (2018) konnten in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie an 113 Morbus Menière Erkrankten und 54 gesunden Kontrollprobanden bei 21% der Patienten eine erhöhte Genexpression von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 β , IL-1RA, und TNF- α in mononukleären Zellen aus dem peripheren Blut aufzeigen (Frejo et al., 2018).

Eine mögliche Assoziation von Allergien mit Morbus Menière wird auch häufiger beschrieben. Beispielsweise konnte in einer Studie eine Verbindung zwischen allergischem Asthma und Morbus Menière in einer koreanischen Bevölkerung beobachtet werden (Kim et al., 2021).

In einer anderen Studie konnte aufgezeigt werden, dass die Behandlung einer Allergie der Morbus Menière-Patienten die Symptomatik verbessern konnte. Hierbei wurden Morbus Menière-Patienten, denen eine Allergie-Therapie empfohlen wurde, in eine Kontroll- und Behandlungsgruppe eingeteilt. Nach Behandlung der Allergie mit einer Immuntherapie (Desensibilisierung) und einer Vermeidung von Allergenexposition zeigte sich in der Behandlungsgruppe eine Abnahme der Morbus Menière-Symptomatik im Vergleich zur Kontrollgruppe (Derebery, 2000).

1.5.2 Weitere Hypothesen

Neben autoimmun bedingten Ursachen werden noch weitere Gründe für eine Morbus Menière-Erkrankung diskutiert.

So wurden beispielsweise seltene Fälle beschrieben, bei denen Patienten nach einem mechanischen Trauma einen endolymphatischen Hydrops und eine Morbus Menière-Erkrankung entwickelten (Bächinger et al., 2019, Misale et al., 2021). Eine mögliche Ursache für einen posttraumatischen endolymphatischen Hydrops ist eine Störung der Endolymphabsorption durch das Trauma (Paparella et Mancini, 1983).

Ebenfalls gibt es Hinweise auf eine Verbindung zwischen Morbus Menière und vestibulärer Migräne. Morbus Menière-Patienten weisen häufiger Migräneattacken auf und der Schweregrad der Migräne kann die Morbus Menière-Symptomatik beeinflussen. Aus diesen Gründen wird ein ähnlicher Pathomechanismus des Morbus Menière und vestibulärer Migräne diskutiert (Pyykkö et al., 2019).

Weiterhin wird Vitamin D eine Rolle bei der Erkrankung zugeschrieben, da gezeigt werden konnte, dass Morbus Menière-Patienten einen geringeren Vitamin-D-Spiegel als die Normalbevölkerung aufweisen. Dabei könnte die immunmodulierende Wirkung von Vitamin D eine Bedeutung für die Entwicklung einer Morbus Menière-Erkrankung haben (Büki et al., 2018; Bakhshaei et al., 2022).

Zusätzlich gibt es eine Verbindung zwischen Morbus Menière und anderen systemischen Erkrankungen. Es konnte beispielsweise aufgezeigt werden, dass eine Diabetes mellitus-Erkrankung die Morbus Menière-Symptomatik verschlimmert (Pieskä et al., 2018). Dabei werden Schäden durch Hyperglykämie am Vestibularorgan diskutiert (Gioacchini et al., 2018). Zudem könnten vaskuläre Ursachen bei Morbus Menière eine Rolle spielen (Rego et al., 2019; Attanasio et al., 2020). So könnte beispielsweise die venöse Drainage des Ductus endolymphaticus eine Bedeutung in der Entwicklung des endolymphatischen Hydrops haben (Nordström et al., 2020). Auch könnten virale Infektionen einen Einfluss auf die Entwicklung einer Morbus Menière-Erkrankung nehmen (Dean et al., 2019). Eine mögliche Hypothese für eine virale Genese bei Morbus Menière wäre der Untergang von vestibulären Neuronen durch virale Infektionen (Gacek 2009).

1.6 Genetik des Morbus Menière

Durch die unterschiedlichen Prävalenzen in verschiedenen Ethnien liegt ein genetischer Hintergrund des Morbus Menière nahe. Die Erkrankung kann in einen familiären Morbus Menière und in einen sporadischen Morbus Menière unterteilt werden (Ohmen et al., 2013; Chiarella et al., 2015).

Die beiden Untergruppen zeigen keine Unterschiede im klinischen Verlauf der Erkrankung, jedoch tritt Morbus Menière in familiären Fällen früher auf als in sporadischen Fällen (Requena et al., 2014).

1.6.1 Familiärer Morbus Menière

Um familiären Morbus Menière genauer zu analysieren, untersuchten Requena et al., (2014) in einer Studie 1375 südeuropäische Morbus Menière-Patienten auf familiäre Vererbungsmuster. Hierbei konnte bei 8,4% der sicher von Morbus Menière Betroffenen ein familiärer Hintergrund nachgewiesen werden. Meist zeigte sich eine autosomal dominante Vererbung (69 von 74 Familien), jedoch wurde auch ein rezessives Vererbungsmuster (5 von 74 Familien) beobachtet oder eine mitochondriale Vererbung diskutiert. Über Interviews konnte in der Studie nachgewiesen werden, dass in 18 von 19 familiären Morbus Menière-

Einleitung

Fällen in aufeinanderfolgenden Generationen die Erkrankung in einem früheren Alter und/oder mit schwererer Symptomatik auftrat. Dies wies auf eine Antizipation des familiären Morbus Menière hin (Requena et al., 2014). Klockars und Kentala (2007) untersuchten in der finnischen Bevölkerung die Vererbungsmuster der familiären Morbus Menière-Erkrankten.

Dabei wurden über Interviews 54 Patienten mit sicherem, 8 mit wahrscheinlichem und 21 mit möglichem Morbus Menière analysiert. Hier zeigte sich ein autosomal dominantes Vererbungsmuster mit inkompletter Penetranz. Auch in dieser Studie konnten über den Stammbaum Hinweise auf eine Antizipation der familiären Morbus Menière-Fälle gefunden werden (Klockars und Kentala, 2007).

Da bereits mehrere verschiedene Gene mit einzelnen familiären Morbus Menière-Fällen verbunden wurden, unterstreicht dies die Heterogenität der Erkrankung. In einer Übersichtsarbeit von Escalera-Balsera et al. (2020) wurden Gene, die mit familiärem Morbus Menière assoziiert worden waren, zusammenfassend dargestellt: SEMA3D, DPT, FAM136A, PRKCB, TMEM55B, DTNA, OTOG, LSAMP, HMX2 (Tabelle 3) (Escalera-Balsera et al., 2020).

Tabelle 3: Übersicht über Gene mit einer Assoziation mit familiären Morbus Menière

Gen	Assoziation	Probanden	Herkunft	Autoren
<i>DPT</i>	Ja	Eine Familie mit ad-FMM	Spanien	Martin-Sierra et al., 2017
<i>FAM136A</i> ; <i>DTNA</i>	Ja	Eine Familie mit ad-FMM	Spanien	Requena et al., 2015
<i>HMX2</i> ; <i>THEM55B</i>	Ja	Zwei Familien mit FMM	Finnland	Skarp et al., 2019
<i>LSAMP</i>	Ja	Eine Familie mit ar-FMM	Iran	Mehrjoo et al., 2020
<i>OTOG</i>	In 15 der 46 Familien	46 Familien mit FMM	Kaukasisch	Roman-Naranjo et al., 2020
<i>PRKCB</i>	Ja	Eine Familie mit ad-FMM	Spanien	Martin-Sierra et al., 2016
<i>SEAMA3D</i>	Ja	Eine Familie mit ad-FMM	Spanien	Martin-Sierra et al., 2017

ad=autosomal-dominant; ar=autosomal-rezessiv; FMM=Familiärer Morbus Menière

Abgesehen von der Studie von Roman-Naranjo et al., 2020, in der sich verschiedene Varianten des OTOG-Gens in 15 von 46 unterschiedlichen Familien mit familiärem Morbus Menière zeigten, waren die Assoziationen in den übrigen Genen nur in einzelnen Familien nachweisbar. Dies ließ vermuten, dass das OTOG-Gen in der Entstehung des familiären Morbus Menière von Bedeutung sein könnte (Escalera-Balsera et al., 2020).

1.6.2 Sporadischer Morbus Menière

Um genetische Assoziationen bei Schwindelerkrankungen zu untersuchen, analysierten Skuladottir et al. (2021) in einer genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) das komplette Genom von 48072 schwindelerkrankten Patienten, darunter 3516 Patienten mit Morbus Menière, und 894541 gesunden Kontrollen. Im Vergleich von Morbus Menière und Kontrollen konnten in dieser Studie keine signifikant assoziierten Varianten gefunden werden.

Jedoch konnten viele verschiedene Varianten unterschiedlicher Gene bereits in einzelnen Kandidatengenstudien mit sporadischem Morbus Menière assoziiert werden. Da diese Ergebnisse allerdings nicht in anderen unabhängigen Kohorten repliziert werden konnten, wird von einem polygenen und multifaktoriellen Krankheitsbild ausgegangen, das nicht durch ein einzelnes Gen erklärbar ist (Perez-Carpena und Lopez-Escamez, 2020).

Beispiele für Kandidatengene, die mit Morbus Menière in Verbindung gebracht wurden, können nachfolgender Tabelle entnommen werden (Tabelle 4).

Es finden sich mehrere positive Assoziationsstudien bezüglich Morbus Menière und Genen, welche im Elektrolythaushalt im Innenohr von Relevanz sind. So konnten Doi et al. (2005) eine Verbindung von Polymorphismen in den für spannungsgesteuerte Kaliumkanäle kodierenden *KCNE1*- (rs1805127) und *KCNE3*- (rs2270676) Genen mit Morbus Menière aufzeigen. Hierzu wurden die *KCNE1*- und *KCNE3*- Gene von 63 japanischen sicher an Morbus Menière Erkrankten mit japanischen gesunden Probanden verglichen (Doi et al. 2005). Um diese Ergebnisse zu überprüfen, untersuchten Campbell et al. (2010) die *KCNE1*- (rs1805127) und *KCNE3*- (rs2270676) Gene bei 180 kaukasisch-amerikanischen sicher an Morbus Menière Erkrankten und 180 kaukasisch-amerikanischen Kontrollprobanden. Die Ergebnisse von Doi et al. (2005) konnten in dieser Kohorte allerdings nicht repliziert werden (Campbell et al., 2010).

Einleitung

Tabelle 4: Kandidatengene für sporadischen Morbus Menière

Gen	Assoziation	Probanden (Pat/Kon)	Herkunft	Autoren
<i>ADD1</i>	Ja	28/48; 1713	Kaukasisch	Teggi et al., 2008
<i>ADD2</i>	Nein			
<i>ADD3</i>	Nein			
<i>AQP4</i>	Nein	86/2136	Japan	Nishio et al., 2013
<i>AQP5</i>	Ja	86/2136	Japan	Nishio et al., 2013
	Nein	102/292	Kaukasisch	Arweiler-Harbeck et al., 2012
<i>GJB2</i> ; <i>USH1G</i> ; <i>SLC26A4</i> ; <i>ESRRB</i> ; <i>CLDN14</i> ; <i>MARVELD2</i>	Nein (MM) Ja (SNHL)	830/ CSVS: 1579; ExAC: 60706; NFE: 33370	Pat: Spanien und Portugal Kon: Spanien (CSVS); ExAC (verschiedene Ethnien); NFE (nicht-finnische Europäer)	Gallego-Martinez et al., 2019
<i>GPX1</i> ; <i>PON1</i> ; <i>PON2</i> ; <i>SOD2</i>	Nein	84 (SSNHL); 82 (MM)/ 2107	Japan	Teranishi et al., 2012
<i>IFNG</i>	Nein	580/552	Kaukasisch	Gazquez et al., 2013
<i>KCNE1</i>	Ja	63/237	Japan	Doi et al., 2005
	Nein	180/180	Kaukasisch	Campbell et al., 2010
<i>KCNE3</i>	Ja	63/205	Japan	Doi et al., 2005
	Nein	180/180	Kaukasisch	Campbell et al., 2010
<i>MIF</i>	Ja	580/552	Kaukasisch	Gazquez et al., 2013
	Nein	291/552	Kaukasisch- Amerikanisch (Replikation)	Gazquez et al., 2013

Tabelle 4: Kandidatengene für sporadischen Morbus Menière - Fortsetzung

Gen	Assoziation	Probanden (Pat/Kon)	Herkunft	Autoren
<i>NFKB1</i>	Ja, schnellerer Hörverlust bei unilateralen MM	716/1628	Verschiedene Ethnien	Cabrera et al., 2014
<i>NTN4</i>	Ja	860/CSVS; ExAC: 60706; NFE: 33370	Pat: Spanien und Portugal Kon: Spanien (CSVS); ExAC (verschiedene Ethnien); NFE (nicht-finnische Europäer)	Gallego-Martinez et al., 2020
<i>PARP</i> (Promoter)	Ja, längere Allele	80/371	Südeuropa	Lopez-Escamez et al., 2009
<i>TNFA</i>	Nein	580/552	Kaukasisch	Gazquez et al., 2013
Trans-eQTL (Stimulierung von NF-κB)	Ja	420/1630	Kaukasisch	Frejo et al., 2017a

SNHL= Sensorineuraler Hörverlust; MM=Morbus Menière; Pat= Patienten; Kon= Kontrollen; CSVS= Collaborative Spanish Variant Server (Dopazo et al., 2016); ExAC=*Exome Aggregation Consortium* (Verschiedene Ethnien) (Lek et al., 2016) NFE= Nicht-finnische Europäer aus dem *Exome Aggregation Consortium* Kollektiv (Lek et al., 2016)

Nishio et al. (2013) konnten eine positive Assoziation eines Polymorphismus in dem für wasserleitende Kanäle kodierenden *AQP5*- Gen (rs3736309) aufzeigen. Hierzu wurde die Genotypverteilung des SNVs zwischen 86 japanischen Morbus Menière-Erkrankten und 2136 japanischen Kontrollprobanden verglichen.

Gene, die in einem Zusammenhang mit dem Immunsystems stehen, wurden ebenso mit der Entwicklung des Morbus Menière in Verbindung gebracht. So konnte Cabrera et al. (2014) eine Assoziation eines Polymorphismus im *NFKB1*- Gen bei Patienten mit Morbus Menière aufzeigen. Unilateral an Morbus Menière Erkrankte mit C-Allel im Polymorphismus rs3774937 oder mit G-Allel im SNV rs4648011 im *NFKB1*- Gen zeigten signifikant häufiger eine schnellere Progression des Hörverlusts.

Auch die von Gazquez et al. (2013) untersuchten *MIF*-, *IFNG*-, und *TNF*- Gene wiesen eine Verbindung mit der Antwort des Immunsystems auf. Die Autoren konnten in einer kaukasischen Probandengruppe eine positive Assoziation mit einem Polymorphismus im *MIF*-Gen (rs35688089) herstellen. Diese positive Assoziation konnte in derselben Studie jedoch nicht in einer kaukasisch-amerikanischen Kohorte repliziert werden (Gazquez et al., 2013). Lopez-Escamez et al. (2009) untersuchten den Promoter des Poly(ADP-Ribose)-Polymerase1(*PARP1*)- Gens bei 80 bilateral sicher an Morbus Menière Erkrankten und 371 gesunden Kontrollprobanden und stellten fest, dass die längeren Allele des Promoters seltener bei bilateralem Morbus Menière auftraten. Auch PARP-1 wurde bereits mit inflammatorischen Prozessen in Zusammenhang gebracht (Lopez-Escamez et al., 2009; Nie et al., 2021).

1.7 Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1

Das für PARP-1 kodierende *PARP1*-Gen befindet sich im menschlichen Genom auf Chromosom 1 (1q42.12), kodiert für 23 Exons und hat eine Länge von 43kb (Auer et al., 1989; Baumgartner et al., 1992).

Das PARP-1-Protein besteht aus 1013 Aminosäuren, hat ein Molekulargewicht von 113203 Da und wird im Zellkern in allen Geweben exprimiert (Kurosaki et al., 1987; Uhlén et al., 2015, [Human Protein Atlas](#), gesehen am 20.04.2023)). Das PARP-1-Protein wird in eine N-terminale DNA-Bindungsdomäne mit 3 Zink-Fingern, eine *BReast Cancer 1 (BRCA1) C-Terminus* (BRCT)-Automodifikationsdomäne und eine C-terminale katalytische-Domäne mit einem Tryptophan-Glycin-Arginin-reichen Motiv unterteilt (Kouyama et al., 2019) (Abbildung 3).

Das PARP-1-Enzym ist über posttranslationale Modifikation (ADP-Ribosylierung) mit der Reparatur und dem Überleben der Zellen bei Schäden der DNA assoziiert. So konnte eine Verbindung zwischen PARP-1 und dem Überleben von menschlichen Zellen aufgezeigt werden (Grube und Bürkle, 1992). Der Prozess der ADP-Ribosylierung verbraucht dabei NAD⁺ als Substrat (Krüger et al., 2020).

Bei einer Überaktivierung von PARP-1 kommt es zu einem großen Verbrauch von NAD⁺ (Zhang et al., 2012) und PARP-1 kann eine Caspase-unabhängige Freisetzung von *apoptose-inducing-factor* (AIF) bewirken und so den Zelltod verursachen (Yu et al., 2002). Der PARP-1 abhängige, Caspase-unabhängige Zelltod wird dabei als Parthanatos bezeichnet (David et al., 2009).

PARP-1 kann aber auch einen Einfluss auf die Regulation der Transkription aufweisen. Beispielsweise kann durch die ADP-Ribosylierung von Histonen der Zugang zur DNA erleichtert werden (Martinez-Zamudio und Ha, 2012). Ebenfalls gibt es eine Verbindung

zwischen Transkriptionsfaktoren und PARP-1. So wird PARP-1 für die Transkriptionsaktivität von *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells* (NF- κ B) benötigt und ist dadurch ein bedeutender Cofaktor für NF- κ B (Hassa und Hottiger, 1999).

Durch seine Funktionen wird PARP-1 mit vielen verschiedenen Krankheiten wie Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht. So konnten beispielsweise Meira et al. (2019) eine erhöhte Expression des PARP-1-Enzyms in CD4⁺T, CD8⁺T und B Zellen in mononukleären Zellen des peripheren Blutes bei Patienten mit Multiple Sklerose im Vergleich zu gesunden Probanden nachweisen.

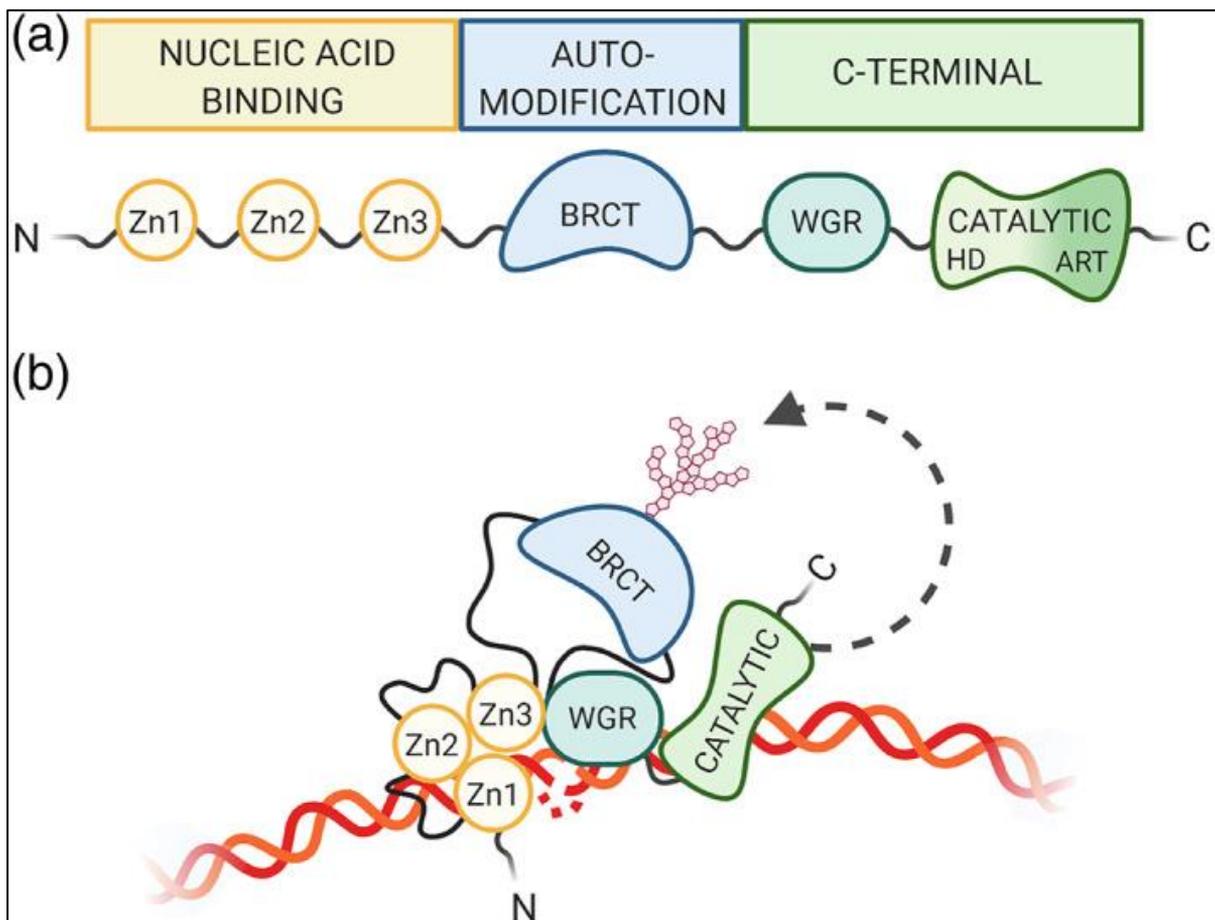


Abbildung 3: Domänen des PARP-1- Proteins

Die N-terminale Domäne mit den 3 Zinkfinger- Regionen (Zn1, Zn2, Zn3), die Automodifikations-Domäne, die C-terminale Domäne mit einem Tryptophan-Glycin-Arginin-reichen DNA-bindenden Motiv (WGR) und der katalytischen Domäne. (b) Bei Aktivierung findet eine Konformationsänderung von PARP-1 statt, um Substrate binden zu können (Langelier et al., 2018; Rudolph et al., 2018) (Abbildung und Beschreibung aus Eleazer und Fondue-Mittendorf, 2020).

1.7.1 PARP-1 und der TWEAK/Fn14 Stoffwechselweg und NF-κB

Frejo et al. (2017a) konnten den SNV rs4947296 auf 6p21.33 mit beidseitigem Morbus Menière assoziieren (OR = 2,089 (1,661–2,627); $p = 1,39 \times 10^{-09}$). Hierzu führten die Autoren eine Fall-Kontroll-Assoziationsstudie mit 1451 Patienten (420 mit beidseitigem und 1031 mit unilateralem Morbus Menière) und 895 Kontrollen durch.

Der SNV liegt in einem sogenannten *trans-expression quantitative trait locus* (trans-eQTL) (Frejo et al., 2017a), einer Region im Genom, die die Expression von einem oder mehreren Genen beeinflussen kann (Pereira et al., 2020). Die Region, in der Morbus Menière-Patienten häufig eine Variation aufwiesen, reguliert den *Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis/fibroblast growth factor inducible 14* (TWEAK/Fn14) Stoffwechselweg, der mit einer Regulation der Immunantwort in Verbindung gebracht wird, da er mit einer erhöhten Expression von NF-κB assoziiert wird. Das Cytokin TWEAK bindet dabei an den Rezeptor (Fn14) und kann sowohl den kanonischen wie auch den nicht-kanonischen NF-κB Signalweg stimulieren (Roos et al., 2010), wobei der kanonische Signalweg eine Stimulierung von NF-κB über die Phosphorylierung des NF-κB1 Inhibitors *Inhibitor of nuclear factor kappa B alpha* (IκBα) verursacht (Roos et al., 2010; Prescott et al., 2022), während der nicht-kanonische eine Stimulierung von NF-κB2 über die *NFκB-inducing kinase* (NIK) vermittelt (Roos et al., 2010; Ramakrishnan et al., 2019). Die Autoren folgerten, dass die Morbus Meniere-Erkrankten mit dem Risiko-Genotyp CC (rs4947296) im TWEAK/Fn14-Stoffwechselweg eine NF-κB vermittelte inflammatorische Antwort entwickeln könnten (Frejo et al., 2017a).

Zwischen dem TWEAK/Fn14 Stoffwechselweg und PARP-1 besteht entsprechend bei der NF-κB vermittelten inflammatorischen Antwort ein entscheidender Zusammenhang, da PARP-1 für die Transkriptionsaktivität von NF-κB benötigt wird und ein bedeutender Cofaktor von NF-κB ist. So konnte aufgezeigt werden, dass PARP-1-Inhibitoren NF-κB vermittelte Gen-Transkription von proinflammatorischen Zytokinen blockiert (Vuong et al., 2015).

1.7.2 Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 und oxidativer Stress durch Rauchen

Tabakrauch verursacht einen erhöhten oxidativen Stress in Zellen wie beispielsweise in Spiralganglienneuronen und im Corti-Organ. Paquette et al. (2018) wiesen in einer Studie nach, dass Mäuse, die Zigarettenrauch ausgesetzt waren, im Vergleich zur Kontrollgruppe fibrotische Unterschiede im Innenohr aufzeigten. Histologisch zeigte sich, dass in den Spiralganglien von Rauch ausgesetzten Mäusen deutliche oxidative Degradation von Lipiden

sichtbar waren. Die Autoren folgern, dass Rauch oxidativen Stress in cochleären Zellen auslösen könnte (Paquette et al., 2018).

Kovács et al. (2012) untersuchten die Wirkung von Zigarettenrauch auf menschliche Epithelzellen, indem sie die Zellen mit und ohne PARP-1 für 24 oder 48 Stunden Zigarettenrauch exponierten. Zur Herstellung des Zigarettenrauchs wurde je eine 100 mm Zigarette im zeitlichen Abstand von 5 Minuten mit Hilfe einer Vakuumpumpe verbrannt. Hier zeigte sich, dass Zigarettenrauch erhöhte Konzentrationen von Superoxiden und Hydrogenperoxiden verursachte, die Schäden an der DNA auslösten. Epithelzellen ohne PARP-1 zeigten unter diesen Bedingungen eine verspätete Reparatur von DNA-Brüchen und eine niedrigere Überlebenswahrscheinlichkeit. Die Autoren schlussfolgerten, dass PARP-1 eine Relevanz beim Überleben von Zellen zukommt, die oxidativen Stress durch Zigarettenrauch ausgesetzt sind (Kovács et al., 2012).

Allerdings kann der durch das Rauchen verursachte oxidative Stress auch eine Überaktivierung von PARP-1 auslösen, die zu Parthanatos (PARP-1 abhängiger Zelltod) führt. Künzi et al. (2019) konnten aufzeigen, dass eine Exposition von Rauch in menschlichen Bronchialepithelzellen DNA-Schäden verursacht, die eine PARP-1 Überaktivierung zur Folge haben könnten. Dies könnte eine Translokation von AIF und Parthanatos auslösen. Zellen mit einem PARP-1 Inhibitor zeigten hierbei keine Aktivierung von Parthanatos (Künzi et al., 2019).

1.7.3 Poly(ADP-Ribose)-Polymerase 1 und Morbus Menière

Das *PARP1*-Gen wurde bereits mit Morbus Menière in Verbindung gebracht. So stellten Lopez-Escamez et al. (2009) in einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie fest, dass die mit 17-20 (CA)-Wiederholungen längeren Allele eines Mikrosatelliten im Promoterbereich des Gens seltener bei bilateralem Morbus Menière (korrigiertes $p=0.012$) auftraten.

Bei dieser Studie wurden der Promoter des *PARP1*-Gens von 80 Patienten mit bilateralem Morbus Menière (Diagnose nach AAO-HNS Kriterien von 1995) aus dem südeuropäischen Raum mit dem von 371 gesunden Blutspendern verglichen. Nach Vervielfältigung durch Polymerase-Kettenreaktion wurden die Proben der Probanden mit einer Kapillarelektrophorese analysiert. Die Autoren diskutierten, dass die längeren Allele eine Schutzfunktion gegen beidseitigem Morbus Menière bieten könnten, da kürzere Allele die Transkriptionsrate von PARP-1 senken könnten. Da es bei einem endolymphatischen Hydrops zu einer oxidativen Stresssituation der Spiralganglienneurone und DNA-Schäden kommt (Anne et al., 2007), könnte eine veränderte Transkriptionsrate einen Einfluss auf die DNA-Reparaturfähigkeit von PARP-1, Parthanatos und auch auf die durch PARP-1 beeinflusste Genexpression, zum Beispiel von NF- κ B, haben. Die Autoren schließen daher, dass weitere

Einleitung

Studien zur PARP-1-Aktivität bei Patienten mit Morbus Menière benötigt werden (Lopez-Escamez et al., 2009).

Insgesamt weist PARP-1 durch seine verschiedenen Funktionen eine große Bedeutung in der Immunantwort der Zellen auf, wie beispielsweise durch seine Verbindung mit NF- κ B (Hassa und Hottiger, 1999; Zhu et al., 2021).

Da auch bei der Ätiologie des Morbus Menière eine Beteiligung des Immunsystems diskutiert wird, ist eine Untersuchung des *PARP1*-Gens als Suszeptibilitätsfaktor naheliegend.

1.8 Fragestellung

Die Ätiologie und Pathophysiologie des Morbus Menière ist noch nicht vollständig geklärt. Die am häufigsten vertretene Hypothese vermutet die Beteiligung immunologischer oder autoimmuner Faktoren in der Genese. PARP-1 könnte hier mit seiner Bedeutung in der Reparatur von DNA-Schäden, bei Parthanatos und bei der Transkription im Zusammenhang mit NF- κ B einen Einfluss auf die Immunantwort der Zellen und auch auf das Überleben der Spiralganglienneurone unter oxidativem Stress während des endolymphatischen Hydrops haben.

Einen Hinweis auf die Beteiligung von *PARP1* als Suszeptibilitätsfaktor wurde durch Lopez-Escamez et al. (2009) erbracht, die in einer Fall-Kontroll-Assoziation bei Morbus Menière-Patienten ein im Vergleich zu Kontrollen selteneres Auftreten der langen Allele eines Mikrosatelliten im Promotorbereich des *PARP1*-Gens identifizierten.

Um diese Befunde in einer unabhängigen europäischen Studie zu prüfen, sollte in dieser Studie das *PARP1*-Gen detailliert auf einen Zusammenhang mit Morbus Menière untersucht werden.

Dazu wurden 272 Varianten des *PARP1*-Gens genotypisiert und die Genotypfrequenzen von 6 Index-SNVs stellvertretend für LD-unabhängige Regionen zwischen einer Gruppe aus 249 Patienten mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière und 2597 gesunden Kontrollprobanden verglichen. Die Patientenstichprobe enthielt 203 Patienten mit mindestens klinisch sicherem Morbus Menière und 51 beidseitig an Morbus Menière erkrankte Patienten. Beide Untergruppen wurden ebenfalls jeweils den Kontrollprobanden gegenübergestellt.

Da PARP-1 auch auf den durch Rauchen zusätzlich verursachten oxidativen Stress einen Einfluss hat, wurden die 272 Varianten des *PARP1*-Gens in Hinblick auf den Raucherstatus in einer Fall-Kontroll-Assoziation überprüft und ggf. für diesen in den vorhergehenden Fall-Kontrollassoziationen korrigiert.

2 Methoden

2.1 Studienbedingungen

Die Diagnosestellung und Rekrutierung der Patienten fand im Deutschen Schwindel- und Gleichgewichtszentrum (DSGZ), die der Kontrollen am Klinikum für Psychiatrie und Psychotherapie der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München statt. Alle Probanden wurden vollständig aufgeklärt und stimmten der Studie schriftlich zu. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der LMU München genehmigt und in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki ausgeführt.

2.2 Rekrutierung der Patienten mit Morbus Menière

Die Gesamtstichprobe der Morbus Menière-Patienten hatte einen einseitigen oder beidseitigen, nach Kriterien der *American Academy of Head and Neck Surgery* von 1995 (AAO-HNS), diagnostizierten klinisch sicheren oder klinisch wahrscheinlichen Morbus Menière. Für die Diagnose eines klinisch wahrscheinlichen Morbus Menière waren eine definitive Schwindelepisode, ein mindestens einmaliger audiometrisch nachgewiesener Hörverlust, Tinnitus oder Druckgefühl im betroffenen Ohr und ein Ausschluss anderer Ursachen erforderlich. Für eine sichere Diagnose mussten zusätzlich, statt einer definitiven Schwindelepisode, zwei oder mehr spontane Schwindelepisoden, die 20 Minuten oder länger dauern, vorhanden sein (*Committee on Hearing and Equilibrium, 1995*).

Die Untergruppe der beidseits Betroffenen wurde ebenfalls nach Kriterien der AAO-HNS von 1995 ausgewählt (*Committee on Hearing and Equilibrium, 1995*).

Zur Sicherstellung der Diagnose wurden mehrere verschiedene Untersuchungen im DSGZ durchgeführt. Sie beinhalteten eine ausführliche Schwindelanamnese, eine körperliche Untersuchung und vestibuläre Funktionsprüfungen durch eine kalorische Testung. Der Hörverlust wurde mittels Hörschwellentest objektivierbar festgestellt. Alle Morbus Menière-Erkrankten hatten eine kaukasische Abstammung.

2.2.1 Ausschlusskriterien

Probanden mit einer primären ZNS-Erkrankung, die sekundär zu einer Morbus Menière-Symptomatik führen könnte, wurden ausgeschlossen. Diese primären ZNS-Erkrankungen beinhalteten zum Beispiel ischämische Schlaganfälle, Hirnblutungen, neurodegenerative Erkrankungen oder Tumore.

2.2.2 Standardisierte Anamnese

Durch einen standardisierten Anamnesebogen wurden Daten zum Probanden, wie Nationalität, Ethnie, Geschlecht, Herkunftsland, Begleiterkrankungen, beispielsweise Autoimmunerkrankungen, sowie Risikofaktoren, wie zum Beispiel Rauchen, erfasst. Dabei wurden auch Angaben zur Familienanamnese und zum Herkunftsland der Eltern und Großeltern abgefragt. Das Todesalter und die Todesursache verstorbener Eltern und Großeltern wurden dokumentiert. Informationen zur Schwindelsymptomatik und deren Manifestationsalter wurden sowohl beim Probanden als auch bei dessen Großeltern, Eltern, Geschwistern und Kindern getrennt festgehalten. Die Schwindelsymptomatik beinhaltete Angaben zu Migräne, Koordinationsstörungen, Sehstörungen, Gangstörungen, Schwindel, Hörstürzen, Schwerhörigkeit, Tinnitus und Druckgefühl auf dem Ohr.

Vor der Blutentnahme gaben die Patienten Gewicht, Größe, die zuvor eingenommenen Medikamente, Mahlzeiten und Getränke an.

2.2.3 Blutentnahme und Dokumentation

Nach der Einwilligung der Probanden zur Blutuntersuchung wurde venös 7-10 ml Blut in EDTA- und Serum-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) abgenommen. Die Monovetten wurden mit einem alphanumerischen Code beschriftet und zur Weiterbearbeitung an das assoziierte Labor weitergeleitet. Nach der Blutentnahme wurden die Angaben der Patienten auf dem standardisierten Anamnesebogen digital und pseudonymisiert festgehalten. Um Fehler bei der digitalen Übertragung zu vermeiden, wurden die Angaben von unterschiedlichen Mitarbeitern doppelt eingegeben und danach abgeglichen.

2.3 Rekrutierung der Kontrollprobanden

Gesunde Kontrollprobanden wurden aus der Allgemeinbevölkerung Münchens und Umgebung zufällig für PAGES (*Phenomics and Genomics Sample*) ausgewählt (Rujescu et al., 2018). Um Informationen über die medizinische, psychiatrische und neurologische Vorgeschichte und Angaben über die Verwandten ersten Grades der Probanden zu erfahren, wurde eine ausführliche Anamnese erhoben. Diese Informationen wurden ergänzt durch Interviews, und zwar durch das *Family History Assessment Module* (Rice et al., 1995) und die strukturierten klinischen Interviews für DSM IV (SKID 1 and SKID2) (First et al., 1996, 1997), um weitere Informationen zur medizinischen Vorgeschichte zu erfassen. Zusätzlich wurde eine orientierende neurologische Untersuchung durchgeführt. Probanden mit psychiatrischen oder neurologischen Erkrankungen oder Auffälligkeiten in diesen Bereichen wurden nicht

aufgenommen. Es wurden nur gesunde, nicht verwandte Personen mit deutscher Herkunft ausgewählt. Neben der Datenerhebung wurde auch in dieser Stichprobe eine venöse Blutentnahme für die nachfolgende genetische Untersuchung durchgeführt.

2.4 Erfassung des Raucherstatus

Der Raucherstatus in der Kontrollstichprobe wurde mit dem Fagerström-Test für Nikotinabhängigkeit (Heatherton et al., 1991) für den aktuellen Zeitpunkt und die Vergangenheit erhoben und die Probanden den Kategorien Raucher, ehemaliger Raucher und Nichtraucher zugeordnet. Für die genetische Datenanalyse wurden ehemalige und aktuelle Raucher in einer Gruppe zusammengefasst.

In der Patientenstichprobe war die Frage nach dem Raucherstatus (Raucher, ehemalige Raucher, Nichtraucher) Teil der Anamnese und wurde gesondert abgefragt. Das Rauchverhalten der Probanden wurde in *Pack Years* festgehalten, wobei *Pack Years* durch die Multiplikation der Raucherjahre mit der Anzahl der pro Tag gerauchten Zigarettenpackungen ermittelt wurden. In dieser Studie wurden sowohl aktuelle wie auch ehemalige Rauchende als Raucher eingestuft.

2.5 Laborverfahren

Die Laborverfahren liefen nach einem standardisierten Prozess ab. Dabei wurde die DNA-Extraktion der Proben mit Hilfe des Qiagen *DNA-Blood-Maxi-Kits* (Qiagen, Hilden, 2005) und die Bestimmung sowie Einstellung der Konzentration mit der PicoGreen-Methode durchgeführt.

2.5.1 DNA-Extraktion

Das Blut der Probanden in den EDTA-Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) wurde durch 12-minütige Zentrifugation bei 3620 rpm (*Revolutions per Minute*) und 6° C in Plasma und Blutkuchen getrennt. Der in den Monovetten (Sarstedt, Nümbrecht) verbliebene Blutkuchen wurde zur Extraktion der DNA bereitgestellt.

Im ersten Schritt der DNA-Extraktion mit dem *DNA-Blood-Maxi-Kit* wurde zur Herstellung einer Blut-Puffer-Suspension das EDTA-Blut-Volumen mit einem PBS-Puffer (Phosphat gepufferte Salzlösung) in einem 50 ml Zentrifugenröhrchen auf 10 ml angepasst. Für die Zellyse wurden der Mischung 500 µl Protease und 12 ml Guanidinhydrochlorid-haltiger Lysepuffer hinzugefügt. Die Lösung wurde danach zur Homogenisierung 60 Sekunden in einem Vortexmischer geschüttelt und anschließend bei 70°C in einem Wasserbad für 30 Minuten

inkubiert. Zur Ausfällung der DNA wurden der homogenisierten Lösung 10 ml Ethanol hinzugefügt. Anschließend wurde die Probe 2 Minuten durch einen Vortexmischer geschüttelt, um eine homogene Lösung zu erhalten (Tabelle 5).

Tabelle 5: Zubehör für die DNA-Extraktion

Material und Geräte	Hersteller
50 ml Zentrifugenröhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
EDTA Monovette	Sarstedt, Nümbrecht
Mikroschraubröhrchen	Sarstedt, Nümbrecht
1x PBS-Puffer: 0,24 g KH_2PO_4 0,2 g KCl 8 g NaCl 1,44 g Na_2HPO_4 Ad 1 l mit Aqua dest. mit NaOH auf pH 7,4 eingestellt	hergestellt aus Reagenzien von Carl Roth, Hamburg
Kühlzentrifuge CF108-GR Qiagen	VWR Life Science Competence Center, Erlangen
Wasserbad WNB 22	Memmert, Schwabhausen
Vortex Genie	Scientific Industries, New York, USA
Ethanol Rotipuran (>98 % p. A.)	Carl Roth, Karlsruhe
DNA Blood Maxi Kit	Qiagen, Hilden

Die homogene Lösung wurde daraufhin schrittweise in eine QIAamp Maxi Säule transferiert. Danach wurden die Proben in eine Zentrifuge überführt und bei 3000 rpm für 3 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Dadurch fand eine selektive Bindung der DNA an der Silikagelmembran statt.

Zur Beseitigung der RNA- und Proteinüberreste wurden in dem 1. Waschschrift 5 ml Guanidin-HCL-haltiger Waschpuffer der Lösung hinzugefügt und eine Zentrifugation der Probe mit 4000 rpm für 2 Minuten bei Raumtemperatur durchgeführt. Durch Zugabe eines 5 ml ethanolhaltigen, salzarmen Puffers und eine 15-minütige Zentrifugation bei 4000 rpm und

Raumtemperatur fand der 2. Waschschrift statt, der eine Entfernung des Guanidinhydrochlorids und die Trocknung der Silikagelmembran bewirkte.

Der Probe auf der Membran wurden anschließend 0,75 ml TRIS-haltiger Elutionspuffer hinzugefügt und es folgte eine 5-minütige Inkubation. Nachfolgend fand eine Zentrifugation für 2 Minuten bei 5000 rpm und Raumtemperatur statt, die die Auslösung der DNA von der Silikagelmembran abschloss. Diese bei Raumtemperatur stattfindende Prozedur wurde einmal wiederholt.

Bis zur danach folgenden Konzentrationseinstellung der DNA wurde die DNA-Stammlösung in 2 ml Mikroschraubröhrchen (Sarstedt, Nümbrecht) bei -80°C gelagert.

2.5.2 Konzentrationseinstellung der DNA

Die Genotypisierung der Proben erforderte eine standardisierte Konzentrationseinstellung der DNA. Nachfolgende Verbrauchsmaterialien und Geräte waren für den Prozess der Konzentrationseinstellung erforderlich (Tabelle 6).

Tabelle 6: Zubehör für die Konzentrationseinstellung

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

Zur farblichen Markierung der DNA in der Konzentrationsmessung wurde PicoGreen verwendet. PicoGreen ist ein Fluorophor und bindet selektiv an die doppelsträngige DNA. Um die Quantifizierung der unbekanntenen DNA-Konzentration der Proben sicherzustellen, wurde eine Standardkurve eingesetzt. Diese wurde als 1:2 Verdünnungsreihe eines 100 ng/µl DNA-Standards hergestellt, der in 8 Konzentrationen unterteilt wurde (100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,5625; 0 ng/µl). Die Verdünnung erfolgte mit bidestilliertem Wasser.

Die Konzentrationsmessung fand halbautomatisiert durch eine Janus Automated Workstation statt. Da die aus der Extraktion erhaltene DNA in der Regel eine Konzentration enthielt, die

den Messbereich des Fluoreszenzmessgeräts überstieg, wurden vorab 5 µl der zu messenden Probanden-DNAs in einer 96 *well* Platte mit 45 µl Wasser verdünnt (Verhältnis 1:10). Von dieser verdünnten DNA sowie von den 8 Punkten der Standard-DNA wurden jeweils 5 µl in eine schwarze 96 *well* Platte mit flachem Boden (Messplatte) hinzugefügt, in die zuvor 50 µl autoklaviertes, destilliertes Wasser pipettiert worden war. Sowohl die Standardmesspunkte wie auch die Probanden-DNA wurden doppelt auf die Platte pipettiert.

Nachdem das PicoGreen in einem Verhältnis von 1:156 mit bidestilliertem Wasser verdünnt worden war, wurde im Anschluss pro Vertiefung der Messplatte 145 µl PicoGreen-Lösung hinzugegeben, um eine finale Verdünnung der DNA-Probe von 1:400 und des PicoGreens von 1:200 zu erreichen.

Die Messplatte wurde durch einen Arm der Janus Automated Workstation in einen Victor 3 Multilabel Counter 1420 (Photometer) vollautomatisiert übertragen. Dort wurde die Platte 30 Sekunden in Doppellellipsen bei horizontaler Lage bewegt, um eine Homogenisierung der Lösungen zu erreichen. Das photosensible PicoGreen wurde mit einer Lichtquelle bei einer Wellenlänge von 485 nm angeregt. Bei einer Wellenlänge von 520 nm erfolgte die Messung der PicoGreen-Emission, deren Ergebnisse direkt vom Victor 3 Multilabel Counter an einen Rechner weitervermittelt wurden. Dieser Rechner konnte anhand der Ergebnisse der Fluoreszenzmessung mithilfe der Standardkurve die DNA-Konzentration der Probe auswerten. Die Verdünnung auf eine Konzentration von 50 ng/ µl fand dann vollautomatisiert durch die Janus Automated Workstation statt.

2.6 Genotypisierung

Die Genotypisierung der DNA der Probanden fand durch das SNV-Array Prinzip statt. Hierbei kann anhand von Fluoreszenzsignalen auf die jeweiligen Genotypen der auf einer Arraymatrix fixierten SNV-spezifischen Sonden geschlossen werden. Die Genotypisierung der Proben erfolgte zeitlich versetzt, teilweise auf unterschiedlichen Plattformen in 7 Chargen. Diese wurde für die Chargen 1 (Priebe et al., 2013; Drago A. et al., 2014), 2 (Need et al., 2009), 3 (Bramon et al., 2014) im Rahmen einer Schizophrenie-Assoziationsstudie des *Psychiatric Genomics Consortium* (PGC, 2014) durchgeführt, die Qualitätskontrolle und Imputation der Chargen 4 (Stefansson et al., 2008), 5 (Lencz et al., 2014), 6 (Galfalvy et al., 2015) und 7 (Rujescu et al., 2018) wurden in Anlehnung an diese Kriterien umgesetzt (Tabelle 7). Nach der Zusammenfügung erfolgte eine erneute Qualitätskontrolle in der Gesamtdatei.

Tabelle 7: Übersicht über die 7 Chargen

Charge 1	Human610-Quad (Priebe et al., 2013) Human660W-Quad (Drago et al., 2014)
Charge 2	HumanHap 300 (Need et al., 2009)
Charge 3	Affymetrix 6.0 (Bramon et al., 2014)
Charge 4	HumanHap 300 (Stefansson et al., 2008)
Charge 5	Illumina Human OmniExpress 12 (Lencz et al., 2014)
Charge 6	Illumina Omni1-Quad (Galfalvy et al., 2015)
Charge 7	HumanOmniExpress-24 (Rujescu et al. 2018)

2.6.1 Qualitätskontrolle

Zur Qualitätssicherung der Daten wurde die Software PLINK 1.9 (Chang et al., 2015) verwendet. Ein valides Genotypisierungsergebnis beruht auf zwei grundlegenden Qualitätsmerkmalen, und zwar einerseits auf der Qualität der eingesetzten DNA und andererseits auf der Qualität der durchgeführten SNV-Bestimmung. Um SNVs unterhalb einer Qualitätsgrenze ausschließen zu können, wird mithilfe der *SNV call rate* eine SNV-spezifische Genotypisierungsrate bestimmt, die als Verhältnis aller erfolgreich genotypisierten Probanden zu allen in der Charge möglichen Probanden für einen SNV berechnet wird. In einem ersten Schritt wurden so alle SNVs mit einer Genotypisierungsrate von weniger als 95% aus dem Datensatz entfernt.

Der zweite maßgebliche Faktor ist die Qualität der eingesetzten DNA. Diese wird in Form einer Probanden-spezifische Genotypisierungsrate (Probanden *call rate*) erfasst und als Verhältnis aller erfolgreich genotypisierten SNVs zu allen auf dem Array möglichen SNVs für eine Probe berechnet. Offensichtliche Probleme bei der DNA-Qualität wurden anhand der Probanden *call rate* definiert. Um in kleineren Stichproben die DNA-Qualität nicht zu unterschätzen, wurde hier eine geringere Probanden *call rate* zugelassen als in größeren Stichproben. Der Grenzwert lag bei den verschiedenen Chargen zwischen 96-99%.

Außerdem wurden Probanden ausgeschlossen, deren genetisch bestimmtes Geschlecht nicht mit dem für die Probe angegebenen Geschlecht übereinstimmte. Anschließend wurden folgende Kriterien zum Ausschluss von SNVs verwendet (Tabelle 8).

Tabelle 8: Ausschlusskriterien der globalen SNV- Qualitätskontrolle

SNV call rate Autosomen <99% X-Chromosom <95%
Abweichung vom Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE): Kontrollen: $p \leq 10^{-6}$ X-Chromosom (berechnet in weiblichen Kontrollen): $p \leq 10^{-6}$ Patienten: $p \leq 10^{-10}$
Unterschiede der <i>SNV call rate</i> zwischen Patienten und Kontrollen $\geq 2\%$

Danach wurden Probanden entfernt, die eine stark abweichende Ethnie zeigten, miteinander verwandt waren, auf dem X-Chromosom in männlichen Probanden Auffälligkeiten in der Heterozygotenfrequenz oder unabhängig von Geschlecht und SNV generell eine hohe Heterozygotenfrequenz aufwiesen.

Spezifisch dafür wurde ein Datensatz nach strengeren Kriterien zusammengestellt, um den Ausschluss auf der Basis möglichst aussagekräftiger SNVs durchführen zu können. In diesem Datensatz waren nur SNVs mit einer mit $MAF \geq 5\%$ (minore Allelfrequenz), einer *SNV call rate* $> 99\%$ enthalten und solche, die keine Abweichung vom HWE ($p \geq 0,05$) zeigten. Dieser Datensatz wurde außerdem auf SNVs reduziert, die weitgehend LD-unabhängig voneinander waren ($r^2 < 0,2$). Zusätzlich wurden hier auch Regionen ausgeschlossen, die natürlicherweise ein hohes LD aufweisen (beispielsweise die MHC-Region).

Der Ausschluss von verwandten Personen, die in der nachfolgenden Analyse stören würden, wurde basierend auf der Metrik (π_f) durchgeführt. Bei hohen Werten ist von einer Verwandtschaft auszugehen (zum Beispiel monozygote Zwillinge oder identische Proben: $\pi_f = 1$; Verwandte zweiten Grades: $\pi_f = 0,25$). Als Ausschlusswert wurde ($\pi_f \geq 0,1875$) verwendet. In einem solchen Fall wurde einer der beiden Probanden aus dem Datensatz entfernt, wobei Patienten gegenüber Kontrollen bevorzugt beibehalten wurden.

Die π_f Metrik wurde ebenfalls verwendet, um mögliche DNA-Kontaminationen zu identifizieren. Eine überzufällige Anzahl heterozygoter Genotypen weist in der Regel auf eine Verunreinigung durch Vermischung mehrerer Probanden-DNAs hin. Entsprechend wurden Probanden mit einer heterozygoten Abweichung von $IF_{het} \geq 0,2$ aus dem Datensatz entfernt. Um Populationsstratifikation zu erkennen und zu vermeiden, wurde EIGENSTRAT (Price et al., 2006) zur Analyse verwendet. Populationsstratifikation kann auftreten, wenn bei genetischen Fall-Kontroll-Studien Probanden und Kontrollen aus unterschiedlichen

genetischen Populationen stammen. Eine Hauptkomponentenanalyse (*Principal Component Analysis*) wurde benutzt, um Ausreißer von der Analyse auszuschließen.

Bevor mit der Imputation begonnen wurde, wurden bekannte Duplikate derselben Probe auf verschiedenen Chips auf Übereinstimmung überprüft. Lag die Konkordanzrate der Genotypen bei >99%, wurde die Probe mit geringerer Qualität bei der Proben *call rate* und der Chipqualität ausgemustert. Im Falle einer niedrigen Übereinstimmungsrate (<99%), wurden beide Proben verworfen.

2.6.2 Imputation

Die einzelnen Chargen wurden mit dem zur Haplotyp Abschätzung und Imputation entwickelten Tool SHAPEIT in Phase gebracht (Delaneau et al., 2011).

Danach wurden die Chargen einzeln durch die Imputationssoftware IMPUTE2 auf Basis des 1000 Genomes Referenzpanel (Phase 1 Version 3 macGT1) (https://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/data_download_1000G_phase1_integrated.html) in 3 MB Teilen imputiert (Howie et al, 2011). Hierbei wurde die Imputation für das X-Chromosom jeweils für Frauen und Männer getrennt ausgeführt.

2.6.3 Erstellung des Megadatensatzes

Im Anschluss an die Imputation wurden die sieben Chargen zu einem großen Datensatz zusammengefasst, dabei wurden Marker, deren minore Allelfrequenz zwischen den Datensätzen um mehr als 0,1 variierten, und Marker mit einem INFO-Wert < 0,6 in einer der Chargen oder im kombinierten Datensatz ausgeschlossen. Zusätzlich wurde die Qualitätskontrolle, wie sie für die einzelnen Chargen abgewickelt worden war, im Gesamtdatensatz erneut durchgeführt. Probanden und SNVs mit nicht ausreichender Qualität sowie bislang unbekannte Duplikate oder Verwandte und Probanden mit abweichender Ethnizität wurden aus dem Megadatensatz entfernt.

2.7 Zusammenstellung des *PARP1*-Datensatzes

Um alle das *PARP1*-Gen betreffende SNVs zu erfassen, wurden die Gengrenzen anhand des NCBI (GRCHR 37. P13) verwendet (Chr. 1 von Position 226 548 392 bis 226 595 794) und die Region um -18/+19 kb erweitert (Chr. 1 von Position 226 530 047 bis 226 614 917). Damit wurden sowohl Polymorphismen in dem *PARP1*-Gen als auch in der umgebenden Region in die Analyse eingeschlossen, um mögliche regulatorische Sequenzen überprüfen zu können. Alle in diesem Genbereich genotypisierten 272 SNVs wurden aus dem Megadatensatz

extrahiert. Dieser Datensatz wurde anschließend auf für die Analyse geeignete Kontrollen und Morbus Menière-Patienten reduziert.

2.8 Statistische Analyse

Im Rahmen dieser Studie wurden Fall- Kontroll- Assoziationsanalysen zu Morbus Menière und zum Raucherstatus durchgeführt.

Diese Analysen wurden in PLINK 1.9 (Chang et al., 2015) als logistische Regressionen im additiven Modell durchgeführt. Dabei wird von zusammenwirkenden Effekten der jeweiligen Allele ausgegangen. Das bedeutet zum Beispiel, dass bei einem Risikoallel ein heterozygoter Träger gegenüber einem homozygoten Träger die Hälfte des Risikos trägt.

Da aufgrund der nahen Lokalisation ein Kopplungsungleichgewicht (*Linkage Disequilibrium*; LD) der 272 SNVs wahrscheinlich war, wurden die SNVs basierend auf den Ergebnissen der Assoziationsanalyse LD-unabhängigen Regionen zugeordnet, wobei der jeweils signifikanteste SNV einer Region als Index definiert wurde. Polymorphismen mit einem $r^2 > 0,1$ und in einer Distanz von 250 kb zu diesem Index wurden als im LD befindlich definiert und diesem zugeordnet. Am Ende wurden 6 Index SNVs bestimmt.

Das Hardy-Weinberg Gleichgewicht wurde mit dem exakten Test nach Fisher berechnet und SNVs mit einer Abweichung von $p < 0,01$ aus der Analyse ausgeschlossen.

Geschlechtsunterschiede zwischen den Gruppen wurden mit dem Chi-Quadrat Test nach Pearson und Unterschiede in der Altersverteilung mit einem ungepaarten T-Test durchgeführt. Ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ wurde als nominale Signifikanz festgelegt. Mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur für das multiple Testen wurde die Signifikanz auf $p \leq 0,0083$ für die 6 Index-SNVs adjustiert.

3 Ergebnisse

Im Rahmen der vorliegenden Fall-Kontroll-Assoziationsstudie wurde ein Zusammenhang zwischen 272 Varianten des *PARP1*-Gens, vertreten durch 6 LD-unabhängige Index SNVs, und der Erkrankung Morbus Menière sowie dem möglichen Risikofaktor Rauchen überprüft.

3.1 Studienteilnehmer

Insgesamt nahmen 2846 Personen an der Studie teil. Unter den Patienten waren 249 nach AAO-HNS diagnostizierte mindestens wahrscheinlich an Morbus Menière erkrankte Probanden, darunter 203 mit einer klinisch sicheren Diagnose. In der Gruppe der mindestens klinisch wahrscheinlich an Morbus Menière Erkrankten wiesen 51 Patienten einen beidseitigen Morbus Menière auf (Tabelle 9).

Tabelle 9: Übersicht über Alter, Geschlecht und Raucherstatus der Stichproben

Phänotyp	Kontrollen		MMkw		MMks		MMbds	
Geschlecht (n, %)								
Männlich	1202	(46,28)	136	(54,62)	114	(56,16)	26	(50,98)
Weiblich	1395	(53,72)	113	(45,38)	89	(43,84)	25	(49,02)
Alter in Jahren								
MW (SD)	47,36	(16,55)	59,80	(12,79)	59,45	(12,65)	62,57	(14,04)
Min / Max	18	/ 79	24	/ 88	24	/ 85	24	/ 88
Rauchen (n, %):								
Fehlend	174		4		3		22	
Nichtraucher	1215	(50,14)	171	(69,80)	138	(69,00)	10	(34,48)
Männlich	507	(41,73)	89	(52,05)	73	(52,90)	9	(90,00)
Weiblich	708	(58,27)	82	(47,95)	65	(47,10)	1	(10,00)
Raucher	1208	(49,86)	74	(30,20)	62	(31,00)	19	(65,52)
Männlich	619	(51,24)	47	(63,51)	41	(66,13)	7	(36,84)
Weiblich	589	(48,76)	27	(36,49)	21	(33,87)	12	(63,16)

MM: Morbus Menière; kw: mindestens klinisch wahrscheinlich, ks: mindestens klinisch sicher, bds: beidseits; n: Anzahl; MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, Min: Minimum, Max: Maximum

3.1.1 Geschlechtsverteilung

Die Geschlechtsverteilung unter den Patienten war relativ ähnlich, mit einem überwiegenden Anteil männlicher Betroffener, der mit 56,2% (n=114) in der Gruppe mit klinisch sicherem Morbus Menière am höchsten war, gefolgt von der Gesamtstichprobe aller Patienten mit 54,6% (n=136) und den beidseits Betroffenen mit 51,0% (n=26) (Tabelle 9, S. 37), während in der Kontrollgruppe die weiblichen Probanden mit 53,7% häufiger vertreten waren.

Abweichungen der Geschlechtsverhältnisse zwischen Kontrollprobanden und den jeweiligen Patientengruppen wurden mit Hilfe eines Chi-Quadrattests nach Pearson untersucht. Während die Unterschiede zwischen mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière ($\chi^2=6,34$, $p=0,012$) sowie der Gruppe mit klinisch sicherer Diagnose ($\chi^2=7,37$, $p=0,007$) und Kontrollen signifikant waren, war die Abweichung zwischen Kontrollen und beidseits Betroffenen nicht signifikant ($\chi^2=0,44$, $p=0,505$).

3.1.2 Altersverteilung

Beim Alter der Probandinnen und Probanden fiel auf, dass die Kontrollgruppe mit 47,4 Jahren etwa 12 Jahre unter dem Durchschnittsalter der Gesamtpatientenstichprobe (59,8 Jahre bei mindestens klinisch wahrscheinlichem und 59,4 Jahre bei klinisch sicherem Morbus Menière) beziehungsweise über 15 Jahre unter dem der beidseits Erkrankten (62,6 Jahre) lag. Die Altersabweichung zwischen Kontrollen und den verschiedenen Patientenkonstellationen war jeweils signifikant ($p<0,01$).

3.1.3 Raucherstatus

Die Erhebung des Raucherstatus erfolgte durch ein anamnestisches Interview, wobei ehemalige und aktuelle Raucher in einer Gruppe zusammengefasst wurden. Während unter den mindestens klinisch wahrscheinlich an Morbus Menière Erkrankten Raucher mit 30,2% (darunter 63,5% Männer) und unter den mindestens klinisch sicher an Morbus Menière Erkrankten Raucher mit 31,0% (darunter 66,1% Männer) seltener als Nichtraucher vertreten waren, wurden bei den beidseits Betroffenen mit 65,5% mehr Raucher erfasst (darunter 36,8% Männer), wobei der Raucherstatus nicht für alle Personen erhoben werden konnte. Insbesondere in der kleinen Gruppe der beidseits Betroffenen fehlten die Angaben von ca. 43% der eingeschlossenen Probanden. Unter der Kontrollgruppe gab es mit 49,9% Raucher und 50,1% Nichtraucher ein relativ ausgeglichenes Rauchverhalten. Zu 6,7% der Kontrollen gab es keine Information.

Ergebnisse

Die Unterschiede beim Raucherstatus zwischen Kontrollen und den jeweiligen Patientengruppen wurden mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher überprüft. Die Abweichungen bei Kontrollen und mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière sowie mindestens klinisch sicherem Morbus Menière waren dabei signifikant ($p < 0,01$), während der Unterschied zwischen Kontrollen und beidseits Erkrankten nicht signifikant war.

In der Kontrollgruppe und unter den Patienten, wiederum mit Ausnahme der beidseits Erkrankten, lag der Anteil männlicher Teilnehmer in der Rauchergruppe deutlich über dem der weiblichen Probanden, während bei den Nichtrauchern in der Kontrollgruppe der Frauenanteil überwog. Auch diese Verteilungen wurden mittels des Chi-Quadrattests nach Pearson geprüft. Die Geschlechtsverhältnisse zwischen Rauchern und Nichtrauchern waren innerhalb der Patientenstichprobe der mindestens klinisch wahrscheinlich und mindestens klinisch sicher Erkrankten relativ ausgeglichen, in allen anderen Konstellationen wichen sie signifikant voneinander ab ($p < 0,01$) (Tabelle 10).

Tabelle 10: Übersicht der Geschlechtsverhältnisse der Stichproben Raucher vs. Nichtraucher

Phänotyp	Raucher (n, %)		Nichtraucher (n, %)		chi ²	p-Wert
	Männer	Frauen	Männer	Frauen		
MMkw+KON	666 (52,0%)	616 (48,0%)	596 (43,0%)	790 (57,0%)	21,40	4,0 x 10 ⁻⁶
MMks+KON	660 (52,0%)	610 (48,0%)	580 (42,9%)	773 (57,1%)	21,77	3,0 x 10 ⁻⁶
MMkw	47 (63,5%)	27 (36,5%)	89 (52,0%)	82 (48,0%)	2,75	9,7 x 10 ⁻²
MMks	41 (66,1%)	21 (33,9%)	73 (52,9%)	65 (47,1%)	3,06	8,0 x 10 ⁻²
KON	619 (51,2%)	589 (48,8%)	507 (41,7%)	708 (53,3%)	22,04	3,0 x 10 ⁻⁶

MM: Morbus Menière; kw: mindestens klinisch wahrscheinlich, ks: mindestens klinisch sicher, KON: Kontrollen; n: Anzahl; Gruppenvergleich: Anteil Männer und Frauen zwischen Rauchern und Nichtrauchern (df=1)

3.2 Bestimmung der Index-SNVs

Um eine mögliche Assoziation des Reparaturenzyms PARP-1 einerseits mit Morbus Menière und andererseits diagnoseunabhängig mit dem Raucherstatus zu untersuchen, wurden initial 272 SNVs des *PARP1*-Gens analysiert. Die SNVs befanden sich nach NCBI Assembly GRCHR 37.p13 auf Chromosom 1 zwischen Basenpaar 226530047 und Basenpaar 226614917.

Die Fall-Kontroll-Assoziationen zwischen Morbus Menière und Kontrollen sowie zwischen Rauchern und Nicht-Rauchern wurden, unter Verwendung der Kovariablen Alter und Geschlecht, mit einer logistischen Regression im additiven Modell ausgewertet und dienten als Grundlage für die Bestimmung der Index-SNVs.

3.2.1 Assoziation der 272 *PARP1*-SNVs mit Morbus Menière

Für die Überprüfung einer Assoziation der 272 SNVs mit Morbus Menière wurden Patienten mit einer mindestens klinisch wahrscheinlichen Diagnose gesunden Kontrollprobanden gegenübergestellt. Dabei wurde für 5 der 272 SNVs eine nominal signifikante Assoziation festgestellt (Tabelle 11, Abbildung 4).

Tabelle 11: Nominal signifikante mit mind. Klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière assoziierte SNVs

SNV	A1	OR_{A1}	SF	P-Wert
rs3219066	C	0,405	±0,188	0,032
rs116488521	T	0,427	±0,211	0,043
rs72563107	T	0,429	±0,213	0,044
chr1_226552362_D	D	0,432	±0,217	0,046
rs3219139	C	0,463	±0,235	0,049

MM: Morbus Menière; A1: minores Allel; OR_{A1}: Odds Ratio; SF: Standardfehler

Ergebnisse

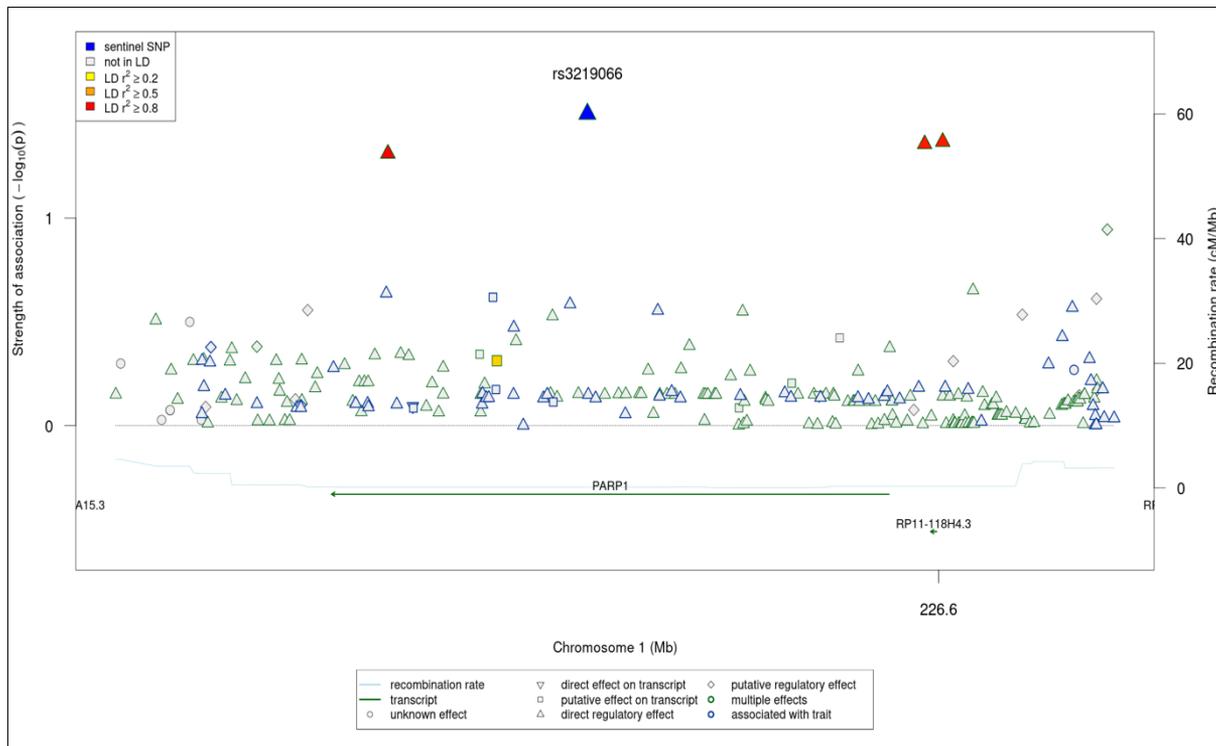


Abbildung 4: Assoziationsanalyse von 272 SNVs im *PARP1*-Genlocus mit Morbus Menière (kw)

Die X-Achse zeigt die einzelnen SNVs in aufsteigender Reihenfolge von Basenpaar 226530047 bis Basenpaar 226614917. Die Y-Achse gibt die Signifikanz der jeweiligen SNVs über den p-Wert wieder. Der SNV mit dem niedrigsten p-Werte ist annotiert (erstellt mit *regional association plot* der Plattform SniPA (Arnold et al., 2015)).

3.2.2 Assoziation der 272 *PARP1*-SNVs mit dem Raucherstatus

Eine Fall-Kontroll-Assoziation des *PARP1*-Gens wurde mit dem Raucherstatus diagnoseunabhängig analysiert. Dazu wurden 1282 Raucher (ehemalige und aktuelle) einer Gruppe von 1386 Nichtrauchern gegenübergestellt und die Genotypverteilung der 272 SNVs zwischen den Gruppen verglichen. Dabei wurde für 4 der 272 SNVs eine nominal signifikante Assoziation festgestellt (Abbildung 5, Tabelle 12).

Ergebnisse

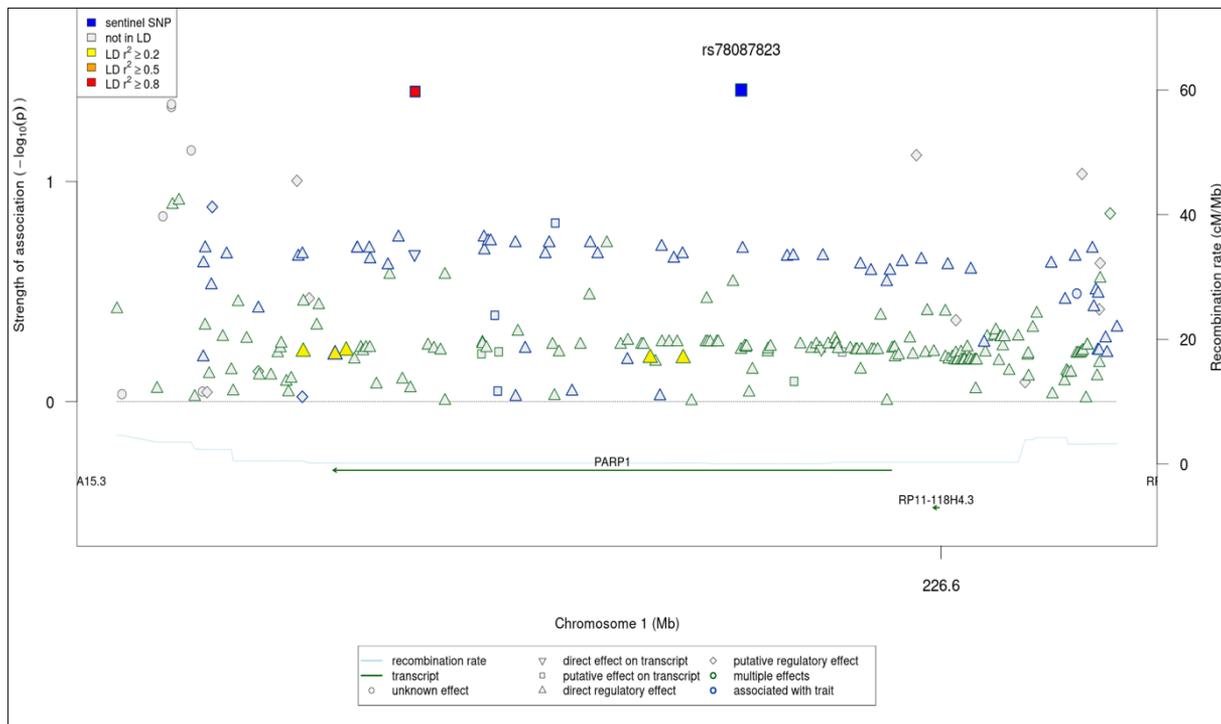


Abbildung 5: Assoziationsanalyse von 272 SNVs im *PARP1*-Genlocus mit dem Raucherstatus

Die X-Achse zeigt die einzelnen SNVs in aufsteigender Reihenfolge von Basenpaar 226530047 bis Basenpaar 226614917. Die Y-Achse gibt die Signifikanz der jeweiligen SNVs über den p-Wert wieder. Der SNV mit dem niedrigsten p-Werte ist jeweils annotiert (erstellt mit *regional association plot* der Plattform SniPA (Arnold et al., 2015)).

Tabelle 12: Nominal signifikant mit dem Raucherstatus assoziiert SNVs

SNV	A1	OR _{A1}	SF	P-Wert
rs78087823	T	0,771	±0,372	0,038
rs3219123	A	0,771	±0,374	0,039
rs7547958	T	1,202	±0,598	0,045
rs7547956	G	1,201	±0,601	0,046

A1: minores Allel; OR_{A1}: Odds Ratio; SF: Standardfehler

3.2.3 Berechnung der Index-SNVs

Um redundante Ergebnisse zu vermeiden, wurden unter Verwendung des *clump* Befehls in Plink (Version 1.9) und unter Einbeziehung der Ergebnisse der logistischen Regressionen sowohl des Vergleichs zwischen Morbus Menière und Kontrollen wie auch des Vergleichs des Raucherstatus Index-SNVs für LD-unabhängige Regionen bestimmt. Dabei konnten 6

Ergebnisse

Regionen mit einem $r^2 < 0,1$ identifiziert werden, deren Index-SNVs in den weiteren Analysen verwendet wurden (Tabelle 13). Wie zu erwarten, lagen alle 5 in Zusammenhang mit Morbus Menière als nominal signifikant identifizierten SNVs in einer Region, die durch rs3219066 als Index (*clump* 1) vertreten wurden. Von den 272 Varianten des *PARP1*-Gens befanden sich 19 in einem LD mit diesem Polymorphismus. Die signifikanten Ergebnisse aus der Raucheranalyse verteilten sich auf 2 Regionen mit je 2 SNVs (*clumps* 2 und 3). Die Region mit den meisten SNVs ($n=59$) wurde durch den Index rs7547958 (*clump* 3) abgedeckt (Tabelle 13).

Tabelle 13: Index-SNVs der 6 LD unabhängigen Regionen

Index-SNV	Clump	Position	A1	SNV (n)
rs3219066	1	226570137	C	19
rs78087823	2	226583026	T	11
rs7547958	3	226534670	T	59
rs16845712	4	226536337	A	2
rs114290154	5	226597890	A	7
rs139860134	6	226545318	A	5

Clump: LD-unabhängige Region, Position: nach GRCh37.p13, A1: minores Allel, SNV (n): Anzahl in der LD-Region enthaltener SNVs mit $r^2 > 0,1$.

3.3 Assoziationsanalysen der 6 Index-SNVs des *PARP1*-Gens

3.3.1 Assoziation mit Morbus Menière

Die Genotypverteilung der 6 Index-SNVs sowohl der erweiterten Stichprobe, in der Probanden mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière enthalten waren, als auch der diagnostisch genauer definierten Stichprobe mit ausschließlich klinisch sicherem Morbus Menière sowie der beidseits von Morbus Menière betroffenen Gruppe wurde jeweils mit gesunden Kontrollen verglichen. Alter und Geschlecht wurden dabei als Kovariablen in die logistische Regression im additiven Modell einbezogen.

3.3.1.1 Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts

Eine Überprüfung der 6 Index-SNVs auf die Einhaltung des HWEs mittels des exakten Tests nach Fisher ergab in keiner der Patientengruppen oder der Kontrollgruppe eine signifikante Abweichung bei $p < 0,01$ (Tabelle 14).

Tabelle 14: Genotypverteilung der 6 *PARP1*-SNVs in Morbus Menière und Kontrollen

SNV (A1/A2)	Gruppe	MAF	A1A1 n (%)	A1A2 n (%)	A2A2 n (%)	P _{HWE}
rs3219066 (C/T)	MM _{kw}	0,012	0 (0)	6 (2,4)	240 (97,6)	1,00
	MM _{ks}	0,013	0 (0)	5 (2,5)	195 (97,5)	1,00
	MM _{bds}	0,000	0 (0)	0 (0,0)	28 (100,0)	1,00
	KON	0,029	4 (0,2)	142 (5,6)	2402 (94,3)	0,28
rs78087823 (T/C)	MM _{kw}	0,054	0 (0)	25 (10,9)	205 (89,1)	1,00
	MM _{ks}	0,045	0 (0)	17 (9,0)	172 (91,0)	1,00
	MM _{bds}	0,019	0 (0)	1 (3,7)	26 (96,3)	1,00
	KON	0,055	11 (0,4)	249 (10,2)	2191 (89,4)	0,17
rs7547958 (T/C)	MM _{kw}	0,153	5 (2,8)	44 (24,9)	128 (72,3)	0,56
	MM _{ks}	0,155	5 (3,4)	35 (24,1)	105 (72,4)	0,34
	MM _{bds}	0,194	1 (5,6)	5 (27,8)	12 (66,7)	0,51
	KON	0,152	40 (2,2)	482 (26,1)	1322 (71,7)	0,65
rs16845712 (A/G)	MM _{kw}	0,011	0 (0)	5 (2,1)	231 (97,9)	1,00
	MM _{ks}	0,010	0 (0)	4 (2,1)	196 (97,9)	1,00
	MM _{bds}	0,038	0 (0)	2 (7,7)	24 (92,3)	1,00
	KON	0,015	0 (0)	75 (3,1)	2381 (96,9)	1,00
rs114290154 (A/G)	MM _{kw}	0,010	0 (0)	5 (2,0)	240 (98,0)	1,00
	MM _{ks}	0,010	0 (0)	4 (2,0)	196 (98,0)	1,00
	MM _{bds}	0,000	0 (0)	0 (0)	29 (100,0)	1,00
	KON	0,010	2 (0,1)	47(1,9)	2450 (98,0)	0,03
rs139860134 (A/G)	MM _{kw}	0,016	0 (0)	8 (3,2)	239 (96,8)	1,00
	MM _{ks}	0,012	0 (0)	5 (2,5)	196 (97,5)	1,00
	MM _{bds}	0,000	0 (0)	0 (0)	28 (100,0)	1,00
	KON	0,016	2 (0,1)	77 (3,0)	2471 (96,9)	0,13

A1: minores Allel, A2: majores Allel, n: Anzahl, MM: Morbus Menière, kw: mindestens klinisch wahrscheinlich, ks: mindestens klinisch sicher, bds: beidseits, KON: Kontrollen, P_{HWE}: p-Wert des HWE

In der Untergruppe der 51 beidseitig von Morbus Menière betroffenen Patienten waren die SNVs rs3219066, rs114290154 und rs139860134 nicht polymorph, während bei den

Ergebnisse

restlichen Konstellationen die minimale Allelfrequenz zwischen etwa 1 % für rs16845712 und rs114290154 und etwa 19 % für rs7547958 und damit teilweise in einem sehr niedrigen Bereich lag (Tabelle 14).

3.3.1.2 Assoziationsanalyse

Der Vergleich der Genotypverteilungen der 6 Index-Varianten des *PARP1*-Gens zwischen den verschiedenen Morbus Menière Gruppen und den Kontrollen ergab in der erweiterten Morbus Menière-Stichprobe mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière für eine Variante (rs3219066) einen nominal signifikanten Zusammenhang ($p=0,032$). Derselbe SNV verfehlte in der Stichprobe mit ausschließlich klinisch sicherem Morbus Menière die nominale Signifikanz knapp ($p=0,055$). Träger des selteneren C-Allels zeigten eine geringere Wahrscheinlichkeit, an Morbus Menière erkrankt zu sein als Träger des majoren T-Allels (Tabelle 15).

Tabelle 15: Assoziation der 6 Index SNVs des *PARP1*-Gens mit Morbus Menière

SNV	A1	Morbus Menière mindestens klinisch wahrscheinlich			Morbus Menière mindestens klinisch sicher		
		OR _{A1}	SF	P	OR _{A1}	SF	P
rs3219066	C	0,405	±0,188	0,032	0,415	±0,217	0,055
rs78087823	T	0,952	±4,213	0,821	0,787	±0,848	0,353
rs7547958	T	1,032	±5,176	0,842	1,055	±3,418	0,758
rs16845712	A	0,622	±0,620	0,317	0,607	±0,639	0,342
rs114290154	A	1,099	±5,441	0,840	1,045	±12,112	0,931
rs139860134	A	1,130	±3,502	0,747	0,856	±2,571	0,739

A1: minores Allel; OR: Odds Ratio; SF: Standardfehler, P: P-Wert, fett gedruckt: $p<0,05$

Beim Vergleich der Genotypverteilung der 6 Index-Varianten in der auf beidseitigem Morbus Menière reduzierten Patientengruppe konnte kein signifikanter Zusammenhang erhoben werden (Tabelle 16).

Ergebnisse

Tabelle 16: Assoziation der 6 Index SNVs des *PARP1*-Gens mit beidseitigem Morbus Menière

SNV	A1	A2	OR _{A1}	SF	P-Wert
rs3219066	C	T	0,649	±1,076	0,546
rs78087823	T	C	0,748	±1,319	0,571
rs7547958	T	C	1,361	±1,398	0,330
rs16845712	A	G	1,935	±1,820	0,288
rs114290154	A	G	2,127	±1,986	0,284
rs139860134	A	G	1,255	±3,996	0,754

A1: minores Allel; A2: majores Allel; OR: Odds Ratio; SF: Standardfehler, P: P-Wert, fett gedruckt: $p < 0,05$

3.3.2 Assoziation mit dem Rauchersstatus

Die Assoziation der 6 Index-SNVs des *PARP1*-Gens zum Rauchverhalten wurde im ersten Schritt unabhängig von der Morbus Menière-Diagnose untersucht. Dazu wurde eine Fall (i. e. Raucher) – Kontroll (i. e. Nichtraucher) – Assoziation in den Gesamtgruppen aller Probanden (Morbus Menière und Kontrollen) durchgeführt (Tabelle 17, S. 47 und Tabelle 18, S. 48). In einem zweiten Schritt wurden mit $p < 0,05$ nominal mit dem Raucherstatus assoziierte Variationen innerhalb der Morbus Menière-Kohorten miteinander verglichen (Tabelle 19, S. 48). Ebenfalls wurde eine logistische Regression im additiven Modell unter Einbeziehung der Kovariablen Alter und Geschlecht berechnet.

Die Assoziationsanalyse ergab in der kombinierten Raucherkohorte aus Morbus Menière-Patienten und Kontrollen für 2 SNVs einen nominal signifikanten Zusammenhang zum Rauchverhalten, wobei bei rs7547958 das minore T-Allel häufiger bei Rauchern zu finden war (OR=1,202; $p=0,044$), während bei rs78087823 das minore T-Allel eher bei Nichtrauchern beobachtet werden konnte (OR=0,771; $p=0,038$) (Tabelle 18).

Ergebnisse

Tabelle 17: Genotypverteilung der 6 *PARP1*-Index-SNVs in Raucher und Nichtraucher

SNV (A1/A2)	Gruppe	Raucher			Nichtraucher		
		A1A1 n (%)	A1A2 n (%)	A2A2 n (%)	A1A1 n (%)	A1A2 n (%)	A2A2 n (%)
rs3219066 (C/T)	MMkw + KON	3 (0,2)	57 (4,6)	1185 (95,2)	0 (0)	80 (6)	1249 (94)
	MMkw	0 (0)	1 (1,4)	71 (98,6)	0 (0)	5 (2,9)	165 (97,1)
	MMks	0 (0)	1 (1,7)	58 (98,3)	0 (0)	4 (2,9)	134 (97,1)
rs78087823 (T/C)	MMkw + KON	2 (0,2)	109 (9,1)	1086 (90,7)	8 (0,6)	135 (10,6)	1131 (88,8)
	MMkw	0 (0)	8 (11,9)	59 (88,1)	0 (0)	17 (10,7)	142 (89,3)
	MMks	0 (0)	6 (10,9)	49 (89,1)	0 (0)	11 (8,4)	120 (91,6)
rs7547958 (T/C)	MMkw + KON	21 (2,3)	256 (28,4)	623 (69,2)	20 (2,1)	231 (24,1)	709 (73,9)
	MMkw	3 (6)	12 (24)	35 (70,0)	2 (1,6)	31 (25)	91 (73,4)
	MMks	3 (7,3)	11 (26,8)	27 (65,9)	2 (2)	23 (22,5)	77 (75,5)
rs16845712 (A/G)	MMkw + KON	0 (0)	43 (3,6)	1159 (96,4)	0 (0)	29 (2,3)	1256 (97,7)
	MMkw	0 (0)	0 (0)	66 (100)	0 (0)	5 (3)	161 (97)
	MMks	0 (0)	0 (0)	55 (100)	0 (0)	4 (2,9)	133 (97,1)
rs114290154 (A/G)	MMkw + KON	1 (0,1)	30 (2,5)	1184 (97,4)	1 (0,1)	19 (1,4)	1295 (98,5)
	MMkw	0 (0)	3 (4,2)	69 (95,8)	0 (0)	2 (1,2)	167 (98,8)
	MMks	0 (0)	2 (3,4)	57 (96,6)	0 (0)	2 (1,4)	136 (98,6)
rs139860134 (A/G)	MMkw + KON	0 (0)	31 (2,5)	1216 (97,5)	1 (0,1)	47 (3,5)	1281 (96,4)
	MMkw	0 (0)	2 (2,8)	70 (97,2)	0 (0)	6 (3,5)	165 (96,5)
	MMks	0 (0)	1 (1,7)	58 (98,3)	0 (0)	4 (2,9)	135 (97,1)

A1: minores Allel, A2: majores Allel, n: Anzahl, MM: Morbus Menière, kw: mindestens klinisch wahrscheinlich, ks: mindestens klinisch sicher, KON=Kontrollen

Ergebnisse

Tabelle 18: Assoziation der 6 Index SNVs des *PARP1*-Gens mit dem Raucherstatus

SNV	A1	A2	Raucher vs. Nichtraucher		
			OR _{A1}	SF	P
rs3219066	C	T	0,847	±0,867	0,329
rs78087823	T	C	0,771	±0,372	0,038
rs7547958	T	C	1,202	±0,598	0,044
rs16845712	A	G	1,546	±0,859	0,072
rs114290154	A	G	1,632	±0,919	0,076
rs139860134	A	G	0,687	±0,416	0,099

A1=minores Allel; A2=majores Allel; OR=Odds Ratio; SF=Standardfehler, P=P-Wert, fett gedruckt: p<0,05

Beim Vergleich der 2 SNVs, die einen Zusammenhang mit dem Raucherstatus in der Gesamtkohorte aus Morbus Menière Patienten und Kontrollen zeigten, ließ sich weder innerhalb der Gruppe klinisch wahrscheinlich an Morbus Menière erkrankter Personen noch bei einer klinisch sicheren Diagnose ein nominal signifikanter Zusammenhang eruieren (Tabelle 19).

Tabelle 19: Zusammenhang der 2 mit dem Raucherstatus assoziierten SNVs innerhalb der Morbus Menière-Kohorten

SNV	A1	MMkw			MMks		
		Raucher vs. Nichtraucher			Raucher vs. Nichtraucher		
		OR _{A1}	SF	P	OR _{A1}	SF	P
rs78087823	T	0,960	±11,351	0,933	1,427	±2,260	0,528
rs7547958	T	1,280	±1,645	0,436	1,521	±1,216	0,211

A1: minores Allel; MM: Morbus Menière, kw: mindestens klinisch wahrscheinlich, ks: mindestens klinisch sicher, OR: Odds Ratio; SF: Standardfehler, P: P-Wert, fett gedruckt: p<0,05

3.3.3 Analyse der 6 Index-SNVs mit Morbus Menière unter Berücksichtigung der Kovariable Raucherstatus

Da der Raucherstatus *per se* mit signifikanten Assoziationen mit dem *PARP1*-Gen bei 2 der 6 Index-SNVs vergesellschaftet war, aber nicht zu einer Diskriminierung innerhalb der Morbus Menière-Stichprobe führte, wurde er in einer weiteren Analyse als möglicher Einflussfaktor in die Berechnung zur Überprüfung der Assoziation mit Morbus Menière einbezogen.

Ein Vergleich der Genotypverteilung der 6 *PARP1*-Index-SNVs zwischen der Kontrollstichprobe und den Stichproben mit mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière beziehungsweise klinisch sicherem Morbus Menière ergab unter zusätzlicher Berücksichtigung des Raucherstatus als Kovariable (Tabelle 20) ein nahezu identisches Ergebnis wie beim Fehlen der Information Rauchen ja/nein (Tabelle 15, S. 45). Der SNV rs3219066 zeigte bei Einbeziehung der Kovariable Rauchen mit $p=0,033$ ($OR=0,404$) einen ähnlichen p -Wert wie in der Analyse ohne die Adjustierung für diesen Faktor ($p=0,032$; $OR=0,405$). In beiden Analysen zeigten Träger des minoren C-Allels eine geringere Wahrscheinlichkeit, an Morbus Menière erkrankt zu sein als Träger des majoren T-Allels.

Tabelle 20: Assoziation der 6 Index SNVs mit Morbus Menière mit Raucherstatus als Kovariable

SNV	A1	Morbus Menière mindestens klinisch wahrscheinlich			Morbus Menière mindestens klinisch sicher		
		OR _{A1}	SF	P	OR _{A1}	SF	P
rs3219066	C	0,404	±0,190	0,033	0,414	±0,218	0,057
rs78087823	T	0,954	±4,455	0,831	0,794	±0,893	0,374
rs7547958	T	1,072	±2,508	0,669	1,095	±2,120	0,605
rs16845712	A	0,690	±0,896	0,441	0,685	±0,963	0,477
rs3219066	A	1,202	±3,074	0,696	1,143	±4,432	0,797
rs78087823	A	1,052	±8,043	0,896	0,792	±1,602	0,621

A1: minores Allel; OR: Odds Ratio; SF: Standardfehler, P: P-Wert, fett gedruckt: $p<0,05$

4 Diskussion

Im Rahmen dieser Studie wurde eine Assoziation zwischen Varianten des *PARP1*-Genlokus und einer Morbus Menière-Erkrankung unter Berücksichtigung des Rauchens als Risikofaktor untersucht. Hierzu wurden 272 SNVs des *PARP1*-Gens auf Chromosom 1 zwischen Basenpaar 226530047 und Basenpaar 226614917 (NCBI *Assembly* GRCh 37.p13) analysiert. Die wesentlichen Ergebnisse sind wie folgt: In einem ersten Schritt wurde in einer Fall-Kontroll-Assoziation die Häufigkeit der Genotypen von Patienten mit einer mindestens klinisch wahrscheinlichen Morbus Menière-Diagnose und gesunden Kontrollprobanden analysiert. Die Ergebnisse wurden mit einem Vergleich der Genotypen von Rauchern (Patienten mit einer mindestens klinisch wahrscheinlichen Diagnose und Kontrollprobanden) und Nichtrauchern (Patienten mit einer mindestens klinisch wahrscheinlichen Diagnose und Kontrollprobanden) zusammen überprüft, um daraus mit Hilfe des *clump* Befehls in Plink (Version 1.9) voneinander unabhängige Index-SNVs zu bestimmen. Hierbei konnten 6 LD-unabhängige Varianten identifiziert werden.

Alle nominal signifikanten SNVs aus der Assoziationsanalyse zu Morbus Menière wurden durch den Index-SNV rs3219066 repräsentiert, der insgesamt 19 der 272 SNVs abdeckte. Die nominalen Signifikanzen der Analyse des Raucherstatus wurden durch 2 verschiedene Index-SNVs (rs7547958, rs78087823) vertreten. Der Index rs7547958 deckte dabei mit 59 der 272 SNVs die meisten Polymorphismen ab, während der Index rs78087823 in einem LD mit 11 anderen SNVs war.

Bei der nachfolgenden Betrachtung der Index-SNVs zeigte rs3219066 eine nominale Signifikanz für den Vergleich zwischen der Gruppe der mindestens klinisch wahrscheinlich Morbus Menière-Erkrankten und Kontrollen mit einem p-Wert von 0,032 (OR=0,405). Derselbe Index-SNV verfehlte in der diagnostisch stringenteren Gruppe der klinisch sicher Erkrankten die nominale Signifikanzgrenze mit einem p-Wert von 0,055 knapp. Bei der Untergruppe mit beidseitigem Morbus Menière konnte keine signifikante Assoziation festgestellt werden.

Für den SNV wurde ein selteneres Auftreten des minoren C-Allels in der Patientengruppe (Morbus Menière: 1,2% vs. Kontrollen: 2,9%) beobachtet. Die Ergebnisse der Arbeit könnten darauf hinweisen, dass das minore C-Allel eine protektive Funktion hat, beziehungsweise das majore T-Allel zum Krankheitsrisiko des Morbus Menière beiträgt. Da der SNV in einem Intron des *PARP1*-Genlokus liegt, hat er keinen direkt erkennbaren Einfluss auf die Regulation des PARP-1-Proteins. Es ist jedoch möglich, dass dadurch eine regulatorische Sequenz betroffen ist oder aber andere SNVs, die in einem LD mit dem Index-SNV liegen, eine Veränderung in der Aminosäuresequenz verursachen. Auch konnte aufgezeigt werden, dass Introns die

Genexpression und die Bindung von Transkriptionsfaktoren beeinflussen können (Choi et al., 2008; Cabrera et al., 2014).

Um eine Assoziation des *PAPR1*-Gens zum Raucherstatus zu überprüfen, wurden die 6 Index-SNVs diagnoseunabhängig zwischen Rauchern und Nichtrauchern in der Gesamtgruppe ausgewertet. Hierbei konnte bei den Index-SNVs rs7547958 (OR=1,202; p=0,044) und rs78087823 (OR=0,771; p=0,038) ein nominal signifikanter Zusammenhang festgestellt werden, wobei das minore T-Allel für rs7547958 mit 16,6% häufiger bei Rauchern (Nichtraucher: 14,1%) und für rs78087823 häufiger bei Nichtrauchern vorlag (Raucher: 4,7%, Nichtraucher: 5,9%). Der Index-SNV rs7547958 liegt etwa 14kb vor dem *PAPR1*-Gen und damit potentiell in einer Promotorregion, während der SNV rs78087823 intronisch liegt. Auch für diese Polymorphismen ist eine funktionelle Relevanz nicht direkt erkennbar und bedarf weiterer detaillierter Analysen. Bei beiden Varianten (rs7547958, rs78087823) konnte jedoch weder innerhalb der Gruppe klinisch wahrscheinlich an Morbus Menière erkrankter Personen noch bei einer klinisch sicheren Diagnose ein nominal signifikanter Zusammenhang eruiert werden.

Da ein Einfluss des Raucherstatus innerhalb der Stichprobe nicht ausgeschlossen werden konnte (zwei SNVs waren diagnoseunabhängig damit assoziiert, wenn auch nicht die mit Morbus Menière assoziierte Variante), wurde die Assoziation zu Morbus Menière unter Einbeziehung der Kovariable Raucherstatus durchgeführt. Es zeigte sich hier jedoch ein ähnliches Ergebnis wie bei der Assoziationsanalyse ohne die Kovariable Rauchen. So konnte hier beim Polymorphismus rs3219066 ein nahezu identischer p-Wert (p=0,033; OR=0,404) wie bei der logistischen Regression ohne Einbeziehung der Kovariable Rauchen (p=0,032; OR=0,405) festgestellt werden.

Das Rauchverhalten scheint demzufolge als Faktor für die Assoziation mit *PAPR1* keine Bedeutung zu haben. Da der identifizierte Zusammenhang zwischen einer Variante im *PAPR1*-Gen und Morbus Menière eine Bonferroni-Korrektur für das Multiple Testen nicht überlebt, ist entweder von einer eher untergeordneten Bedeutung des Gens für die Suszeptibilität der Erkrankung auszugehen, oder aber von einer noch zu prüfenden Relevanz in einer Subklassifikation, wie zum Beispiel von Morbus Menière mit autoimmuner Beteiligung.

Ethnizität

Bei genetischen Assoziationsstudien ist eine homogene Abstammung sowohl von Kontroll- als auch Patientengruppen von großer Bedeutung, da bei unterschiedlichen Ethnien die Genotypfrequenzen der einzelnen Polymorphismen voneinander abweichen können (*1000 Genomes Project Consortium, 2015*). In der vorliegenden Studie hatten alle Probanden eine

kaukasische Abstammung. Auch wurde, um Populationsstratifikation zu erkennen und zu vermeiden, eine Hauptkomponentenanalyse berechnet, um Ausreißer von der Analyse auszuschließen. Um die vorliegenden Ergebnisse mit den Analysen in Stichproben anderer Ethnien vergleichen zu können, ist eine sorgfältige Prüfung der Allel- und Genotypfrequenzen der betreffenden Stichproben notwendig. In der nachfolgenden Tabelle (Tabelle 21) werden daher die unterschiedlichen Genotypfrequenzen des Index-SNV rs3219066 bei verschiedenen Ethnien dargestellt. Die Daten stammen aus dem *1000 Genomes Project*.

Tabelle 21: Frequenz der Allele des Index-SNVs rs3219066 in verschiedenen Ethnien

	Population	Anzahl Allele	Frequenz T-Allel	Frequenz C-Allel
1000 Genomes Project	Global	5008	T=0,967	C=0,033
	Afrika	1322	T=0,997	C=0,003
	Ostasien	1008	T=0,972	C=0,028
	Südasien	978	T=0,889	C=0,111
	Amerika	694	T=0,994	C=0,006
	Europa	1006	T=0,981	C=0,019
Vorliegende Arbeit	Kontrollen	5096	T=0,971	C=0,029
	Menière	492	T=0,988	C=0,012
	Gesamt	5588	T=0,972	C=0,028

(1000 Genomes Project Consortium, 2015 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3219066>), gesehen am 10.12.2023)

Die Frequenzen der Allele zeigten beim *1000 Genomes Project* eine große Bandbreite. Während das minore C-Allel in der südasiatischen Population mit 11,1% relativ häufig und in der afrikanischen (0,3%) und amerikanischen Bevölkerung (0,6%) sehr selten vorkam, hat es in der ostasiatischen und europäischen Population mit einer Frequenz zwischen 1,9% bis 2,8% eine relativ ähnliche Häufigkeit. In der vorliegenden Studie weicht die Gesamtfrequenz der C-Allele mit 2,8% leicht von der europäischen Allel-Frequenz des *1000 Genomes Project* mit 1,9% ab (Tabelle 21).

Da der SNV rs3219066 eine große Bandbreite der Allelfrequenzen aufweist, ist ein Vergleich von verschiedenen Ethnien nur bedingt möglich. In der vorliegenden Studie hatten die Kontrollprobanden und die Patientenstichproben den gleichen ethnischen Hintergrund.

Alter, Geschlecht, Raucherstatus

Bei den Studienteilnehmern fielen Unterschiede im Alter, Geschlecht und Raucherstatus zwischen den Erkrankten und den Kontrollen auf.

Beim Alter zeigte sich ein deutlich niedrigerer Durchschnitt bei der Kontrollstichprobe (47,4 Jahre) im Vergleich zu den Morbus Menière-Gruppen (kw: 59,8 Jahre; ks: 59,5; bds: 62,6 Jahre). Der Unterschied von annähernd 12 Jahren zwischen Kontrollen und mindestens klinisch wahrscheinlichem oder mindestens klinisch sicherem Morbus Menière beziehungsweise von 15 Jahren bei beidseitigem Morbus Menière war jeweils signifikant.

Der Morbus Menière ist eine Erkrankung des gehobenen Alters. So zeigten Daten aus den USA eine starke Altersabhängigkeit der Prävalenz. Die Prävalenz stieg von 9 pro 100 000 Einwohner (Patienten < 18 Jahren) auf 440 pro 100 000 Einwohner (Patienten > 65 Jahren) (Harris und Alexander, 2010). Da die Kontrollgruppe mit 47,4 Jahren im Durchschnitt etwa 12 Jahre jünger war als die Morbus Menière-Stichproben (ks,kw) und ungefähr 15 Jahre jünger als die Gruppe der beidseits Erkrankten, könnten in der gesunden Kontrollgruppe in der Zukunft noch Menschen an Morbus Menière erkranken.

Der Morbus Menière ist allerdings eine seltene Erkrankung mit einer Prävalenz zwischen 513 Morbus Menière-Erkrankten pro 100 000 Einwohnern in der finnischen Bevölkerung (Havia et al., 2005) und 34,5 Betroffenen pro 100 000 Einwohnern in der japanischen Bevölkerung (Shojaku et al., 2005). Der Anteil an Kontrollprobanden, die potenziell an Morbus Menière im Laufe des Lebens erkranken könnten, wäre demnach gering. Zusätzlich wurden in der logistischen Regression die Ergebnisse für die Kovariable Alter korrigiert. Die Verwendung einer älteren Kontrollstichprobe wäre jedoch in weiteren Studien wünschenswert.

Die Prävalenz des Morbus Menière zeigte in der Literatur Unterschiede im Geschlechtsverhältnis (Frau : Mann 1,89:1) (Harris und Alexander, 2010). In der vorliegenden Studie wichen die Geschlechtsverhältnisse der Morbus Menière-Gruppen deutlich von der in der Literatur beschriebenen ab. So sind sowohl bei mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière (Männer mit 54,6%) als auch bei klinischen sicherem Morbus Menière (Männer mit 56,2%) Männer mit etwa 9% beziehungsweise 12% in der Überzahl. Auch sind bei der Untergruppe der mindestens klinisch wahrscheinlich beidseits Morbus Menière-Erkrankten mehr Männer vertreten (Männer mit 51,0%). Es ist schwierig zu eruieren, wie es zu diesen Abweichungen kommt. Es ist nicht auszuschließen, dass zum Beispiel Männer häufiger die Schwindelambulanz aufgesucht oder bereitwilliger als Frauen an der Studie teilgenommen hatten.

Auch zwischen den jeweiligen Patientengruppen und den Kontrollen fielen in dieser Studie Unterschiede im Geschlechtsverhältnis auf. Während bei den Kontrollprobanden Frauen in der Überzahl waren (Männer mit 46,3%), waren in den Patientengruppen mehr Männer als Frauen vertreten. Dabei waren die Unterschiede zwischen mindestens klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière ($\chi^2=6,34$, $p=0,012$) sowie klinisch sicherem Morbus

Menière ($\chi^2=7,37$, $p=0,007$) und Kontrollen signifikant, während die Abweichung zwischen Kontrollen und beidseits Betroffenen nicht signifikant ($\chi^2=0,44$, $p=0,505$) war. Da zusätzlich bei *PARP1* in Studien an Mäusen geschlechtsspezifische Unterschiede in den Signalwegen nachgewiesen werden konnten (Liu et al., 2011) und genetische Assoziationsstudien geschlechtsabhängige Unterschiede eines Polymorphismus bei Morbus Menière-Patienten aufzeigten (Yazdani et al., 2015), könnten die unterschiedlichen Geschlechtsverhältnisse der Morbus Menière-Patienten und Kontrollen bei einer Analyse des *PARP1*-Gens die Aussagekraft senken. Allerdings wurden die Ergebnisse dieser Arbeit auch auf die Kovariable Geschlecht korrigiert, um diesen Effekt zu minimieren. Eventuell wären jedoch geschlechtsgetrennte Analysen sinnvoll.

Ebenso konnten beim Raucherstatus Abweichungen sowohl zwischen den Kontrollprobanden und den Patientengruppen als auch zwischen dem Anteil der Raucher in Deutschland und den jeweiligen Gruppen festgestellt werden.

So rauchten in Deutschland laut Mikrozensus 2021 (Statistisches Bundesamt, <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Gesundheitszustand-Relevantes-Verhalten/Tabellen/liste-rauchverhalten.html>, gesehen am 01.06.2023) insgesamt 18,9% der Bürger über 15 Jahren gelegentlich oder regelmäßig. 20,5% waren frühere Raucher und 60,5 % hatten niemals geraucht. Insgesamt sind demnach 39,4% der Bevölkerung ehemalige und aktuelle Raucher. Der Anteil der Raucher ist in dieser Arbeit bei den mindestens klinisch wahrscheinlich (30,2%) und mindestens klinisch sicher (31,0%) Erkrankten unter dem Durchschnitt in Deutschland, während der Anteil der Raucher bei den Kontrollprobanden mit 49,9% darüber liegt. Auch hier ist nicht erkennbar, wie es zu diesen Abweichungen kommt. Da Rauchen zu Schwindel und Übelkeit führen kann (King et al., 2019), wäre zum Beispiel eine mögliche Erklärung, dass Patienten mit Schwindelerkrankungen seltener rauchen, um ihre Symptomatik nicht zu verstärken.

Die Unterschiede zwischen den Kontrollprobanden und den Morbus Menière-Gruppen (klinisch sicher und klinisch wahrscheinlich erkrankt) waren in dieser Arbeit jeweils signifikant ($p<0,01$). Nachdem zusätzlich ein Effekt der *PARP1*-SNVs auf das Rauchverhalten nicht ausgeschlossen werden konnte, wurde in einer abschließenden Analyse der Raucherstatus als Kovariable in den Vergleich zwischen Morbus Menière-Patienten und Kontrollen miteinbezogen. Hier zeigte sich ein ähnliches Bild wie beim Vergleich ohne Einberechnung der Kovariable Rauchen. Das Rauchverhalten scheint also keine Bedeutung bei einer Assoziation von *PARP1* und Morbus Menière zu haben. Dennoch wären geringere Unterschiede beim Raucherstatus wünschenswert, um die Aussagekraft der Studie zu erhöhen.

Diagnostik

Allgemein erfolgt die Morbus Menière-Diagnose klinisch. In dieser Studie wurde die Diagnose der Morbus Menière-Erkrankung nach den AAO-HNS-Kriterien (*American Academy of Otolaryngology and Neck Surgery*) von 1995 gestellt. Eine klinisch sichere Diagnose wird bei zwei oder mehr spontanen Schwindelattacken über 20 Minuten oder länger, einem mindestens einmalig aufgetretenen audiometrisch dokumentierten Hörverlust, einem Tinnitus oder Drückgefühl im betroffenen Innenohr und dem gleichzeitigen Ausschluss anderer Ursachen gestellt. Für eine klinisch wahrscheinliche Diagnose ist eine einzige Schwindelepisode, die 20 Minuten oder länger andauert, ausreichend. Ansonsten bleiben die Kriterien gleich (*Committee on Hearing and Equilibrium*, 1995).

Zwar stehen zusätzlich apparative Funktionsprüfungen zur Verfügung, die bei der Diagnostik helfen können (Magnan et al., 2018), die Diagnosefindung ist dabei jedoch komplex und vor allem bei klinisch wahrscheinlichem Morbus Menière gibt es eine gewisse Unsicherheit der Diagnose (Nevoux et al., 2017).

Da es andere Schwindelerkrankungen gibt, wie zum Beispiel Neuritis Vestibularis, vestibuläre Migräne oder somatoformer Schwindel, und Patienten gleichzeitig einen Hörverlust als Komorbidität haben könnten, hängt die Diagnose sehr von der subjektiven Beschreibung des Patienten und der Erfahrung der Diagnostiker ab. Auch haben Morbus Menière-Patienten eine hohe Migräneprävalenz (Pyykkö et al., 2019). Pyykkö et al. (2019) vermuteten sogar, dass eine pathophysiologische Verbindung zwischen einer vestibulären Migräne und Morbus Menière bestehen könnte. Diese Verbindung zwischen Morbus Menière und Migräne zeigt exemplarisch die Schwierigkeit der Diagnostik anhand der Abwägung zwischen einer vestibulären Migräne und Morbus Menière auf.

Die Diagnostik der Morbus Menière-Erkrankung in dieser Studie fand in der Neurologischen Klinik und im Deutschen Schwindel- und Gleichgewichtszentrum der LMU München statt. Diese sind auf Schwindelerkrankungen spezialisiert und die Ärzte haben eine große Expertise in der Diagnostik. Trotzdem bleibt aufgrund der Überschneidungen der einzelnen Schwindelerkrankungen und subjektiven Aussagen der Patienten die Diagnosefindung komplex und Fehldiagnosen könnten die Aussagekraft der Studie mindern.

Der endolymphatische Hydrops als pathologisches Korrelat des Morbus Menière kann in der kontrastverstärkten Magnetresonanztomographie dargestellt werden (Bernaerts et al., 2019). Da eine MRT-Untersuchung nur eine optionale zusätzliche Diagnosemöglichkeit ist (Magnan et al., 2018), lagen Daten aus entsprechenden Untersuchungen nur für einen Teil der Patienten vor. Zu Studienzwecken könnte die Spezifität der Diagnostik erhöht werden, indem eine MRT-Untersuchung zur Bestätigung der Diagnose angewendet würde.

Auch gab es in dieser Studie nur eine kleine Gruppe von 51 mindestens klinisch wahrscheinlich beidseitig Morbus Menière-Betroffenen. Da für die Kategorie beidseits betroffener Patienten bereits Hinweise auf einen Zusammenhang des Morbus Menière mit einem Mikrosatelliten im Bereich des *PARP1*-Promotors gefunden wurden, wäre eine größere Anzahl wünschenswert (Lopez-Escamez et al., 2009). Wahrscheinlich würde eine größere Gruppe an klinisch sicher beidseitig erkrankten Morbus Menière-Patienten die Aussagekraft der Studie erhöhen.

In dieser Studie wurden sowohl Probanden mit klinisch wahrscheinlichem als auch klinisch sicherem Morbus Menière aufgenommen. Um das Risiko einer Fehldiagnose zu senken, wäre eine Beschränkung auf klinisch sicher diagnostizierte Patienten sicher sinnvoll, ginge aber zu Lasten der für eine komplexe genetische Suszeptibilität ohnehin recht geringen Stichprobengröße.

Stichprobengröße

In der vorliegenden Studie wurde das *PARP1*-Gen von 249 Patienten mit mindestens wahrscheinlichem Morbus Menière, darunter 203 mit mindestens sicherem Morbus Menière, untersucht. Hier könnte eine größere Stichprobe die Teststärke der Studie erhöhen. Beispielsweise wurden in der genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) zu Schwindelerkrankungen von Skuladottir et al. (2021) das Genom von 3516 Patienten mit Morbus Menière im Vergleich zu 894541 Kontrollen analysiert.

Allerdings ist die vorliegende Studie eine hypothesengeleitete Kandidatengenstudie. Dabei können auch kleinere Stichprobengrößen als bei einer GWAS verwendet werden, um aussagekräftige Ergebnisse zu beschreiben. So wurden bei vielen Kandidatengenstudien Stichprobengrößen mit weniger als 200 Morbus Menière-Patienten analysiert. Ungeachtet dessen würde eine größere Stichprobe die Aussagekraft der Studie erhöhen.

Ätiologie des Morbus Menière

Zwar kann bei Morbus Menière-Patienten ein endolymphatischer Hydrops dargestellt werden (Chen et al., 2021), die Ätiologie hinter dem endolymphatischen Hydrops ist jedoch weiter ungeklärt. Auch der die Morbus Menière-Symptomatik verursachende Mechanismus wird weiter diskutiert, da nicht alle Personen mit einem endolymphatischen Hydrops Morbus Menière-Symptome zeigen (Lubbe et al., 2020). Es wird von einer Genese ausgegangen, die von mehreren Faktoren beeinflusst wird (Perez-Carpena und Lopez-Escamez, 2020).

Beispielsweise gibt es Studien, die Morbus Menière mit Autoimmunerkrankungen wie einer autoimmunen Arthritis oder Allergien in Verbindung bringen (Derebery, 2000; Caulley et al.,

2018). Ebenso wird eine virale Beteiligung wie beispielsweise eine Cytomegalovirus-Infektion (Dean et al., 2019) oder eine genetische Ursache des Morbus Menière diskutiert (Chiaralla et al., 2015).

Da PARP-1 in vielen verschiedenen Zellwegen und für die genomische Stabilität von Bedeutung ist, hat es bei vielen Krankheiten verschiedene Einflüsse. So spielt PARP-1 sowohl in der antiviralen Antwort als auch bei Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise Multipler Sklerose eine Rolle (Kim et al., 2018; Meira et al., 2019). Auch wird eine Assoziation des *PARP1*-Gens mit einer Hashimoto-Thyreoiditis diskutiert (Koc et al., 2015).

Diese beschriebenen möglichen primären Ursachen zeigen die Problematik von Fall-Kontroll-Assoziationsstudien von *PARP1* oder anderen Genen bei Erkrankungen auf, die überwiegend klinisch diagnostiziert werden und für deren Pathophysiologie verschiedene Hypothesen existieren. So ist davon auszugehen, dass sich innerhalb einer derart charakterisierten Stichprobe verschiedene Untergruppen mit jeweils unterschiedlicher Primärursache befinden. Konkret könnte dies beispielsweise dazu geführt haben, dass Varianten im *PARP1*-Gen, die einen Zusammenhang mit bestimmten Autoimmunprozessen aufweisen, deswegen nicht als relevant erkannt werden, weil die untersuchte Gruppe der Patienten stark heterogene Primärursachen für die Erkrankung aufweist, die diesen Effekt überdeckt („verwässert“).

Ein Ansatz, sich dieser Problematik zu nähern, wäre eine Zuordnung der Probanden zu komorbiditätsspezifischen Subgruppen und deren separater Analyse im Vergleich zu Kontrollen und der Gruppen untereinander. Allerdings führt das in der Regel zu unzureichend großen Stichproben.

Poly(ADP-ribose-)-Polymerase -1 und Morbus Menière

Der Morbus Menière wurde wie bereits beschrieben in einer Studie von Lopez-Escamez et al. (2009) mit einem Mikrosatelliten im Bereich des Promotor des Poly(ADP-ribose-)-Polymerase-1 Genlocus in Verbindung gebracht.

Dabei wurde der Polymorphismus des *PARP1*-Promotors von 80 Patienten mit, nach Kriterien der AAO-HNS von 1995 diagnostiziertem, beidseitig sicherem Morbus Menière mit dem von 371 gesunden Blutspendern in einer Fall-Kontroll-Assoziationsanalyse verglichen. Der im Bereich des Promotors lokalisierte Mikrosatellit mit (CA)-Wiederholungen bestimmte dabei den Haplotyp des Promotors. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass die Länge des CA-Mikrosatelliten die Transkriptionsrate von *PARP1* verändern könnte. In der Studie wurde der mit 17-20 Wiederholungen längste Polymorphismus des CA-Mikrosatelliten signifikant seltener bei Morbus Menière-Patienten gefunden (Tabelle 22).

Diskussion

Tabelle 22: Assoziation des *PARP1* Promotormikrosatelliten bei beidseitigem Morbus Menière

(CA)n	Kontrollen	MMbds	X2	OR (95% CI)	Unkorrigierter p-Wert	Korrigierter p-Wert
10-12	528 (71,2%)	124 (77,5%)	2,64	0,72 (0,48-1,07)	0,127	NS
13	21 (2,8%)	2 (1,3%)	1,32	2,30 (0,53-9,91)	0,382	NS
14	4 (0,5%)	2 (1,3%)	1,01	0,43 (0,08-2,36)	0,289	NS
15	1 (0,1%)	1 (0,6%)	1,43	0,21 (0,01-3,45)	0,323	NS
16	125 (16,8%)	29 (18,1%)	0,15	0,91 (0,59-1,43)	0,784	NS
17-20	63 (8,5%)	2 (1,3%)	10,32	7,33 (1,77-30,27)	0,002	0,012

MMbds: Beidseitiger Morbus Menière; OR: Odds Ratio; CI: Konfidenzintervall; NS: nicht signifikant; nach (Lopez-Escamez et al., 2009)

Diese Ergebnisse konnten in der vorliegenden Studie nicht bestätigt werden, da hier keine Mikrosatelliten untersucht wurden. Die durch die 6 Index-SNVs vertretenen Regionen des *PARP1*-Gens umfassten zwar auch die Position des (CA)-Mikrosatelliten, es zeigte sich jedoch kein Zusammenhang zum Auftreten eines beidseitigen Morbus Menière.

Mögliche Gründe für diese Diskrepanz könnten einerseits die Unabhängigkeit zwischen den untersuchten Markern sein, andererseits auch in der unterschiedlichen Stichprobengröße (80 vs. 51) und der Diagnosesicherheit (klinisch sicher in der veröffentlichten Studie, mindestens klinisch wahrscheinlich in der vorliegenden Studie) liegen.

Da Morbus Menière eine multifaktorielle Erkrankung ist, könnte es sein, dass bei beidseitig Betroffenen eine andere Ätiologie im Vordergrund steht als bei den einseitig Erkrankten. Auch wird durch beidseitig betroffene Innenohre eine Fehldiagnose unwahrscheinlicher.

Die Autoren diskutieren, dass die Spiralganglienneurone bei einem endolymphatischen Hydrops oxidativem Stress ausgesetzt sind (Anne et al., 2007) und dass *PARP1* hierbei über seine Funktion in der Reparatur, beim Zelltod und bei der Transkription (beispielsweise über NF-κB) einen Einfluss auf das Überleben der Spiralganglienneurone haben könnte. Weiter führten sie die Möglichkeit aus, dass an unterschiedlich langen Promotoren verschiedene Transkriptionsfaktoren binden könnten und die kürzeren Promotoren eine geringere *PARP1* Transkriptionsrate zur Folge haben würden. Die Autoren stellten die These auf, dass durch geringere *PARP1* Transkriptionsraten die DNA-Reparatur reduziert werden könnte und dadurch der Untergang von Spiralganglienneuronen verstärkt würde (Lopez-Escamez et al., 2009).

Die Bedeutung des oxidativen Stresses bei Morbus Menière und die Reaktion des Körpers auf diesen wurde auch von anderen Wissenschaftlern analysiert. So untersuchten Teranishi et al. (2012) bei Patienten mit sensorineuralen Hörverlust und Morbus Menière die Polymorphismen einiger Gene, die ähnlich wie *PARP1* mit der Reaktion auf oxidativen Stress in Verbindung gebracht wurden. Dazu analysierten sie SNVs in den Genen Paraoxonase 1 (*PON1*) (rs662; rs854560), *PON2* (rs7493) Glutathione peroxidase 1 (*GPX1*) (rs1050450) und Superoxide dismutase 2 (*SOD2*) (rs4880) bei 82 japanischen Patienten mit Morbus Menière und 84 japanischen Patienten mit sensorineuralen Hörverlust. Im Vergleich zu 2107 ebenfalls aus Japan stammenden Kontrollprobanden konnte hierbei kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen gefunden werden. Allerdings konnte in dieser Studie bei Morbus Menière-Patienten mit einem Hörniveau über 50 Dezibel häufiger das C-Allel von SNV rs4880 (*SOD2*) gefunden werden als bei Patienten mit einem Hörniveau unter 50 Dezibel. Eine Schwäche dieser Studie war vor allem das kleine Patientenkollektiv. So wurde auch von den Autoren vorgeschlagen, die Resultate in einer größeren Patientengruppe zu replizieren (Teranishi et al., 2012). Diese Studie weist auf die Relevanz hin, die jeweiligen Morbus Menière-Patienten auch anhand der im Vordergrund stehenden Symptomatik auszuwählen. So wurde auch der Zelltod der Spiralganglienneurone mit einem Hörverlust in Verbindung gebracht (Kim et al., 2020). Da *PARP1* auf mehreren Wegen einen Einfluss auf die Degeneration der Spiralganglienneurone bei oxidativem Stress haben könnte (Lopez-Escamez et al., 2009), wäre eine Unterteilung und Untersuchung der Patienten in Gruppen anhand ihres Hörverlustes auch bei einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie des *PARP1*-Gens von Interesse.

Aber nicht nur die Funktion von PARP-1 als Reparaturenzym, sondern auch die Funktion in der Transkription im Zusammenhang mit NF- κ B könnte bei Morbus Menière von Bedeutung sein. PARP-1 wird für die NF- κ B-abhängige Genexpression benötigt und ist dabei ein bedeutender Transkriptions-Coaktivator für NF- κ B (Hassa und Hottiger., 1999). In Studien konnte gezeigt werden, dass PARP-1-Inhibitoren die NF- κ B vermittelte Gentranskription von proinflammatorischen Zytokinen blockieren (Vuong et al., 2015).

Der Einfluss von PARP-1 auf NF- κ B ist von Interesse, da Symptome einer Morbus Menière-Erkrankung in neueren Studien mit 2 Intron-Varianten im *NFKB1*-Gen in Verbindung gebracht wurden. So konnten Cabrera et al. (2014) einen schnelleren Verlauf eines sensorineuralen Hörverlusts bei einseitig von Morbus Menière Betroffenen mit den SNVs rs3774937 und rs4648011 im *NFKB1*-Gen assoziieren. Hierzu wurden die *NFKB1* Varianten rs3774937 und rs4648011, die bereits mit anderen autoimmunvermittelten Krankheiten verbunden worden waren, bei 731 sicher an Morbus Menière Erkrankten (darunter 168 beidseits und 548 unilateral Betroffene) und bei 1628 gesunden Probanden unter Mitberechnung des Hörverlust

mit Hilfe einer Kaplan-Meier-Analyse in einer Fall-Kontroll-Assoziation ausgewertet. Auch diese Studie zeigte, dass es von Bedeutung ist, die jeweiligen Morbus Menière-Patienten anhand der im Vordergrund stehenden Symptomatik auszuwählen. Durch seine Verbindung mit NF- κ B könnte *PARP1* ebenso einen Einfluss auf die Entstehung des Hörverlusts bei Morbus Menière haben. Zusätzlich diskutierten Cabrera et al. (2014), dass die Anzahl der beidseits Erkrankten in ihrer Studie nicht groß genug war, um signifikante Ergebnisse festzustellen.

Auch in der vorliegenden Arbeit war mit 51 beidseits Betroffenen nur ein kleines Patientenkollektiv vorhanden. Um eine größere Teststärke zu erreichen, wären demnach mehr Morbus Menière-Patienten notwendig.

NF- κ B wurde auch in einer Fall-Kontroll-Studie (420 beidseitig, 1031 unilateral Morbus Menière-Erkrankte und 895 Kontrollen) von Frejo et al. (2017a) mit beidseitigem Morbus Menière in Verbindung gebracht. Der SNV rs4947296, der in einem *trans-expression quantitative trait locus* liegt und mit einer Hochregulation von NF- κ B verbunden wird, zeigte hierbei einen signifikanten Zusammenhang bei bilateralem Morbus Menière.

Diese Studie war bei einer Betrachtung von *PARP1* nicht nur aufgrund des Zusammenhangs mit NF- κ B von Interesse, sondern auch weil der signifikante Zusammenhang nur mit der Gruppe der beidseits von Morbus Menière Betroffenen hergestellt werden konnte, obwohl die Teststärke bei der unilateralen Fall-Assoziation durch die höhere Patientenzahl größer war.

Dies spricht ebenso wie die Studie von Lopez-Escamez et al. (2009) dafür, dass bei den beidseits Erkrankten eine andere Ätiologie im Vordergrund steht, die eine größere Assoziation zu *PARP1* oder NF- κ B haben könnte. Allerdings weisen die Ergebnisse der hier vorliegenden Studie zumindest im Hinblick auf *PARP1* nicht darauf hin. Weitere Analysen in größeren Stichproben sind zur Klärung der Relevanz notwendig.

Personalisierung und Einteilung der Morbus Menière-Patienten in Subtypen

Die heterologe und multifaktorielle Ätiologie des Morbus Menière stellt Wissenschaftler sowohl bei der Erforschung einer genetischen Beteiligung an den Ursachen als auch bei der Suche nach Medikamenten vor Herausforderungen. Deshalb wurden von Morbus Menière Betroffene (Frejo et al., 2016, 2017b) durch Clusteranalysen in 5 verschiedene Subtypen anhand ihrer Klinik eingeteilt. Die klinischen Variablen enthielten hierbei Geschlecht, Krankheitsbeginn und -dauer, Familiengeschichte des Morbus Menière, Hörverlust, Kopfschmerztyp, Anamnese von Autoimmunerkrankungen, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Tumarkinsche Krisen sowie die Funktionsskala der AAO-HNS.

Die Einteilungen in die 5 Subtypen erfolgte getrennt für bilateralen und unilateralen Morbus Menière. In beiden Gruppen waren die Unterscheidung in familiäre und sporadische Fälle, die Komorbiditäten Autoimmunerkrankung und Migräne sowie die Entwicklung des Hörverlustes von Bedeutung. Der sporadische Morbus Menière wurde anhand des zeitlichen Auftretens des Hörverlustes in die Typen 1 und 2 unterteilt. Typ 3 waren Patienten mit familiären Morbus Menière-Erkrankungen. Die Typen 4 und 5 wurden jeweils durch die Komorbiditäten Migräne oder Autoimmunerkrankung definiert. (Frejo et al., 2016; Frejo et al., 2017b). In der nachfolgenden Tabelle (Tabelle 23) werden die Subtypen bei unilateraler und bilateraler Erkrankung aufgeführt. Diese Einteilung könnte dabei helfen, die Ätiologie der multifaktoriellen Morbus Menière-Erkrankung besser zu verstehen.

Tabelle 23: Subtypen bei Morbus Menière

Unilateraler Morbus Menière		Bilateraler Morbus Menière	
Typ 1 (53%)	Sporadischer Morbus Menière ohne Autoimmunerkrankung oder Migräne	Typ 1 (46%)	Sporadischer Morbus Menière mit metachronem Hörverlust ohne Autoimmunerkrankung oder Migräne
Typ 2 (8%)	Verzögerter Morbus Menière (Hörverlust der dem Schwindel Monate bis Jahre vorausgeht) ohne Autoimmunerkrankung oder Migräne	Typ 2 (17%)	Sporadischer Morbus Menière mit synchronem Hörverlust ohne Autoimmunerkrankung oder Migräne
Typ 3 (13%)	Familiärer Morbus Menière	Typ 3 (13%)	Familiärer Morbus Menière
Typ 4 (15%)	Sporadischer Morbus Menière mit Migräne	Typ 4 (12%)	Sporadischer Morbus Menière mit Migräne
Typ 5 (11%)	Sporadischer Morbus Menière mit Autoimmunerkrankung	Typ 5 (11%)	Morbus Menière mit Autoimmunerkrankung

Metachroner Hörverlust: Über einen Monat zwischen dem Auftreten eines unilateralen Hörverlustes bis zum bilateralen Hörverlust, synchroner Hörverlust: Simultaner Hörverlust; nach (Frejo et al., 2016, 2017b)

Diese Subgruppen könnten auch bei einer Fall-Kontroll-Assoziationsstudie von *PARP1* neue Erkenntnisse zu einer Morbus Menière-Erkrankung liefern, da PAPR-1 durch seinen Einfluss in vielen verschiedenen Zellwegen jede Subgruppe auf eine andere Weise beeinflussen

könnte. Hier wären insbesondere die 11% des Subtyps 5, in der eine autoimmune Erkrankung vorhanden sein muss, von Interesse, da PARP-1 häufig mit Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht wird. Auch Subtyp 2, bei dem der Hörverlust dem restlichen Symptomkomplex vorrausgeht, könnte vor dem Hintergrund, dass ein schnellerer Hörverlust bereits mit NF- κ B in Verbindung gebracht wurde, von Bedeutung sein.

Lopez Escamez et al. (2018) schlugen aufgrund der Heterogenität des Morbus Menière auch eine individualisierte Therapie und Diagnostik vor. So konnte beispielsweise in einer Studie bei 21% der Morbus Menière-Patienten erhöhte Werte von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1 β , IL-1RA, und TNF- α nachgewiesen werden (Frejo et al., 2018). Zusätzlich wird der SNV rs4947296 durch seine Regulation von NF- κ B mit Entzündungen verbunden (Frejo et al., 2017a; Lopez-Escamez et al., 2018). Daraus folgerten die Autoren, dass eine Betrachtung und Behandlung des Morbus Menière eine individualisierte Untersuchung von proinflammatorischen Zytokinen als NF- κ B vermittelte Inflammation und dem SNV rs4947296 erwägen sollte.

Da es möglich ist, dass es verschiedene primäre Ätiologien für Morbus Menière gibt, könnte eine individuelle Betrachtung auch für *PARP1* eine Rolle spielen, da PARP-1 auch unabhängig von NF- κ B eine Funktion bei inflammatorischen Prozessen hat. So untersuchten beispielsweise Du et al. (2023) *in vitro* die Bedeutung von PARP-1 bei proinflammatorischen Zytokinen. Die Autoren setzten hierzu *in vitro* Chrodrozyten (mit und ohne PARP-1 Inhibitor) dem Zytokin Interleukin-1 β (IL-1 β) aus. PARP-1 hatte hierbei zu Beginn (am 1. Tag) eine protektive und später (Tag 3-5) eine destruktive Funktion (Du et al., 2023).

Von Interesse wäre demnach eine gesonderte Analyse des *PARP1*-Gens bei den von Frejo et al. (2018) nachgewiesenen 21% der Patienten mit erhöhten proinflammatorischen Zytokinen (beispielsweise IL-1 β) oder bei Probanden mit dem Risiko-Genotyp CC im SNV rs4947296 (Frejo et al., 2017a; Lopez-Escamez et al., 2018). Hier könnte PARP-1 durch die Verbindung mit inflammatorischen Prozessen oder mit dem Transkriptionsfaktor NF- κ B auch einen Einfluss auf die Morbus Menière-Erkrankung haben.

Ausblick

Seit der ersten Beschreibung des Morbus Menière im Jahr 1861 ist die primäre Ätiologie noch nicht vollständig aufgeklärt. Es wird mittlerweile von multifaktoriellen Ursachen ausgegangen, die sowohl auf einem Beitrag durch eine noch unbestimmte Anzahl genetischer Variationen wie auch auf Umweltfaktoren beruhen. Durch diese ungeklärte Ätiologie kann den Patienten keine ursächliche Behandlung angeboten werden, obwohl die Lebensqualität der Betroffenen unter den Schwindelattacken leidet.

Dies zeigt die Notwendigkeit weiterer Studien auf. Genetische Fall-Kontroll-Assoziationsstudien könnten Hinweise auf die Ursachen und den Pathomechanismus liefern. Bisher konnten allerdings keine Variationen gefunden werden, die pathognomonisch für Morbus Menière sind. Auch die im Rahmen dieser Studie identifizierte Assoziation zwischen einem Polymorphismus des *PARP1*-Gens und der Morbus Menière-Erkrankung kann nur als weiterer Hinweis auf eine Beteiligung des *PARP1*-Gens bei Morbus Menière gewertet werden. Sowohl die genübergreifenden SNVs als auch der in dieser Studie nominal signifikant assoziierte Polymorphismus (rs3219066) sollten in einer größeren Probandenstichprobe untersucht werden. Da die längeren Allele des Mikrosatelliten im Promotorbereich des *PARP1*-Gens bei beidseitig Betroffenen seltener vorkamen, wäre auch die Untersuchung dieser Variation bei einer größeren Gruppe von bilateral an Morbus Menière erkrankten Personen von Relevanz.

Weiterhin könnte eine genauere Charakterisierung der Morbus Menière-Patienten und eine Einteilung in Untergruppen in Bezug auf die im Vordergrund stehende Symptomatik, wie beispielsweise nach dem Grad des Hörverlustes oder der Schwindelsymptomatik, oder nach Komorbiditäten, wie Autoimmunerkrankungen, und eine separate Analyse dieser Subgruppen weitere Aufschlüsse über möglicherweise differierende Ätiologien ermöglichen. Im Falle des *PARP1*-Gens wäre besonders eine Assoziationsanalyse bei Patienten mit dem Risiko-Genotyp CC im Polymorphismus rs4947296 mit Blick auf die Verbindung von PARP-1 und NF- κ B von Interesse und könnte helfen, neue Erkenntnisse über den Pathomechanismus des Morbus Menière zu gewinnen.

Im Allgemeinen sind weitere große Studien nötig, um den komplexen Pathomechanismus und die Ätiologie des Morbus Menière besser verstehen zu können. Eine Subgruppenbildung der Morbus Menière-Patienten könnte aufgrund der heterogenen Genese sinnvoll sein. Hierbei könnte der Aufbau von großen Biobanken von Nutzen sein, damit auch in den einzelnen Subgruppen ein möglichst großes Patientenkollektiv untersucht werden kann.

Literaturverzeichnis

- 1000 Genomes Referenzpanel (Phase 1 Version 3 macGT1) (28.01.2022) (https://mathgen.stats.ox.ac.uk/impute/data_download_1000G_phase1_integrated.html).
- 1000 Genomes Project Consortium; Auton A., Brooks L.D., Durbin R.M., Garrison E.P., Kang H.M., Korbel J.O., Marchini J.L., McCarthy S., McVean G.A., Abecasis G.R. (2015) A global reference for human genetic variation. *Nature*. 1;526(7571):68-74. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs3219066> (10.12.2023)).
- Angeli S.I., Goncalves S. (2019) Cervical VEMP tuning changes by Meniere's disease stages. *Laryngoscope Investig Otolaryngol.*; 4(5): 543–549.
- Anne S., Kisley L.B., Tajuddin S.T., Leahy P., Alagramam K.N., Megerian C.A. (2007) Molecular changes associated with the endolymphatic hydrops model. *Otol Neurotol*. 28(6):834-41.
- Arnold M., Raffler J., Pfeufer A., Suhre K., Kastenmüller G. (2015) SniPA: an interactive, genetic variant-centered annotation browser. *Bioinformatics*. 15;31(8):1334-6.
- Arweiler-Harbeck D., Saidi F., Lang S., Peters J., Siffert W., Adamzik M. (2012) The -1364A/C Aquaporin 5 Gene Promoter Polymorphism Is Not Associated with Ménière's Disease. *ISRN Otolaryngol*. 2012:706896.
- Attanasio G., Califano L., Bruno A., Giugliano V., Ralli M., Martellucci S., Milella C., de Vincentiis M., Russo F.Y., Greco A. (2020) Chronic cerebrospinal venous insufficiency and menière's disease: Interventional versus medical therapy. *Laryngoscope*. 130(8):2040-2046.
- Auer B., Nagl U., Herzog H., Schneider R., Schweiger M. (1989) Human nuclear NAD⁺ ADP-ribosyltransferase(polymerizing): organization of the gene. *DNA*. 8(8):575-80.
- Bächinger D., Goosmann M. M., Schuknecht B., Nadol J.B. Jr., Adams J.C., Huber A., Eckhard A. H. (2019) Clinical Imaging Findings of Vestibular Aqueduct Trauma in a Patient With Posttraumatic Meniere's Syndrome. *Front Neurol* 10:431.
- Bakhshae M., Moradi S., Mohebi M., Ghayour-Mobarhan M., Sharifan P., Yousefi R., Rezaei A., Rajati M. (2022) Association Between Serum Vitamin D Level and Ménière's Disease. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 166(1):146-150.
- Basura G. J., Adams M.E., Monfared A., Schwartz S.R., Antonelli P.J., Burkard R., Bush M.L., Bykowski J., Colandrea M., Derebery J., Kelly E.A., Kerber K.A., Koopman C.F., Kuch A.A., Marcolini E., McKinnon B.J., Ruckenstein M.J., Valenzuela C.V., Vosooney A., Walsh S.A., Nnacheta L.C., Dhepyasuwan N., Buchanan E.M. (2020) Clinical Practice Guideline: Ménière's Disease. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 162(2_suppl): S1-S55.
- Baumgartner M., Schneider R., Auer B., Herzog H., Schweiger M., Hirsch-Kauffmann M. (1992) Fluorescence in situ mapping of the human nuclear NAD⁺ ADP-ribosyltransferase gene (ADPRT) and two secondary sites to human chromosomal bands 1q42, 13q34, and 14q24. *Cytogenet Cell Genet*. 61(3):172-4.
- Belinchon A., Perez-Garrigues H., Tenias J.M. (2012) Evolution of symptoms in Ménière's disease. *Audiol Neurootol*. 17(2):126-32.
- Bernaerts A., Vanspauwen R., Blaivie C., van Dinther J., Zarowski A., Wuyts F. L., Bossche S. V., Offeciers E., Casselman J.W., Foer De B. (2019) The value of four stage vestibular hydrops grading and asymmetric perilymphatic enhancement in the diagnosis of Ménière's disease on MRI. *Neuroradiology* 61(4): 421–429.

- Bertlich M., Ihler F., Weiss B.G., Freytag S., Strupp M., Jakob M., Canis M. (2017) Role of capillary pericytes and precapillary arterioles in the vascular mechanism of betahistine in a guinea pig inner ear model. *Life Sci.* 187:17-21.
- Bixenstine P.J., Maniglia M.P., VasANJI A., Alagramam K.N., Megerian C.A. (2008) Spiral ganglion degeneration patterns in endolymphatic hydrops. *Laryngoscope.* 118(7):1217-23.
- Bramon E., Pirinen M., Strange A., Lin K., Freeman C., Bellenguez C., Su Z., Band G., Pearson R., Vukcevic D., Langford C., Deloukas P., Hunt S., Gray E., Dronov S., Potter S.C., Tashakkori-Ghanbaria A., Edkins S., Bumpstead S.J., Arranz M.J., Bakker S., Bender S., Bruggeman R., Cahn W., Chandler D., Collier D.A., Crespo-Facorro B., Dazzan P., Haan de L., Forti Di M., Dragović M., Giegling I., Hall J., Iyegbe C., Jablensky A., Kahn RS, Kalaydjieva L, Kravariti E, Lawrie S, Linszen DH, Mata I., McDonald C., McIntosh A., Myin-Germeys I., Ophoff R.A., Pariante C.M., Paunio T., Picchioni M; Psychiatric Genomics Consortium, Ripke S, Rujescu D, Sauer H, Shaikh M, Sussmann J, Suvisaari J., Tosato S., Touloupoulou T., Os van J., Walshe M., Weisbrod M., Whalley H., Wiersma D., Blackwell J.M., Brown M.A., Casas J.P., Corvin A., Duncanson A., Jankowski J.A., Markus H.S., Mathew C.G., Palmer C.N., Plomin R., Rautanen A., Sawcer S.J., Trembath R.C., Wood N.W., Barroso I., Peltonen L., Lewis C.M., Murray R.M., Donnelly P., Powell J., Spencer C.C. (2014) A genome-wide association analysis of a broad psychosis phenotype identifies three loci for further investigation. *Biol Psychiatry.* 75(5):386-97.
- Büki B., Jünger H., Lundberg Y.W. (2018) Vitamin D supplementation may improve symptoms in Meniere's disease. *Med Hypotheses* 116:44-46.
- Cabrera S., Sanchez E., Requena T., Martinez-Bueno M, Benitez J., Perez N., Trinidad G., Soto-Varela A., Santos-Perez S., Martin-Sanz E., Fraile J., Perez P., Alarcon-Riquelme M.E., Batuecas A., Espinosa-Sanchez J.M., Aran I., Lopez-Escamez J.A. (2014) Intronic variants in the NFKB1 gene may influence hearing forecast in patients with unilateral sensorineural hearing loss in Meniere's disease. *PloS One.* 9(11):e112171.
- Campbell C.A., Della Santina C.C., Meyer N.C., Smith N.B., Myrie O.A., Stone E.M., Fukushima K., Califano J., Carey J.P., Hansen M.R., Gantz B.J., Minor L.B., Smith R.J. (2010) Polymorphisms in KCNE1 or KCNE3 are not associated with Ménière disease in the Caucasian population. *Am J Med Genet A.* 152A(1):67-74.
- Caulley L., Quimby A., Karsh J., Ahrari A., Tse D., Kontorinis G. (2018) Autoimmune arthritis in Ménière's disease: A systematic review of the literature. *Semin Arthritis Rheum.* 48(1):141-147.
- Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C., Vattikuti S., Purcell S.M., Lee J.J. (2015) Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience.* 25;4:7.
- Chen W., Wu X., Geng Y., Lin N., Sha Y. (2021) The clinical features and image characteristics of Meniere's disease patients with endolymphatic hydrops confirmed by enhanced magnetic resonance imaging. *Braz J Otorhinolaryngol.* S1808-8694(21)00159-2.
- Choi J-W., Park C.-S., Hwang M., Nam H.-Y., Chang H. S., Park S.G., Han B.-G., Kimm K., Kim H.L., Oh B., Kim Y. (2008) A common intronic variant of CXCR3 is functionally associated with gene expression levels and the polymorphic immune cell responses to stimuli. *J Allergy Clin Immunol.* 122(6):1119-1126.e7.
- Chiarella G., Petrolo C., Cassandro E. (2015) The genetics of Ménière's disease, *Appl Clin Genet* 8: 9–17.
- Committee on Hearing and Equilibrium (1995) Committee on Hearing and Equilibrium Guidelines for the Diagnosis and Evaluation of Therapy in Meniere's Disease. *Otolaryngol Head Neck Surg* 113(3):181-5.

- David K.K., Andrabi S.A., Dawson T.M., Dawson V.L. (2009) Parthanatos, a messenger of death. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 14:1116-28.
- Dean N.J., Conceptualization, Pastras C., Brown D., Aaron Camp A., Pérez-Fernández N. (2019) Are viral-infections associated with Ménière's Disease? A systematic review and meta-analysis of molecular-markers of viral-infection in case-controlled observational studies of MD. *PLoS One* 14(11): e0225650.
- Delaneau O., Marchini J., Zagury J.-F. (2011) A linear complexity phasing method for thousands of genomes. *Nat Methods* 9(2):179–181.
- Derebery M.J. (2000) Allergic management of Meniere's disease: an outcome study. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 122(2):174-82.
- Doi K., Sato T., Kuramasu T., Hibino H., Kitahara T., Horii A., Matsushiro N., Fuse Y., Kubo T. (2005) Ménière's disease is associated with single nucleotide polymorphisms in the human potassium channel genes, KCNE1 and KCNE3. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 67(5):289-93.
- Dopazo J., Amadoz A., Bleda M., Garcia-Alonso L., Alemán A., García-García F., Rodríguez J.A., Daub J.T., Muntané G., Rueda A., Vela-Boza A., López-Domingo F.J., Florido J.P., Arce P., Ruiz-Ferrer M., Méndez-Vidal C., Arnold T.E., Spleiss O., Alvarez-Tejado M., Navarro A., Bhattacharya S.S., Borrego S., Santoyo-López J., Antiñolo G. (2016) 267 Spanish Exomes Reveal Population-Specific Differences in Disease-Related Genetic Variation. *Mol Biol Evol*. 33(5):1205-18.
- Drago A., Giegling I., Schäfer M., Hartmann A.M., Konte B., Friedl M., Serretti A., Rujescu D. (2014) Genome-wide association study supports the role of the immunological system and of the neurodevelopmental processes in response to haloperidol treatment. *Pharmacogenet Genomics* 24(6):314-9.
- Drexler M., Krause E., Gürkov R. (2018) A Comparison of Distortion Product Otoacoustic Emission Properties in Ménière's Disease Patients and Normal-Hearing Participants. *Ear Hear* 39(1):42-47.
- Du X., Zhang S., Huang C., Wang G., Wang N., Hu Y. (2023) The Effect of Endogenous PARP-1 in Different Phases of IL-1 β -Induced Chondrocyte Degeneration. *Altern Ther Health Med*. 14:AT8051.
- Eleazer R., Fondufe-Mittendorf Y.N. (2020) The multifaceted role of PARP1 in RNA biogenesis. *Wiley Interdiscip Rev. RNA*. 12(2): e1617.
- Escalera-Balsera A., Roman-Naranjo P., Lopez-Escamez J.A. (2020) Systematic Review of Sequencing Studies and Gene Expression Profiling in Familial Meniere Disease. *Genes (Basel)* 11(12): 1414.
- First M., Gibbon M., Spitzer R., Williams J., Benjamin L. (1997) Structured clinical interview for DSM-IV Axis II personality disorders, (SCID-II) Washington, D.C.: American Psychiatric Press, Inc.
- First M.B., Spitzer R.L., Gibbon M., Williams J.B.W. (1996) Structured clinical interview for DSM-IV axis I disorders, clinician version (SCID-CV) Washington, D.C.: American Psychiatric Press, Inc.
- Fossati A., Barone D., Benvenuti C. (2001) Binding affinity profile of betahistidine and its metabolites for central histamine receptors of rodents. *Pharmacol Res*. 43(4):389-92.

- Frejo L., Gallego-Martinez A., Requena T., Martin-Sanz E., Amor-Dorado J.C., Soto-Varela A., Santos-Perez S., Espinosa-Sanchez J.M., Batuecas-Caletrio A., Aran I., Fraile J., Rossi-Izquierdo M., Lopez-Escamez J.A. (2018) Proinflammatory cytokines and response to molds in mononuclear cells of patients with Meniere disease. *Sci Rep.* 8: 5974.
- Frejo L., Martin-Sanz E., Teggi R., Trinidad G., Soto-Varela A., Santos-Perez S., Manrique R., Perez N., Aran I., Almeida-Branco M.S., Batuecas-Caletrio A., Fraile J., Espinosa-Sanchez J.M., Perez-Guillen V., Perez-Garrigues H., Oliva-Dominguez M., Aleman O., Benitez J., P. Perez P., J.A. Lopez-Escamez J.A., On behalf of the Meniere's disease Consortium (MeDiC) (2017b) Extended phenotype and clinical subgroups in unilateral Meniere disease: A cross-sectional study with cluster analysis. *Clin Otolaryngol.* 1172-1180.
- Frejo L., Requena T., Okawa S., Gallego-Martinez A., Martinez-Bueno M., Aran I., Batuecas-Caletrio A., Benitez-Rosario J., Espinosa-Sanchez J.M., Fraile-Rodrigo J.J., García-Arumi A.M., González-Aguado R., Marques P., Martin-Sanz E., Perez-Fernandez N., Pérez-Vázquez P., Perez-Garrigues H., Santos-Perez S., Soto-Varela A., Tapia M.C., Trinidad-Ruiz G., del Sol A., Alarcon Riquelme M.E., Lopez-Escamez J.A. (2017a) Regulation of Fn14 Receptor and NF- κ B Underlies Inflammation in Meniere's Disease. *Front Immunol.* 8: 1739.
- Frejo L., Soto-Varela A., Santos-Perez S., Aran I., Batuecas-Caletrio A., Perez-Guillen V., Perez-Garrigues H., Fraile J., Martin-Sanz E., Tapia M.C., Trinidad G., García-Arumi A.M., González-Aguado R., Espinosa-Sanchez J.M., Marques P., Perez P., Benitez J., Lopez-Escamez J.A., Meniere's Disease Consortium (MeDiC) (2016) Clinical Subgroups in Bilateral Meniere Disease. *Front Neurol.* 7: 182.
- Gacek R.R. (2009) Ménière's disease is a viral neuropathy. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec.* 71(2):78-86.
- Galfalvy H., Haghighi F., Hodgkinson C., Goldman D., Oquendo M.A., Burke A., Huang Y.Y., Giegling I., Rujescu D., Bureau A., Turecki G., Mann J.J. (2015) A genome-wide association study of suicidal behavior. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Gene* 168(7):557–563.
- Gallego-Martinez A., Requena T., Roman-Naranjo P., Lopez-Escamez J.A. (2019) Excess of Rare Missense Variants in Hearing Loss Genes in Sporadic Meniere Disease. *Front Genet.* 15:10:76.
- Gallego-Martinez A., Requena T., Roman-Naranjo P., May P., Lopez-Escamez J.A. (2020) Enrichment of damaging missense variants in genes related with axonal guidance signalling in sporadic Meniere's disease. *J Med Genet.* 57(2):82-88.
- Gázquez I., Moreno A., Requena T., Ohmen J., Santos-Perez S., Aran I., Soto-Varela A., Pérez-Garrigues H., López-Nevot A., Batuecas A., Friedman R.A., López-Nevot M.A., López-Escamez J.A. (2013) Functional variants of MIF, INFG and TFNA genes are not associated with disease susceptibility or hearing loss progression in patients with Ménière's disease. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 270(4):1521-9.
- Gibson W.P.R. (2019) Meniere's Disease. *Adv Otorhinolaryngol.* 82:77-86.
- Gioacchini F.M., Albera R., Re M., Scarpa A., Cassandro C., Cassandro E. (2018) Hyperglycemia and diabetes mellitus are related to vestibular organs dysfunction: truth or suggestion? A literature review. *Acta Diabetol.* 55(12):1201-1207.
- Grube K., Bürkle A. (1992) Poly(ADP-ribose) polymerase activity in mononuclear leukocytes of 13 mammalian species correlates with species-specific life span. *Proc. Nat. Acad. Sci. U S A.* 89(24): 11759–11763.
- Gürkov R., Jerin C., Flatz W., Maxwell R. (2018) Clinical manifestations of hydropic ear disease (Menière's). *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 276(1):27-40.

- Hallpike C.S., Cairns C. (1938) Observations on the Pathology of Ménière's Syndrome (Section of Otology). *Proc R Soc Med.* 31(11): 1317–1336.
- Harris J.P., Alexander T.H. (2010) Current-day prevalence of Ménière's syndrome. *15(5):318-22. Audiol Neurotol.* 15(5):318-22.
- Hassa P.O., Hottiger M.O. (1999) A role of poly (ADP-ribose) polymerase in NF-kappaB transcriptional activation. *Biol Chem.* 380(7-8):953-9.
- Übersetzung nach Heatherton T.F., Kozlowski L.T., Frecker R.C. & Fagerström K.O. (1991) The Fagerström Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire. *Br J Addiction* 86: 1119-1127; Einteilung der Auswertung nach Fagerström KO, Heatherton T.F., Kozlowski L.T. (1991) Nicotine Addiction and Its Assessment. *Ear, Nose and Throat Journal*, 69 (11) 763-768.
- Havia M, Kentala E., Pyykkö I. (2002) Hearing loss and tinnitus in Meniere's disease. *Auris Nasus Larynx* 29(2):115-9.
- Havia M., Kentala E., Pyykkö I. (2005) Prevalence of Ménière's disease in general population of Southern Finland. *Otolaryngol Head Neck Surg* 133(5):762-8.
- Hornibrook J. (2017) Tone burst electrocochleography for the diagnosis of clinically certain Meniere's disease. *Front Neurosci* 11:301.
- Hornibrook J., Mudry A., Curthoys I., Smith C. M. (2021) Ductus Reunians and Its Possible Role in Ménière's Disease. *Otol Neurotol.* 42(10):1585-1593.
- House J.W., Doherty J.K., Fisher L.M., Derebery J.M., Karen I Berliner K.I. (2006) Meniere's disease: prevalence of contralateral ear involvement. *Otol Neurotol.* 27(3):355-61.
- Howie B., Marchini J., Stephens M. (2011) Genotype imputation with thousands of genomes. *G3 (Bethesda).* 1(6):457-70.
- Huppert D., Strupp M., Brandt T. (2010) Long-term course of Ménière's disease revisited. *Acta Otolaryngol.* 130(6):644-51.
- Hülse R., Biesdorf A., Hörmann K., Stuck B., Erhart M., Hülse M., Wenzel A. (2019) Peripheral Vestibular Disorders: An Epidemiologic Survey in 70 Million Individuals. *Otol Neurotol.* 40(1):88-95.
- Hussain K., Murdin L., Schilder A.G. (2018) Restriction of salt, caffeine and alcohol intake for the treatment of Ménière's disease or syndrome. *Cochrane Database Syst Rev.* 12(12):CD012173.
- Ishiyama G., Lopez I.A., Acuna D., Ishiyama A. (2019) Investigations of the Microvasculature of the Human Macula Utricula in Meniere's Disease. *Front Cell Neurosci.* 4;13:445.
- Jiang M., Karasawa T., Steyger P.S. (2017) Aminoglycoside-Induced Cochleotoxicity: A Review. *Front Cell Neurosci.* 11: 308.
- Kim Y.Y., Chao J.R., Kim C., Kim B., Thi-Thanh Nguyen P., Jung H., Chang J., Lee J.H., Suh J.G. (2020) Hearing loss through apoptosis of the spiral ganglion neurons in apolipoprotein E knockout mice fed with a western diet. *Biochem Biophys Res Commun.* 523(3):692-698.
- Kim J.H., Kim J., Roh J., Park C.-P., Ju-Young Seoh J.-Y., Eung-Soo Hwang E.-S. (2018) Microbiol Immunol. Reactive oxygen species-induced parthanatos of immunocytes by human cytomegalovirus-associated substance. *Microbiol Immunol.* 62(4):229-242.
- Kim S.Y., Lee C.H., Yoo D.M., Min C, Choi H.G. (2021) Association Between Asthma and Meniere's Disease: A Nested Case-Control Study. *Laryngoscope.* 132(4):864-872.

- Kim S.H., Nam G.-S., Choi J.Y. (2019) Pathophysiologic Findings in the Human Endolymphatic Sac in Endolymphatic Hydrops: Functional and Molecular Evidence. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 128(6_suppl):76S-83S.
- King J.L., Reboussin .BA., Wiseman K.D., Ribisl K.M., Seidenberg A.B., Wagoner K.G., Wolfson M., Sutfin E.L. (2019) Adverse symptoms users attribute to e-cigarettes: Results from a national survey of US adults. *Drug Alcohol Depend.* 196:9-13.
- Kingma C.M., Wit H.P. (2010) The effect of changes in perilymphatic K⁺ on the vestibular evoked potential in the guinea pig. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 267(11): 1679–1684.
- Koc A., Aydin Sayitoglu M. A., Karakurt F., Batar B., Niyazoglu M., Celik O., Onaran I., Tasan E., Sultuybek G. K. (2015) Association of three SNPs in the *PARP-1* gene with Hashimoto's thyroiditis. *Hum Genome Var.* 1: 14016.
- Klockars T., Kentala E. (2007) Inheritance of Meniere's disease in the Finnish population. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 133(1):73-7.
- Kouyama K., Mayanagi K., Nakae S., Nishi Y., Miwa M., Shirai T. (2019) Single-particle analysis of full-length human poly(ADP-ribose) polymerase 1. *Biophys. Physicobiol.* 16: 59–67.
- Kovács K., Erdélyi K., Hegedűs C., Lakatos P., Regdon Z., Bai P, Haskó G., Szabó E., Virág L. (2012) Poly(ADP-ribosylation) is a survival mechanism in cigarette smoke-induced and hydrogen peroxide-mediated cell death *Free Radic Biol Med* 1;53(9):1680-8.
- Krüger A., Bürkle A., Hauser K., Mangerich A. (2020) Real-time monitoring of PARP1-dependent PARylation by ATR-FTIR spectroscopy. *Nat. Commun.* 11(1):2174.
- Künzi L., Holt G.E. (2019) Cigarette smoke activates the parthanatos pathway of cell death in human bronchial epithelial cells. *Cell Death Discov* 5:127.
- Kurosaki T., Ushiro H., Mitsuuchi Y., Suzuki S., Matsuda M., Matsuda Y., Katunuma N., Kangawa K., Matsuo H., Hirose T., Inayama S., Shizuta Y. (1987) Primary structure of human poly(ADP-ribose) synthetase as deduced from cDNA sequence. *J Biol Chem.* 25;262(33):15990-7.
- Langelier M.F., Zandarashvili L., Aguiar P.M., Black B.E., Pascal J.M. (2018) NAD⁺ analog reveals PARP-1 substrate-blocking mechanism and allosteric communication from catalytic center to DNA-binding domains. *Nat Commun.* 9(1):844.
- Lee A., Webster K.E., George B., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Ray J., Van Vugt V.A., Burton M.J. (2023) Surgical interventions for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2(2):CD015249.
- Lek M., Karczewski K.J., Minikel E.V., Samocha K.E., Banks E., Fennell T., O'Donnell-Luria A.H., Ware J.S., Hill A.J., Cummings B.B., Tukiainen T., Birnbaum D.P., Kosmicki J.A., Duncan L.E., Estrada K., Zhao F., Zou J., Pierce-Hoffman E., Berghout J., Cooper D.N., Deflaux N., DePristo M., Do R., Flannick J., Fromer M., Gauthier L., Goldstein J., Gupta N., Howrigan D., Kiezun A., Kurki M.I., Moonshine A.L., Natarajan P., Orozco L., Peloso G.M., Poplin R., Rivas M.A., Ruano-Rubio V., Rose S.A., Ruderfer D.M., Shakir K., Stenson P.D., Stevens C., Thomas B.P., Tiao G., Tusie-Luna M.T., Weisburd B., Won H.H., Yu D., Altshuler D.M., Ardissino D., Boehnke M., Danesh J., Donnelly S., Elosua R., Florez J.C., Gabriel S.B., Getz G., Glatt S.J., Hultman C.M., Kathiresan S., Laakso M., McCarroll S., McCarthy M.I., McGovern D., McPherson R., Neale B.M., Palotie A., Purcell S.M., Saleheen D., Scharf J.M., Sklar P., Sullivan P.F., Tuomilehto J., Tsuang M.T., Watkins H.C., Wilson J.G., Daly M.J., MacArthur D.G.; Exome Aggregation Consortium. (2016) Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 536(7616):285-91.

- Lencz T., Knowles E., Davies G., Guha S., Liewald D.C., Starr J.M., Djurovic S., Melle I., Sundet K., Christoforou A., Reinvang I., Mukherjee S., DeRosse P., Lundervold A., Steen V.M., John M., Espeseth T., Rääkkönen K., Widen E., Palotie A., Eriksson J.G., Giegling I., Konte B., Ikeda M., Roussos P., Giakoumaki S., Burdick K.E., Payton A., Ollier W., Horan M., Donohoe G., Morris D., Corvin A., Gill M., Pendleton N., Iwata N., Darvasi A., Bitsios P., Rujescu D., Lahti J., Hellard S.L., Keller M.C., Andreassen O.A., Deary I.J., Glahn D.C., Malhotra A.K. (2014) Molecular genetic evidence for overlap between general cognitive ability and risk for schizophrenia: a report from the cognitive genomics consortium (COGENT) *Mol Psychiatry* 19(2):168–174.
- Li X., Wu Q., Sha Y., Dai C., Zhang R. (2020) Gadolinium-enhanced MRI reveals dynamic development of endolymphatic hydrops in Ménière's disease. *Braz J Otorhinolaryngol.* 86(2):165-173.
- Liu F., Lang J., Li J., Benashski S.E., Siegel M., Xu Y., McCullough L.D. (2011) Sex differences in the response to poly(ADP-ribose) polymerase-1 deletion and caspase inhibition after stroke. *Stroke.* 42(4):1090-6.
- Lopez-Escamez J.A., Batuecas-Caletrio A., Bisdorff A. (2018) Towards personalized medicine in Ménière's disease. *F1000Res* 7: F1000 Faculty Rev-1295.
- Lopez-Escamez J. A., Carey J., Won-Ho Chung W.-H., Goebel J.A., Magnusson M., Marco Mandalà M., Newman-Toker D.E., Strupp M, Suzuki M, Trabalzini F., Bisdorff A., Classification Committee of the Barany Society; Japan Society for Equilibrium Research; European Academy of Otolology and Neurotology (EAONO); Equilibrium Committee of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery (AAO-HNS); Korean Balance Society (2015) Diagnostic criteria for Menière's disease. *J Vestib Res.* 25(1):1-7.
- Lopez-Escamez J.A., Moreno A., Bernal M., Perez-Garrigues H., Santos-Perez S., Soto-Varela A., Aran I., Fernandez-Sanfrancisco O., Lopez-Nevot A., Lopez-Nevot M.A. (2009) Poly(ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) longer alleles spanning the promoter region may confer protection to bilateral Meniere's disease. *Acta Otolaryngol.* 129(11):1222-5.
- Lubbe van der M. F. J. A., Vaidyanathan A., Van Rompaey V., Postma A. A., Bruintjes T. D., Kimenai D. M., Lambin P., Hoof van M., Berg van de R. (2020) The “hype” of hydrops in classifying vestibular disorders: a narrative review *J Neurol.* 267(Suppl 1): 197–211.
- Magnan J., Özgirgin O.N., Trabalzini F., Lacour M., Lopez Escamez A., Magnusson M., Güneri E.A., Guyot J.P., Nuti D., Mandalà M. (2018) European Position Statement on Diagnosis, and Treatment of Meniere's Disease. *J Int Adv Otol.* 14(2):317-321.
- Martín-Sierra C., Gallego-Martinez A., Requena T., Frejo L., Batuecas-Caletrío A., Lopez-Escamez JA. (2017) Variable expressivity and genetic heterogeneity involving DPT and SEMA3D genes in autosomal dominant familial Meniere's disease. *Eur J Hum Genet.* 25(2):200-207.
- Martín-Sierra C., Requena T., Frejo L., Price SD., Gallego-Martinez A., Batuecas-Caletrio A., Santos-Pérez S., Soto-Varela A., Lysakowski A., Lopez-Escamez JA. (2016) A novel missense variant in PRKCB segregates low-frequency hearing loss in an autosomal dominant family with Meniere's disease. *Hum Mol Genet.* 15;25(16):3407-3415.
- Martinez-Zamudio R., Ha H.C. (2012) Histone ADP-ribosylation facilitates gene transcription by directly remodeling nucleosomes. *Mol Cell Biol.* 32(13):2490-502.
- Mehrjoo Z., Kahrizi K., Mohseni M., Akbari M., Arzhanghi S., Jalalvand K., Najmabadi H., Farhadi M., Mohseni M., Asghari A., Mohebbi S., Daneshi A. (2020) Limbic System Associated Membrane Protein Mutation in an Iranian Family Diagnosed with Ménière's Disease. *Arch Iran Med.* 1;23(5):319-325.

- Menière P. (1861) (in French) Maladie de l'oreille interne offrant les symptômes de la congestion cérébrale apoplectiforme. *Gaz. Med. Paris* 16, 88–89.
- Meira M., Sievers C., Hoffmann F., Bodmer H., Derfuss T., Kuhle J., Haghikia A., Kappos L., Lindberg R.L.P. (2019) PARP-1 deregulation in multiple sclerosis. *Mult Scler J Exp Transl Clin.* 5(4): 2055217319894604.
- Misale P., Hassannia F., Dabiri S., Brandstaetter T., Rutka J. (2021) Post-traumatic peripheral vestibular disorders (excluding positional vertigo) in workers following head injury. *Sci Rep.* 11(1):23436.
- Nakashima T., Pyykkö I., Arroll M. A., Casselbrant M. L., Foster C. A., Manzoor N. F., Megerian C. A., Naganawa S., Young Y. (2016) Meniere's disease. *Nat Rev Dis Primers* 2:16028.
- Need A.C., Ge D., Weale M.E., Maia J., Feng S., Heinzen E.L., Shianna K.V., Yoon W., Kasperaviciute D., Gennarelli M., Strittmatter W.J., Bonvicini C., Rossi G., Jayathilake K., Cola P.A., McEvoy J., Keefe R.S., Fisher E.M., St Jean P.L., Giegling I., Hartmann A.M., Möller H.J., Ruppert A., Fraser G., Crombie C., Middleton L.T., St Clair D., Roses A.D., Muglia P., Francks C., Rujescu D., Meltzer H.Y., Goldstein D.B. (2009) A genome-wide investigation of SNPs and CNVs in schizophrenia. *PLoS Genet* 5(2):e1000373.
- Nevoux J., Barbara M., Dornhoffer J., Gibson W., Kitahara T., Darrouzet V. (2018) International consensus (ICON) on treatment of Ménière's disease. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 135(1S):S29-S32.
- Nevoux J., Franco-Vidal V., Bouccara D., Parietti-Winkler C., Uziel A., Chays A., Dubernard X., Couloigner V., Darrouzet V., Mom T.; Groupe de Travail de la SFORL. (2017) Diagnostic and therapeutic strategy in Ménière's disease. Guidelines of the French Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery Society (SFORL). *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 134(6):441-444.
- Nie Y, Nirujogi TS, Ranjan R, Reader BF, Chung S, Ballinger MN, Englert JA, Christman JW, Karpurapu M. (2021) PolyADP-Ribosylation of NFATc3 and NF-κB Transcription Factors Modulate Macrophage Inflammatory Gene Expression in LPS-Induced Acute Lung Injury. *J Innate Immun.* 13(2):83-93.
- Nishio N., Teranishi M., Uchida Y., Sugiura S., Ando F., Shimokata H., Sone M., Otake H., Kato K., Yoshida T., Tagaya M., Hibi T., Nakashima T. (2013) Polymorphisms in genes encoding aquaporins 4 and 5 and estrogen receptor α in patients with Ménière's disease and sudden sensorineural hearing loss. *Life Sci.* 21;92(10):541-6.
- Nordström C. K., Danckwardt-Lillieström N., Laurell G., Liu W., Rask-Andersen H. (2019) The Human Endolymphatic Sac and Inner Ear Immunity: Macrophage Interaction and Molecular Expression. *Front Immunol.* 1;9:3181.
- Nordström C.K., Li H., Ladak H.M., Agrawal S., Rask-Andersen H. (2020) A Micro-CT and Synchrotron Imaging Study of the Human Endolymphatic Duct with Special Reference to Endolymph Outflow and Meniere's Disease. *Sci Rep.* 10(1):8295.
- Obeidat F.S., Bell S.L. (2019) Comparing the sensitivity and specificity of cervical vestibular-evoked myogenic potentials and electrocochleography in the diagnosis of Ménière's disease. *Int J Audiol.* ;58(11):738-746.
- Oberman B.S., Patel V.A., Cureoglu S., Isildak H. (2017) The aetiopathologies of Ménière's disease: a contemporary review. *ACTA OTORHINOLARYNGOLOGICA ITALICA.* 37:250-263.

- Ohmen J.D., White C.H., Li X., Wang J., Fisher L.M., Zhang H., Derebery M.J., Friedman R.A. (2013) Genetic evidence for an ethnic diversity in the susceptibility to Ménière's disease. *Otol Neurotol.* 34(7):1336-41.
- Oliveira L.N.R., Oliveira C.L.A., Lopes K.C., Ganança F.F. (2021) Diagnostic assessment of patients with Meniere's disease through caloric testing and the video-head-impulse test. *Braz J Otorhinolaryngol.* 87(4):428-433.
- Paparella M.M., Mancini F. (1983) Trauma and Meniere's syndrome. *Laryngoscope.* 93(8):1004-12.
- Paquette S.T., Dawes R.P., Sundar I.K., Rahman I., Brown E.B., White P.M. (2018) Chronic cigarette smoke exposure drives spiral ganglion neuron loss in mice. *Sci Rep.* 10;8(1):5746.
- Pereira M., Ko J-H, Logan J., Protheroe H., Kim K-B, Li Min Tan A., Croucher P.I., Park K.-S., Rotival M, Petretto E., Bassett D.J.H., Williams G.R., Behmoaras J. (2020) A trans-eQTL network regulates osteoclast multinucleation and bone mass. *eLife.* 9: e55549.
- Perez-Carpena P., Lopez-Escamez J.A. (2020) Current Understanding and Clinical Management of Meniere's Disease: A Systematic Review. *Semin Neurol.* 40(1):138-150.
- PGC, Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium. (2014) Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature.* 511(7510):421-7.
- Pieskä T., Kotimäki J., Männikkö M., Sorri M., Hietikko E. (2018) Concomitant diseases and their effect on disease prognosis in Meniere's disease: diabetes mellitus identified as a negative prognostic factor. *138(1):36-40.*
- Prescott J.A., Balmanno K., Mitchell J.P., Okkenhaug H., Cook S.J. (2022) IKK α plays a major role in canonical NF- κ B signalling in colorectal cells. *Biochem J.* 11;479(3):305-325.
- Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M., Weinblatt M.E., Shadick N.A., Reich D. (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat Genet* 38(8):904–909.
- Priebe L., Degenhardt F., Strohmaier J., Breuer R., Herms S., Witt S.H., Hoffmann P., Kulbida R., Mattheisen M., Moebus S., Meyer-Lindenberg A., Walter H., Mössner R., Nenadic I., Sauer H., Rujescu D., Maier W., Rietschel M., Nöthen M.M., Cichon S. (2013) Copy number variants in German patients with schizophrenia. *PLoS One* 8(7):e64035.
- Pyykkö I., Manchaiah V., Färkkilä M., Kentala E., Zou J. (2019) Association between Ménière's disease and vestibular migraine. *Auris Nasus Larynx* 46(5):724-733.
- Ramakrishnan S.K., Zhang H., Ma X., Jung I., Schwartz A.J., Triner D., Devenport S.N., Das N.K., Xue X., Zeng M.Y., Hu Y., Mortensen R.M., Greenson J.K., Cascalho M., Wobus C.E., Colacino J.A., Nunez G., Rui L., Shah Y.M. (2019) Intestinal non-canonical NF κ B signaling shapes the local and systemic immune response. *Nat Commun.* 10(1):660.
- Rego Â. R., Dias D., Pinto A., e Castro S. S., Feliciano T., e Sousa C. A. (2019) The cardiovascular aspects of a Ménière's disease population – A pilot study. *J Otol.* 14(2): 51–56.
- Requena T., Cabrera S., Martín-Sierra C., Price SD., Lysakowski A., Lopez-Escamez JA. (2015) Identification of two novel mutations in FAM136A and DTNA genes in autosomal-dominant familial Meniere's disease. *Hum Mol Genet.* 15;24(4):1119-26.
- Requena T., Espinosa-Sanchez J.M., Cabrera S., Trinidad G., Soto-Varela A., Santos-Perez S, Teggi R., Perez P., Batuecas-Caletrio A., Fraile J., Aran I., Martin E., Benitez J., Pérez-Fernández N., Lopez-Escamez J.A. (2014) Familial clustering and genetic heterogeneity in Meniere's disease. *Clin Genet* 85(3):245-52.

- Rice J.P., Reich T., Bucholz K.K., Neuman R.J., Fishman R., Rochberg N., Hesselbrock V.M., Nurnberger Jr J.I., Schuckit M.A., Begleiter H. (1995) Comparison of direct interview and family history diagnoses of alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 19(4):1018-23.
- Ricchetti-Masterson K., Aldridge M., Logie J., Suppapanya N., Cook S.F. (2016) Exploring Methods to Measure the Prevalence of Ménière's Disease in the US Clinformatics™ Database, 2010-2012. *Audiol Neurootol*. 21(3):172-7.
- Roman-Naranjo P., Gallego-Martinez A., Soto-Varela A., Aran I., Moleon M.D.C., Espinosa-Sanchez J.M., Amor-Dorado J.C., Batuecas-Caletrio A., Perez-Vazquez P., Lopez-Escamez J.A. (2020) Burden of Rare Variants in the OTOG Gene in Familial Meniere's Disease. *Ear Hear*. 41(6):1598-1605.
- Roos C., Wicovsky A., Muller N., Salzmann S., Rosenthal T., Kalthoff H., Trauzold A., Seher A., Henkler F., Kneitz C., Wajant H. (2010) Soluble and transmembrane TNF-like weak inducer of apoptosis differentially activate the classical and noncanonical NF-κB pathway. *J Immun*. 185:1593–1605.
- Rosengren S.M., Colebatch J. G., Young A.S., Govender S., Welgampola M.S. (2019) Vestibular evoked myogenic potentials in practice: Methods, pitfalls and clinical applications. *Clin Neurophysiol Pract*. 4: 47–68.
- Rudolph J., Mahadevan J., Dyer P., Luger K. (2018) Poly(ADP-ribose) polymerase 1 searches DNA via a 'monkey bar' mechanism. *Elife*. 7:e37818.
- Rujescu D., Hartmann A.M., Giegling I., Konte B., Herrling M., Himmelein S., Strupp M. (2018) Genome-wide association study in vestibular neuritis: involvement of the host factor for HSV-1 replication. *Front Neurol* 9:591.
- Schuknecht H.F. (1976) Pathophysiology of endolymphatic hydrops. *Arch. Otorhinolaryngol*. 212(4):253-62.
- Schünke M., Schulte E., Schumacher U., Voll M., Wesker K. (2006) Prometheus LernAtlas der Anatomie. Georg Thieme Verlag KG. Seite 148.
- Shew M., Wichova H., Peter St. M., Athanasia Warnecke A., Staecker H. (2021) Distinct MicroRNA Profiles in the Perilymph and Serum of Patients With Menière's Disease. *Front Neurol*. 12: 646928.
- Shojaku H., Watanabe Y., Fujisaka M., Tsubota M., Kobayashi K., Yasumura S., Mizukoshi K. (2005) Epidemiologic characteristics of definite Ménière's disease in Japan. A long-term survey of Toyama and Niigata prefectures. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 67(5):305-9.
- Skarp S., Kanervo L., Kotimäki J., Sorri M., Männikkö M., Hietikko E. (2019) Whole-exome sequencing suggests multiallelic inheritance for childhood-onset Ménière's disease. *Ann Hum Genet*. 83(6):389-396.
- Skuladottir A.T., Bjornsdottir G., Nawaz M.S., Petersen H., Rognvaldsson S., Moore K.H.S., Olafsson P.I., Magnusson S.H., Bjornsdottir A., Sveinsson O.A., Sigurdardottir G.R., Saevarsdottir S., Ivarsdottir E.V., Stefansdottir L., Gunnarsson B., Muhlestein J.B., Knowlton K.U., Jones D.A., Nadauld L.D., Hartmann A.M., Rujescu D., Strupp M., Walters G.B., Thorgeirsson T.E., Jonsdottir I., Holm H., Thorleifsson G., Gudbjartsson D.F., Sulem P., Stefansson H., Stefansson K. (2021) A genome-wide meta-analysis uncovers six sequence variants conferring risk of vertigo. *Commun Biol*. 4(1):1148.
- Statistisches Bundesamt (gesehen am 01.06.2023) <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Gesundheitszustand-Relevantes-Verhalten/Tabellen/liste-rauchverhalten.html>

- Stefansson H., Rujescu D., Cichon S., Pietiläinen O.P., Ingason A., Steinberg S., Fossdal R., Sigurdsson E., Sigmundsson T., Buizer-Voskamp J.E., Hansen T., Jakobsen K.D., Muglia P., Francks C., Matthews P.M., Gylfason A., Halldorsson B.V., Gudbjartsson D., Thorgeirsson T.E., Sigurdsson A., Jonasdottir A., Jonasdottir A., Bjornsson A., Mattiasdottir S., Blondal T., Haraldsson M., Magnúsdóttir B.B., Giegling I., Möller H.J., Hartmann A., Shianna K.V., Ge D., Need A.C., Crombie C., Fraser G., Walker N., Lonnqvist J., Suvisaari J., Tuulio-Henriksson A., Paunio T., Touloupoulou T., Bramon E., Forti Di M., Murray R., Ruggeri M., Vassos E., Tosato S., Walshe M., Li T., Vasilescu C., Mühleisen T.W., Wang A.G., Ullum H., Djurovic S., Melle I., Olesen J., Kiemeneý L.A., Franke B.; GROUP, Sabatti C., Freimer N.B., Gulcher J.R., Thorsteinsdóttir U., Kong A., Andreassen O.A., Ophoff R.A., Georgi A., Rietschel M., Werge T., Petursson H., Goldstein D.B., Nöthen M.M., Peltonen L., Collier D.A., Clair St D., Stefansson K. (2008) Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature*. 11;455(7210):232-6.
- Strupp M., Churchill G.C., Naumann I., Mansmann U., Al Tawil A., Golentsova A., Goldschagg N. (2023) Examination of betahistine bioavailability in combination with the monoamine oxidase B inhibitor, selegiline, in humans—a non-randomized, single-sequence, two-period titration, open label single-center phase 1 study (PK-BeST). *Front Neurol*. 14:1271640.
- Strupp M., Dlugaiczyk J., Ertl-Wagner B.B., Rujescu D., Westhofen M., Dieterich M. (2020) Vestibular Disorders Diagnosis, New Classification and Treatment. *Dtsch Arztebl Int*. 117(17): 300–310.
- Sun Q., Jiang G., Xiong G., Sun W., Wen W., Wei F. (2021) Quantification of endolymphatic hydrops and its correlation with Ménière's disease clinical features. *Clin Otolaryngol*. 46(6):1354-1361.
- Tanaka M., Matsumoto K., Satake R., Yoshida Y., Inoue M., Hasegawa S., Suzuki T., Iwata M., Iguchi K., Nakamura M. (2021) Gentamicin-induced hearing loss: A retrospective study using the Food and Drug Administration Adverse Event Reporting System and a toxicological study using drug–gene network analysis. *Heliyon*. 7(7): e07429.
- Teggi R., Battista R.A., Di Berardino F., Marco Familiari M., Cangiano I., Gatti O., Bussi M. (2020) Evaluation of a large cohort of adult patients with Ménière's disease: bedside and clinical history. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 40(6):444-449.
- Teggi R., Lanzani C., Zagato L., Delli Carpini S., Manunta P., Bianchi G., Bussi M. (2008) Gly460Trp alpha-adducin mutation as a possible mechanism leading to endolymphatic hydrops in Ménière's syndrome. *Otol Neurotol*. 29(6):824-8.
- Teranishi M., Uchida Y., Nishio N., Kato K., Otake H., Yoshida T., Suzuki H., Sone M., Sugiura S., Ando F., Shimokata H., Nakashima T. (2012) Polymorphisms in genes involved in oxidative stress response in patients with sudden sensorineural hearing loss and Ménière's disease in a Japanese population. *DNA Cell Biol*. 31(10):1555-62.
- Tighilet B., Léonard J., Watabe I., Bernard-Demanze L., Lacour M. (2018) Betahistine Treatment in a Cat Model of Vestibular Pathology: Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Approaches. *Front Neurol*. 11;9:431.
- Uhlén M., Fagerberg L., Hallström B.M., Lindskog C., Oksvold P., Mardinoglu A., Sivertsson Å., Kampf C., Sjöstedt E., Asplund A., Olsson I., Edlund K., Lundberg E., Navani S., Szigartyo C.A., Odeberg J., Djureinovic D., Takanen J.O., Hober S., Alm T., Edqvist P.H., Berling H., Tegel H., Mulder J., Rockberg J., Nilsson P., Schwenk J.M., Hamsten M., von Feilitzen K., Forsberg M., Persson L., Johansson F., Zwahlen M., von Heijne G., Nielsen J., Pontén F. (2015) Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 23;347(6220):1260419. (<https://www.proteinatlas.org/ENSG00000143799-PARP1/tissue> (gesehen am 20.04.2023)).

- Vuong B., Hogan-Cann A.D., Alano C.C., Stevenson M., Chan W.Y., Anderson C.M., Swanson R.A., Kauppinen T.M. (2015) NF- κ B transcriptional activation by TNF α requires phospholipase C, extracellular signal-regulated kinase 2 and poly(ADP-ribose) polymerase-1. *J Neuroinflammation*. 4;12:229.
- Webster K.E., Galbraith K., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Ray J., Van Vugt V.A., Burton M.J. (2023a) Systemic pharmacological interventions for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2(2):CD015171.
- Webster K.E., Galbraith K., Lee A., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Ray J., Van Vugt V.A., Burton M.J. (2023b) Intratympanic gentamicin for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2(2):CD015246.
- Webster K.E., George B., Galbraith K., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Ray J., Van Vugt V.A., Burton M.J. (2023c) Positive pressure therapy for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2(2):CD015248.
- Webster K.E., George B., Lee A., Galbraith K., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Murdin L., Ray J., Van Vugt V.A., Burton M.J. (2023d) Lifestyle and dietary interventions for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2(2):CD015244.
- Webster K.E., Lee A., Galbraith K., Harrington-Benton N.A., Judd O., Kaski D., Maarsingh O.R., MacKeith S., Ray J., Van Vugt V.A., Westerberg B., Burton M.J. (2023e) Intratympanic corticosteroids for Ménière's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2(2):CD015245.
- Yazdani N., Mojbafan M., Taleba M, Amiri P., Nejadian F., Ashtiani M. K., Amoli M.M. (2015) Sex-specific association of RANTES gene -403 variant in Meniere's disease. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 272(9):2221-5.
- Yu S.-W., Wang H., Poitras M.F., Coombs C., Bowers W.J., Federoff H.J., Poirier G.G., Dawson T.M., Valina L Dawson V.L. (2002) Mediation of poly(ADP-ribose) polymerase-1-dependent cell death by apoptosis-inducing factor. *Science*. 297(5579):259-63.
- Zhang F., Lau S.S., Monks T.J. (2012) A dual role for poly(ADP-ribose) polymerase-1 during caspase-dependent apoptosis. *Toxicol Sci*.128(1):103-14.
- Zhou R., Leng Y., Liu B. (2020) Vestibulo-ocular reflex tests may reflect unilateral Ménière disease progression: A cross-sectional study 99(52):e23706.
- Zhu H., Tang Y.D., Zhan G., Su C., Zheng C. (2021) The Critical Role of PARPs in Regulating Innate Immune Responses. *Front Immunol*. 22;12:712556.

Danksagung

Mein Dank gilt Frau Privatdozentin Dr. rer. biol. hum. Ina Giegling für die Bereitstellung des Promotionsthemas und die hervorragende Betreuung.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Michael Strupp danke ich für seine Unterstützung im Rahmen der Patientenrekrutierung in der Neurologischen Klinik am DSGZ und den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Forschungsgruppe für die gute Zusammenarbeit.

Bei Frau Prof. Dr. med. Marianne Dieterich und Herrn Prof. Dr. med. Günter U. Höglinger sowie Herrn Prof. Dr. med. A. Zwergal bedanke ich mich für die Möglichkeit, meine Dissertation an der Neurologischen Klinik und Poliklinik und dem DSGZ durchführen zu können.

Ganz besonders möchte ich mich für die herausragende Betreuung von Frau Dr. rer. biol. hum. Annette Hartmann bedanken, die mir jederzeit sowohl während der praktischen Tätigkeit als auch während des Schreibens der Dissertation engagiert zur Seite stand. Ihre schnelle und zugewandte Hilfe bei der Beantwortung meiner Fragen sowie ihre konstruktiven Ratschläge haben zum Gelingen dieser Arbeit maßgeblich beigetragen.

Allen Patienten und Probanden sei Dank für ihre Bereitschaft, sich für die Studie zur Verfügung zu stellen.

Besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mich während der gesamten Zeit unterstützt und motiviert haben

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Szabo, Vincent

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

Der Einfluss von genetischen Polymorphismen im *PARP1*-Gen auf den Morbus Menière

selbständig 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.

München, 11.02.2025

Ort, Datum

Vincent Szabo

Unterschrift Vincent Szabo

Eidesstattliche Versicherung

Stand: 17.12.2024



LUDWIG-
MAXIMILIANS-
UNIVERSITÄT
MÜNCHEN

Dekanat Medizinische Fakultät
Promotionsbüro



**Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation mit
der elektronischen Fassung**

Szabo, Vincent

Name, Vorname

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten Dissertation mit dem Titel:

Der Einfluss von genetischen Polymorphismen im *PARP1*-Gen auf den Morbus Menière

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren
übereinstimmt.

München, 11.02.2025

Ort, Datum

Vincent Szabo

Unterschrift Vincent Szabo

Übereinstimmung abgegebener Exemplare

Stand: 17.12.2024