

Universitätsspital Zürich
Klinik für Ohren-, Nasen-, Hals- und Gesichtschirurgie
Direktor: Prof. Dr. med. R. Probst

Arbeit unter Leitung von PD Dr. med. A. Huber

Genetische Risikofaktoren für die komplexe Form von Otosklerose

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

Viktor Paul Martos
von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. R. Probst
Zürich 2009

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Zusammenfassung	3
2. Einleitung	4
3. Fragestellung	9
4. Methoden	10
5. Resultate	13
6. Diskussion	21
7. Abkürzungen	23
8. Literaturverzeichnis	24
9. Verdankungen	27
10. Curriculum Vitae	28

1. Zusammenfassung

Die Otosklerose ist eine herdförmige Erkrankung der Innenohrkapsel die meist im Bereich des Steigbügels auftritt. Sie zeichnet sich durch eine progrediente ein- oder beidseitige Gehörverminderung aus und kann bei Befall des Innenohres bis zur Ertaubung führen. Die Aethiologie der Otosklerose ist noch nicht vollständig geklärt. Postuliert werden eine monogenetische Form und eine komplexe Form mit genetischer Prädisposition sowie auslösenden Faktoren.

Fragestellung. 1) Können Gene identifiziert werden, welche für die Vererbung der komplexen Form der Otosklerose verantwortlich sind. Solche können als bekannte Risikofaktoren für Otosklerose langfristig der Diagnose, Therapie und Prävention der Krankheit dienen. 2) Haben allfällige Mutationen dieser Gene einen Einfluss auf bilaterale Beteiligung des Gehörs oder auf die Progressionsgeschwindigkeit des Hörverlusts. Diese Arbeit ist Teil einer internationalen Multicenter-Studie, an der rund 1'600 Patienten teilnehmen.

Methoden. Es wurden Blutproben gesammelt von jeweils 103 Schweizer Patienten mit Otosklerose und hörgesunden Kontrollpersonen. An der extrahierten und mit PCR (Polymerase Chain Reaction) multiplizierten DNA (Desoxy-Ribonucleic Acid) wurde die Expression verschiedener SNPs (Single Nucleotid Polymorphisms) mittels LOD-Scores (Logarithm of the Odds) bestimmt. Zu diesen gehören TGFB (Transforming Growth Factor Beta 1), BMP2, BMP4 (Bone Morphogenetic Protein 2 und 4), LCT (Lactase Gen) sowie WGA-Regionen auf Chromosom 7 und 11 (Whole Genome Association). Die Bilateralität der Erkrankung wurde aufgrund eines präoperativen Audiogramms bestimmt. Für die Bestimmung der Progressionsgeschwindigkeit wurden mindestens zwei präoperative Audiogramme verwendet. Diese wurden statistisch mit den Genmutationen ausgewertet.

Resultate. Mehrere SNPs zeigten sich signifikant für die Region auf Chromosom 7q22 (Reelin). Für die Bilateralität konnte kein genetisches Risiko ermittelt werden. Der Bezug von Progressionsgeschwindigkeit der Schwerhörigkeit zu genetischem Risiko zeigte einige signifikante Resultate, jedoch ohne Kongruenz von linkem und rechtem Ohr untereinander.

Schlussfolgerung. Die Studie zeigt einen Zusammenhang zwischen genetischem Risiko und Erkrankung an Otosklerose. Mit den vorliegenden Daten konnten einige signifikante Zusammenhänge gewonnen werden, die zwischen Genotyp und Progressionsgeschwindigkeit des Hörverlustes bestehen. Um diesen Trend eindeutig nachzuweisen, braucht es eine Studie mit einer grösseren Stichprobe.

2. Einleitung

2.1 Klinik

Der Begriff Otosklerose wurde erstmals 1894 von Politzer beschrieben. Es ist eine herdförmige Erkrankung der knöchernen Labyrinthkapsel, welche sich klinisch durch eine ein- oder beidseitige langsam zunehmende Gehörsverminderung manifestiert [13]. Diese kann bis zur Ertaubung fortschreiten. Zudem tritt sehr oft ein tieffrequenter Tinnitus auf [41].

2.2 Epidemiologie

Die Anzahl der beidseitig betroffenen Fälle beträgt 60–90% [1–3, 10, 16]. Am häufigsten wird die Erkrankung in der dritten Lebensdekade manifest und 90% der Erkrankten sind zum Zeitpunkt der Diagnose weniger als 50 Jahre alt [11, 55].

Frauen (62%) sind häufiger von der Otosklerose betroffen als Männer (38%) [16, 17, 20]. Zusätzlich beginnen bei Frauen oft in der Schwangerschaft die ersten Manifestationen einer Otosklerose. Diese Geschlechtsspezifität lässt auf einen Einfluss von hormonellen Faktoren schließen [8, 14, 15].

In histologischen Untersuchungen von Felsenbeinen fanden sich in 6.5% aller Männer und in 12.3% aller Frauen otosklerotische Läsionen [16, 17]. Eine klinisch manifeste Otosklerose mit Gehörsverminderung entsteht allerdings nur in etwa 10% der Patienten* mit histologischer Otosklerose, was einer Inzidenz von 0.5–1% der Bevölkerung entspricht [41].

Otosklerose ist eine der häufigsten Ursachen einer Gehörverminderung bei jungen Erwachsenen weisser Hautfarbe [56]. Die histologische Inzidenz der Otosklerose wird für die weisse Bevölkerung mit 8.3% und für die schwarze Bevölkerung mit 1% angegeben. Eine ähnliche Inzidenz wie bei Europäern und Amerikanern europäischer Abstammung wird auch in Indien [19], vor allem Südindien, in Abessinien und Nordafrika gefunden. Bei Indianern, Schwarzafrikanern und asiatischen Völkern ist die Otosklerose seltener [10].

* Zur besseren Lesbarkeit werden im Text nur die männlichen Personenbezeichnungen erwähnt.

2.3 Genetik

Als genetische Ätiologie für die Otosklerose wird unterschieden zwischen der monogenetischen Form und der komplexen Form. Die monogenetische Form ist sehr selten, beschränkt sich auf einige wenige Familien weltweit und wird autosomal dominant vererbt. Die komplexe Form hingegen, mit welcher sich die vorliegende Arbeit befasst, ist häufiger, zeigt keine offensichtliche klassische Vererbungsregel und kommt wahrscheinlich durch eine Interaktion von verschiedenen Genen und Umweltfaktoren zustande [44, 45, 48].

In 50-60% der Fälle wird ein familiäres Auftreten der Otosklerose beschrieben [2, 10, 11, 20, 21], was dann in den meisten Fällen die komplexe und nicht die monogenetische Form darstellt. Wegen der familiären Häufung wurde für die Otosklerose eine Vererbung mit autosomal dominantem Vererbungsgang mit variabler Penetranz postuliert [10, 11]. Patientenstudien haben ausserdem ein erhöhtes Risiko für bestimmte HLA Antigene (Human Leukocyte Antigen) wie HLA-A11, -Bw35 und -B14 gezeigt [57].

In neueren genetischen Studien wurden mehrere Loci für die monogenetische Form der Otosklerose sequenziert [12, 13]. Einen Überblick gibt Tabelle 1.

Tabelle 1. Otosklerose Loci (OTSC)

Locus	Länge	Herkunft
OTSC1 15q25-26	14.5cM Intervall	Indische Familie [13]
OTSC2 7q34-36	16cM Intervall	Belgische Familie [52]
OTSC3 6p21.3-22.3	17.4cM Intervall	Zypriotische Familie [47]
OTSC4 16q21-23.2	ca. 10cM Intervall	Israelische Familie [43]
OTSC5 3q22-24	15.5cM Intervall	Holländische Familie [54]
OTSC6 -	-	reserviert, aber noch nicht publiziert
OTSC7 6q13-16.1	13.47cM Intervall	Griechische Familie [50]
OTSC8 9q13.1-21.11	34.16Mb Intervall	Tunesische Familie [42]

Bemerkenswert ist, dass die OTSC2 Region den Genkomplex für die Betakette des T-Zell Rezeptors enthält mit den Elementen der immunologischen Rekombination wie V (Variable) -, D (Diversity) -, J

(Joining) - und C (Constant) -Segmenten. Dies könnte eine Rolle in der autoimmunen Pathogenese der Otosklerose spielen [46, 52, 53].

Obwohl in der Vergangenheit bereits mehrere Loci identifiziert worden waren, konnten noch keine exakten kausalen Gene kloniert werden, welche Erkenntnisse über die molekularen Mechanismen der Erkrankung liefern würden [51].

Schliesslich wurde eine statistisch signifikante Assoziation zwischen Otosklerose und COL1A1 (Collagen) gefunden, einem Gen für Kollagen [58]. Defekte in COL1A1 und COL1A2 treten bei der Osteogenesis imperfecta auf, einer Knochenerkrankung mit klinisch und histopathologisch starker Ähnlichkeit zur Otosklerose [51].

2.4 Pathophysiologie

Die Skleroseherde entstehen aufgrund einer abnormen Knochenhomöostase. Am häufigsten manifestieren sich diese durch eine klassische Schalleitungsstörung vom Mittelohrtyp (in 80%). Dies entspricht einer Fixation der Steigbügelplatte am ovalen Fenster mit Verlust der Schwingungsfähigkeit des Stapes auf Schallwellen. So ist bei einer Impedanzmessung der physiologische Stapediusreflex nicht mehr nachweisbar. Breitet sich die Sklerosezone auch auf das Innenohr aus, kann eine kombinierte Schalleitungs- und Schallempfindungsstörung vom Mischtyp bestehen (in 20%). Dabei ist auch das Innenohr mit einem sensorineuralen Gehörverlust betroffen. In 5% der Patienten entwickelt sich im Krankheitsverlauf eine hochgradige Innenohrschwerhörigkeit [2, 3]. Bei Mitbefall des Vestibulums kann auch Schwindel auftreten [51].

Das erste histologische Zeichen für beginnende Otosklerose sind Knochenresorptionen um Blutgefässe herum mit konsekutiver Vergrösserung der perivaskulären Räume. Unreifer Knochen mit wenig Kollagengehalt lagert sich in diesen Räumen ab und wird umgebaut zu reifem Knochen mit erhöhtem Kollagengehalt. Besonders embryonale Zellreste vom ursprünglichen Knorpelgerüst des Innenohres, Globuli interossei, sind betroffen [59].

2.5 Assoziationen

Die Ätiologie der Otosklerose ist unbekannt. Epidemiologische Studien lassen eine Beteiligung von Umweltfaktoren und genetischen Faktoren vermuten. Ein entzündlich immunologisches Geschehen wird oft diskutiert. In otosklerotischen Herden konnte immunhistochemisch Masernvirusgenom nachgewiesen werden. Durch eine Infektion der Mittelohrmukosa sollen in diesem Krankheitsmodell Viruspartikel lymphogen in das knöcherne Labyrinth gelangen. Die Otosklerose könnte einer durch das Masernvirus unterhaltenen chronisch infektiösen Entzündungsreaktion entsprechen [4–9].

Aufgrund des postulierten Zusammenhangs zwischen Masernvirus und Otosklerose [4–9] wird der weltweite Rückgang der Otosklerose potentiell als Folge der anfangs der 80er Jahre begonnenen Masernschutzimpfung gesehen. Andere vermuten, dass die heute vielerorts praktizierte Fluorierung von Trinkwasser und Salz die Entstehung von Otoskleroseherden und Progredienz der Innenohrschwerhörigkeit verhindere. [25–27]. Die Fluortherapie wird deshalb von einzelnen Ärzten zur Behandlung von otosklerotischen Patienten mit zusätzlicher Innenohrschwerhörigkeit angewandt [28]. Gefährlich an den Langzeittherapien mit Fluor sind mögliche toxische Nebenwirkungen mit Knochenumbauprozessen [29].

Epidemiologische Studien haben eine überwiegende Alterszunahme zum Operationszeitpunkt bei den Frauen mit Otosklerose gefunden. Es gibt dafür mindestens drei verschiedene Erklärungen im Zusammenhang mit einer Veränderung des weiblichen Hormonhaushaltes: Erstens zeigen Geburtsstatistiken, dass das Schwangerschaftsalter der Mütter in der Schweiz in den vergangenen 20 Jahren progredient war [20, 36]. Zweitens hat die frühzeitige postmenopausale Hormonsubstitution in den letzten Jahren einen deutlichen Aufschwung erlebt [37]. Schliesslich haben die heutigen hormonellen Antikonzeptiva verglichen mit vor 20 Jahren einen bedeutend geringeren Östrogenanteil oder bestehen oft nur aus einem Gestagen, was vor allem die jüngeren Frauen betrifft [20, 38].

2.6 Therapie

Eine Korrektur des sensorineuralen Hörverlusts ist nicht möglich. Als Therapie der Schallleitungsschwerhörigkeit kann eine Stapedektomie durchgeführt werden, wobei der fixierte Steigbügel operativ durch eine Prothese ersetzt wird. Mit dieser höchst effektiven Operation kann die

Hörschwelle bis um 50dB (Dezibel) angehoben werden [25]. Wenn eine Kontraindikation zur operativen Therapie besteht, so ist auch eine Hörgeräteanpassung möglich [2, 3].

Weltweit wird eine Abnahme der Zahl der Stapedektomien vermerkt [6, 7, 22, 23]. Diese Abnahme könnte einerseits durch die Zentralisierung des Eingriffes in Zentren mit speziellen technisch-chirurgischen Instrumenten wie LASER und Mikrobohrer bedingt sein. Andererseits erfolgte die Abarbeitung eines langjährigen Patientenreservoirs bei einer progredienten Zahl von Otologen, die Stapeschirurgie betreiben [20, 30–34].

3. Fragestellung

Ziel dieser Fall-Kontroll Studie ist es, Gene zu identifizieren, welche für die Vererbung der komplexen Form der Otosklerose verantwortlich sind. Solche können als bekannte Risikofaktoren für Otosklerose langfristig der Diagnose, Therapie und Prävention der Krankheit dienen.

Zusätzlich wird untersucht, ob Mutationen dieser Gene ein Risiko für schnelle Progression oder Bilateralität des Hörverlusts darstellen. Die gefundenen Genveränderungen bei der Genotypisierung sollen mit der Klinik der Patienten assoziiert werden. Es wird untersucht, ob die Geschwindigkeit der Hörverschlechterung in den Audiogramm-Testungen abhängig vom jeweiligen genetischen Risiko ist.

Diese Arbeit ist Teil einer internationalen Multicenter-Studie, an der rund 1'600 Patienten teilnehmen.

4. Methoden

Insgesamt nahmen 206 Personen an dieser Fall-Kontroll Studie teil. Es wurden 103 Patientinnen und Patienten mit klinisch hochgradigem Verdacht oder operativ bestätigter Diagnose einer Otosklerose in diese Studie eingeschlossen. In dieser Gruppe waren 39 Männer und 64 Frauen. Zu diesen Patienten wurde ein Vergleichskollektiv von 103 Kontrollpersonen gebildet, welche anamnestisch keine Hörprobleme, gleiches Geschlecht und eine Altersdifferenz von maximal fünf Jahren zu den Otosklerose-Patienten aufwiesen. Alle diese 206 Personen sowie deren beide Elternteile waren Schweizer Bürger. Zusätzlich wurde eine Familienanamnese bezüglich Otosklerose und Schwerhörigkeit erhoben. In dieser Studie wurden ausschliesslich Schweizer Bürger zweiter Generation aufgenommen, da einerseits ethnische Unterschiede in der Vererbung vermutet werden und andererseits der Einfluss der Umweltfaktoren auf diese Weise möglichst konstant gehalten wird. Zusätzlich lassen sich allenfalls bei mit anderen Nationalitäten kombinierten Studien bevölkerungsspezifische genetische Veränderungen beobachten.

Bei allen Teilnehmern wurde nach Aufklärung und Einverständnis eine venöse Blutentnahme von 5-20ml EDTA-Blut (Ethyldiamintetraacetic Acid) gemacht. Diese Proben wurden bei -20°C eingefroren und zur genetischen Auswertung zum zusammenarbeitenden Team an der Universität von Antwerpen unter der Leitung von Prof. Van Camp geschickt. Momentan werden dort Proben von drei kleinen (Rumänien, Italien, Schweiz) und zwei grossen Populationen (Belgien, Frankreich) auf genetische Veränderungen untersucht.

Aus den Blutproben der Studienteilnehmer wurde durch Standardtechniken die genomische DNA extrahiert. An der mittels PCR amplifizierten DNA wurde die Expression verschiedener SNPs (Mikrosatellitenmarker) in der Gelelektrophorese bestimmt.

Für die monogenetische Form der Otosklerose, die in grossen Familien vorkommt, werden Linkage Analysen verwendet. Die geeignetste Methode zur Erforschung der komplexen Form von Otosklerose ist eine Assoziationsstudie mit einer grossen Anzahl von betroffenen Individuen und dazu passenden Kontrollen (Fall-Kontroll-Assoziationsstudie). Der Vorteil von Assoziationsstudien ist, dass auch schwache Zusammenhänge gefunden werden können. Dazu werden geeignete Marker für

Kandidaten-Gene in Form von SNPs getestet. SNPs sind Variationen von DNA Sequenzen, welche auftreten, wenn ein einziges Nukleotid (A, T, C oder G) der Genomsequenz verändert ist. Die meisten SNPs sind biallelisch, so dass eine Person homozygot oder heterozygot für ein bestimmtes Allel sein kann (z.B. AA versus AT). Insgesamt existieren etwa 10 Millionen SNPs pro Genom, das heisst sie sind ein häufiger Befund. Bezüglich der biologischen Funktion sind die meisten SNPs silent und beeinflussen keine Genexpression. Einige jedoch verändern die Genexpression oder die Gene selber. Ein Allel ist dann mit einer Erkrankung assoziiert, wenn es in einer Population von Erkrankten häufiger vorkommt als bei den Kontrollen. Das mit der Krankheit assoziierte Allel kann direkt zum Risiko der Erkrankung beitragen oder sehr nahe sich am Krankheit verursachenden SNP befinden. Letzteres führt zur gemeinsamen Vererbung und die zwei Parameter stehen zueinander in einem Kopplungsungleichgewicht (linkage disequilibrium) [60].

Auf folgende Gene und Genregionen wurde die Schweizer Population untersucht: TGFB (rs1800472) [49], BMP2 (rs3178250), [60] und BMP4 (rs17563), LCT sowie Regionen auf Chromosom 7 und 11 von WGA.

Die oben erwähnten TGFB, BMP2 und BMP4 sind starke Kandidaten-Gene für Otosklerose [49, 60]. Dagegen sind WGA auf Chromosom 7 und 11 ein Resultat von Daten aus dem Human Genome Projekt, wo mittels hoch auflösenden SNP Datenbanken wie HapMap-Projekt das ganze Genom umfassende Assoziationsstudien durchgeführt werden konnten.

Der HapMap-Katalog beschreibt die genetischen Varianten der DNA und deren Verteilung in Populationen weltweit. Zur Vereinfachung der Arbeit werden nur die wichtigsten SNPs verwendet (tag SNPs). Im Gegensatz zu allen möglichen bestimmbar SNPs beschränkt sich diese Auswahl nur auf 300'000 bis 600'000 SNPs pro Genom. Es wurde dafür das Programm Tagger, eine Anwendung von haploview 3.32 verwendet.

BMP2 und 4 sind beide Mitglieder der TGF- β Superfamilie und spielen eine Rolle in der Chondrogenese der otischen Kapsel und der Knochenbildung.

Die Genotypisierung der Proben übernahm die externe Firma Kbiosciences (Herts, UK) mittels eines kompetitiven Allel-spezifischen PCR-Systems (KASPar). 15 SNPs wurden genotypisiert inklusive einer

extra SNP (rs4988235), um die Schichtung der Population abzuschätzen. Dieser Marker zeigt eine grosse Variabilität auch in einer scheinbar homogenen Population und könnte somit von Nutzen sein, auch subtile Assoziationen innerhalb dieser zu finden.

Das Hardy-Weinberg Äquilibrium der Kontrollen wurde berechnet mit dem Programm Genotype Transposer (Version 1.0) und SAS 9.1. Für die statistischen Analysen wurde SPSS 12.0 verwendet. Die Testung der Assoziation geschah mit dem Likelihood Ratio Test (LRT) via logistische Regression. Hier wurde der Genotyp linear kodiert (0, 1, 2) mit der Annahme, die Heterozygoten seien phänotypisch in der Mitte zwischen den zwei Homozygoten. Die Signifikanz wurde dann mit dem LRT berechnet.

Um die Progressionsgeschwindigkeit des Hörverlustes zu berechnen, wurden Tonaudiogramme der Patienten für beide Ohren einzeln analysiert. Sprachaudiogramme konnten wegen unregelmässigem Gebrauch im klinischen Alltag nicht verwendet werden. Es wurden nur präoperative Daten berücksichtigt. Nur Patienten mit mehr als einer Audiogramm-Testung wurden ausgewählt. Für die Luftleitung haben wir die Frequenzen 125, 250, 500, 1'000, 2'000, 4'000 und 8'000 Hz analysiert. Für 750, 1'500, 3'000 und 6'000 Hz waren nicht genügend Daten vorhanden.

Die Knochenleitung haben wir bei den Frequenzen 250, 500, 1'000, 2'000 und 4'000 Hz registriert. Mit diesen Daten wurde auch die Luft-Knochen Leitungsdifferenz (air-bone gap) berechnet. Zusätzlich wurde der ABG für den Durchschnitt von 500, 1'000, 2'000 und den Mittelwert von 2'000 und 4'000 Hz (als Ersatz für 3'000 Hz) berechnet. Schliesslich konnten wir audiometrische Daten von 76 Patienten einschliessen. Alle Daten haben wir separat für das linke und rechte Ohr berechnet. Diese wurden statistisch mit den Genmutationen verglichen.

Die Studie wurde vor Beginn von der Ethikkommission des Kantons Zürich begutachtet und bewilligt.

5. Resultate

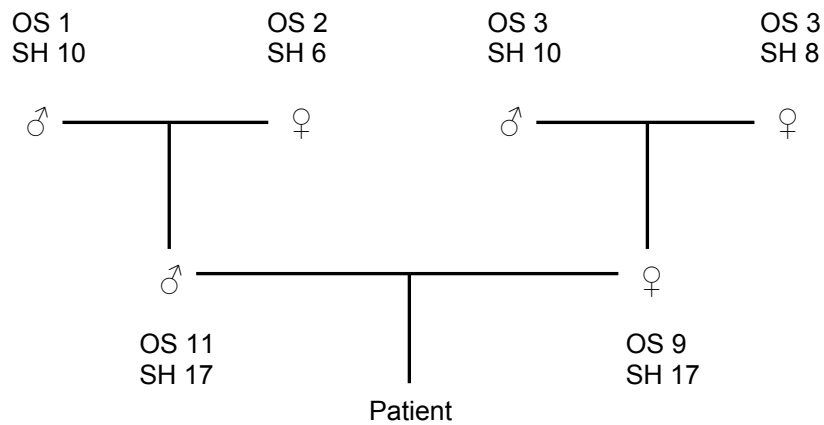
5.1 Eckdaten

In Tabelle 2 sind die Eckdaten unserer Population aufgeführt und in Graphik 1 die illustrierte Übersicht. Die zwei Gruppen sind gemäss Fragestellung ideal für einen gemeinsamen Vergleich.

Tabelle 2. Population

	Patienten	Probanden	p-Wert
Gesamt	103	103	
Frauen	64 (62.1%)	64 (62.1%)	
Männer	39 (37.9%)	39 (37.9%)	
Jahrgang	1926-1974	1927-1976	
Median	1951	1950	
Mittelwert	1951	1950	
Differenz Patienten/Probanden	39-1745 Tage		
Median	440 Tage		
Mittelwert	546 Tage		
Otosklerose beidseits	71 (68.9%)	-	
Otosklerose nur rechts	13 (12.6%)	-	
Otosklerose nur links	19 (18.4%)	-	
Otosklerose Vater	11 (10.7%)	-	
Schwerhörigkeit Vater	17 (16.5%)	14 (13.6%)	p=0.029
Otosklerose Vater von Vater	1 (1.0%)	-	
Schwerhörigkeit Vater von Vater	10 (9.7%)	2 (1.9%)	p=0.078
Otosklerose Mutter von Vater	2 (1.9%)	-	
Schwerhörigkeit Mutter von Vater	6 (5.8%)	1 (1.0%)	p=0.048
Otosklerose Mutter	9 (8.7%)	-	
Schwerhörigkeit Mutter	17 (16.5%)	13 (12.6%)	p=0.039
Otosklerose Vater von Mutter	3 (2.9%)	-	
Schwerhörigkeit Vater von Mutter	10 (9.7%)	6 (5.8%)	p=0.039
Otosklerose Mutter von Mutter	3 (2.9%)	-	
Schwerhörigkeit Mutter von Mutter	8 (7.8%)	1 (1.0%)	p=0.068

Graphik 1. Otosklerose Familienanamnese



OS: Anzahl Patienten mit Otosklerose in Familienanamnese

SH: Anzahl Patienten mit Schwerhörigkeit in Familienanamnese

5.2 SNPs

Für die Region auf Chromosom 7q22 (Reelin) waren mehrere SNPs signifikant ($p < 0.05$), wie Tabelle 3 zeigt.

Tabelle 3. Schweizer Population

SNP	Region	p-Wert	Odds Ratio
WGA Chr7 (Reelin)	rs2299383	0.0030	0.5506
WGA Chr7 (Reelin)	rs39335	0.0045	0.4562
WGA Chr7 (Reelin)	rs39350	0.0183	1.6940
WGA Chr7 (Reelin)	rs39374	0.8649	1.0374
WGA Chr7 (Reelin)	rs39395	0.2389	0.7909
WGA Chr7 (Reelin)	rs7791481	0.3375	1.3235
WGA Chr7 (Reelin)	rs3914132	0.2589	1.3214
WGA Chr11	rs670358	0.5063	0.8108
WGA Chr11	rs494252	0.9704	0.9884
WGA Chr11	rs627497	0.2486	1.3614
WGA Chr11	rs616322	0.2300	1.4094
LCT SNP	rs4988235	0.9337	0.9832

BMP2	rs3178250	0.2164	1.3590
BMP2	rs3178250 (domrec, dom./rez.)	0.1402	3.1263
BMP4	rs17563	0.2308	1.2883
TGFB	rs1800472	0.5392	0.6922

Odds Ratio: Quotenverhältnis berechnet aus einer Kreuztabelle

5.3 Bilateralität

Tabelle 4 zeigt die Resultate vom Effekt des Genotyps auf die Bilateralität der Schwerhörigkeit. Es konnte kein signifikanter Zusammenhang erkannt werden.

Tabelle 4. Bilateralität

SNP	p-Wert linear kodiert	p-Wert Fisher Test
rs1800472	<u>0.064</u>	<u>0.061</u>
rs17563	0.595	0.908
rs2299383	<u>0.088</u>	0.122
rs3178250	0.992	0.282
rs3914132	0.992	0.435
rs39335	0.767	0.884
rs39350	0.209	0.406
rs39374	0.511	0.766
rs39395	0.475	0.390
rs494252	0.775	1.000
rs4988235	0.590	0.631
rs616322	0.185	0.336
rs627497	<u>0.056</u>	0.088
rs670358	0.993	0.365
rs7791481	0.992	1.000

5.4 Progressionsgeschwindigkeit der Schwerhörigkeit

Die Geschwindigkeit der Zunahme der Hörschwelle wurde mit Mixed Model Analysis in SAS gegen die Zunahme des Alters aufgetragen und zeigt die Geschwindigkeit des Hörverlusts bei genetischem Risiko. Wegen fehlenden Daten konnte bei 6'000 und 12'000 Hz Luftleitung, 2'000 und 4'000 Hz

Knochenleitung kein Resultat berechnet werden. Für die Knochen- und Luftleitung wurde ein Mittel von 2'000 und 4'000Hz anstelle von 3'000Hz berechnet.

Als nächstes wurde der Hörschwellenanstieg mit dem Genotyp in 15 Varianten assoziiert. Dies geschah mit dem Programm ANOVA (Tabelle 5 und 6). Dabei zeigten sich mehrere der Assoziationen als signifikant. Jedoch konnte keine Übereinstimmung von rechtem und linkem Ohr gefunden werden. Um zu sehen, ob Kombinationen der benachbarten SNP-Allele Gemeinsamkeiten haben, wurde ein Haplotyp Assoziationstest durchgeführt. Keine der SNPs auf Chromosom 7 oder 11 zeigte Evidenz für diese Haplotyp Assoziation. Zwischen dem rechten und linken Ohr konnte kein Zusammenhang hergestellt werden (Tabelle 7 und 8).

Tabelle 5. Progression Ohr rechts (1)

Frequenz	rs1800472	rs17563	rs2299383	rs3178250	rs3914132
Luft 125Hz	-	0.3898	0.5664	<u>0.0996</u>	0.3521
Luft 250Hz	-	0.4706	0.8477	<u>0.0514</u>	0.2501
Luft 500Hz	-	0.3875	0.8048	0.4487	0.1548
Luft 1000Hz	-	0.3935	0.7147	0.3559	0.1292
Luft 2000Hz	-	0.8149	0.5891	0.4484	0.1150
Luft 4000Hz	-	0.9460	0.6578	0.3788	0.2449
Luft 8000Hz	-	0.7635	0.1942	0.3440	0.8121
Luft 12000Hz	-	-	-	-	-
Luft Mittel 3000Hz	-	0.9134	0.6605	0.4174	0.1552
Luft RTA	-	0.5972	0.9563	0.3669	0.1170
Knochen 250Hz	-	0.9573	0.2638	0.3230	0.7612
Knochen 1000Hz	-	0.6702	<u>0.0935</u>	0.3173	0.7974
Knochen 2000Hz	-	0.7989	0.9623	0.9917	0.7260
Kno. Mittel 3000Hz	-	0.5979	0.3232	0.9807	0.9335
Knochen PTA	-	0.7703	0.3915	0.6961	0.5770
Air-bone gap 250Hz	-	0.8769	0.9742	<u>0.0919</u>	0.2813
Air-bone gap 500Hz	-	0.4583	0.2020	0.4852	<u>0.0535</u>
Air-bone gap 1000Hz	-	0.6394	0.4471	0.2298	<u>0.0524</u>
Air-bone gap 2000Hz	-	0.3519	0.3988	0.4099	0.2297
Air-bone gap 4000Hz	-	0.4703	0.6300	0.4369	0.3967

Tabelle 5. Progression Ohr rechts, Fortsetzung (2)

Frequenz	rs39335	rs39350	rs39374	rs39395	rs494252
Luft 125Hz	0.7546	0.7766	0.7814	0.8090	0.8627
Luft 250Hz	0.4608	0.7909	0.9593	0.9811	0.4561
Luft 500Hz	0.6614	0.8373	0.6515	0.9703	0.4519
Luft 1000Hz	0.9593	0.9067	0.6973	0.9741	0.6767
Luft 2000Hz	0.9557	0.4966	0.7271	0.3736	0.4423
Luft 4000Hz	0.3973	0.2373	0.4579	0.3539	0.5528
Luft 8000Hz	0.3778	<u>0.0744</u>	0.2926	<u>0.0526</u>	0.4170
Luft 12000Hz	-	-	-	-	-
Luft Mittel 3000Hz	0.6495	0.3539	0.5320	0.3249	0.4382
Luft RTA	0.8955	0.8375	0.9612	0.6599	0.4494
Knochen 250Hz	0.2855	<u>0.0376</u>	<u>0.0292</u>	<u>0.0449</u>	0.2546
Knochen 1000Hz	0.1090	<u>0.0008</u>	<u>0.0030</u>	<u>0.0195</u>	0.8100
Knochen 2000Hz	0.9096	<u>0.0488</u>	0.1899	0.6504	0.9067
Kno. Mittel 3000Hz	0.2838	<u>0.0050</u>	<u>0.0249</u>	0.1352	0.9081
Knochen PTA	0.2242	<u>0.0121</u>	<u>0.0369</u>	0.1713	0.6329
Air-bone gap 250Hz	0.5559	0.5346	0.8654	0.7868	0.9030
Air-bone gap 500Hz	0.5637	0.4292	0.7302	0.9195	0.8021
Air-bone gap 1000Hz	0.5507	0.9007	0.6456	0.7633	0.3326
Air-bone gap 2000Hz	0.7979	0.7784	0.9710	0.4715	<u>0.0818</u>
Air-bone gap 4000Hz	0.8345	0.9469	0.8655	0.8778	0.2881

Tabelle 5. Progression Ohr rechts, Fortsetzung (3)

Frequenz	rs4988235	rs616322	rs627497	rs670358	rs7791481
Luft 125Hz	0.5185	0.5813	0.6088	0.7469	0.3943
Luft 250Hz	0.5984	0.1383	0.6187	0.8913	0.8745
Luft 500Hz	0.8827	0.1292	0.3226	0.5900	0.5969
Luft 1000Hz	0.7558	0.2691	0.6037	0.7957	0.3580
Luft 2000Hz	0.3680	0.1241	0.3438	0.5824	<u>0.0261</u>
Luft 4000Hz	0.7442	0.8746	0.9516	0.5128	0.2995
Luft 8000Hz	0.6067	0.8494	0.8026	0.5787	0.1693
Luft 12000Hz	-	-	-	-	-
Luft Mittel 3000Hz	0.7027	0.4583	0.6217	0.4860	<u>0.0837</u>
Luft RTA	0.6417	0.2094	0.4361	0.5622	0.1869
Knochen 250Hz	0.9975	<u>0.0673</u>	0.1461	0.6128	<u>0.0319</u>

Knochen 1000Hz	<u>0.0590</u>	0.6792	0.4566	0.9517	<u>0.0872</u>
Knochen 2000Hz	0.3131	0.7280	0.6844	0.9394	0.7466
Kno. Mittel 3000Hz	0.4079	0.6390	0.7374	0.7955	0.2909
Knochen PTA	0.1885	0.8212	0.7478	0.9107	0.4414
Air-bone gap 250Hz	0.4719	0.1846	0.8380	0.9789	0.9919
Air-bone gap 500Hz	0.9699	0.8956	0.7305	0.4891	0.6294
Air-bone gap 1000Hz	0.7177	<u>0.0654</u>	0.5253	0.3312	0.5571
Air-bone gap 2000Hz	0.9006	0.1080	0.2534	0.1555	0.2652
Air-bone gap 4000Hz	<u>0.0731</u>	<u>0.0835</u>	0.3078	0.3904	0.5491

Tabelle 6. Progression Ohr links (1)

Frequenz	rs1800472	rs17563	rs2299383	rs3178250	rs3914132
Luft 125Hz	-	0.6849	0.7483	0.5101	0.7309
Luft 250Hz	-	0.9812	0.6495	0.2742	0.9149
Luft 500Hz	-	0.9402	0.6359	0.3042	0.7958
Luft 1000Hz	-	0.8447	0.9222	0.2902	0.9242
Luft 2000Hz	-	0.7475	0.4943	0.2742	0.5890
Luft 4000Hz	-	0.3680	0.3847	0.3696	0.4928
Luft 8000Hz	-	0.7324	0.6079	0.3676	0.6908
Luft 12000Hz	-	0.9760	0.2787	0.7855	<u>0.0902</u>
Luft Mittel 3000Hz	-	0.7222	0.3394	0.1849	0.4186
Luft RTA	-	0.8657	0.6539	0.2257	0.6498
Knochen 250Hz	-	0.8432	0.5446	0.4983	0.9540
Knochen 1000Hz	-	0.6908	<u>0.0900</u>	0.2201	0.8347
Knochen 2000Hz	-	0.6778	0.4816	0.1223	0.8661
Kno. Mittel 3000Hz	-	0.9604	0.7345	0.7952	0.9887
Knochen PTA	-	0.6218	0.7097	0.4728	0.8905
Air-bone gap 250Hz	-	0.9904	0.2205	0.6106	0.9724
Air-bone gap 500Hz	-	0.9000	0.1277	0.8608	0.6407
Air-bone gap 1000Hz	-	0.5787	<u>0.0779</u>	0.4039	0.5485
Air-bone gap 2000Hz	-	0.6932	0.6515	0.3615	0.7892
Air-bone gap 4000Hz	-	0.7640	0.5620	0.9010	0.2226

Tabelle 6. Progression Ohr links, Fortsetzung (2)

Frequenz	rs39335	rs39350	rs39374	rs39395	rs494252
Luft 125Hz	0.9499	0.2316	0.2508	0.9035	0.4698
Luft 250Hz	0.7190	0.2998	0.4985	0.9695	<u>0.0889</u>
Luft 500Hz	0.9131	0.2487	0.4118	0.8293	0.4216
Luft 1000Hz	0.9839	0.4487	0.5490	0.9875	0.2663
Luft 2000Hz	0.3771	0.9629	0.9440	0.5580	0.2324
Luft 4000Hz	0.9277	0.8048	0.7819	0.9594	<u>0.0832</u>
Luft 8000Hz	<u>0.0850</u>	0.8008	0.7652	0.4936	0.2731
Luft 12000Hz	0.3960	0.9569	0.6299	0.1502	0.4259
Luft Mittel 3000Hz	0.4555	0.8387	0.7907	0.5785	0.1434
Luft RTA	0.5953	0.7283	0.8186	0.7236	0.1788
Knochen 250Hz	0.1500	0.6097	0.9580	0.9183	0.7830
Knochen 1000Hz	0.4818	0.5910	0.8617	0.2067	0.6245
Knochen 2000Hz	0.4594	0.9050	0.8626	0.9399	0.8113
Kno. Mittel 3000Hz	0.3775	0.7461	0.6692	0.4684	0.3561
Knochen PTA	0.2012	0.7076	0.3678	0.4029	0.7663
Air-bone gap 250Hz	0.8443	<u>0.0577</u>	0.2873	0.6388	0.1241
Air-bone gap 500Hz	0.3454	0.0484	0.1793	0.3843	0.3100
Air-bone gap 1000Hz	0.1985	0.0317	0.1645	0.1850	0.4923
Air-bone gap 2000Hz	0.9464	0.2451	0.5750	0.8230	0.3395
Air-bone gap 4000Hz	0.8438	0.6130	0.9023	0.4028	0.1284

Tabelle 6. Progression Ohr links, Fortsetzung (3)

Frequenz	rs4988235	rs616322	rs627497	rs670358	rs7791481
Luft 125Hz	0.5002	0.8660	0.6082	0.2387	0.7225
Luft 250Hz	0.6740	0.9097	0.3028	0.0317	0.6154
Luft 500Hz	0.8289	0.7353	0.6872	0.1500	0.5920
Luft 1000Hz	0.2631	0.4848	0.4288	0.0419	0.2864
Luft 2000Hz	0.2067	0.7740	0.2864	0.0385	0.2841
Luft 4000Hz	0.0392	0.7463	<u>0.0767</u>	0.0027	0.2994
Luft 8000Hz	<u>0.0862</u>	0.9569	0.9803	0.6454	0.6658
Luft 12000Hz	0.4064	0.9509	0.6770	0.8933	0.8860
Luft Mittel 3000Hz	<u>0.0690</u>	0.7302	0.1381	0.0109	0.1891
Luft RTA	0.2085	0.9409	0.2569	0.0247	0.2750
Knochen 250Hz	0.9315	0.3794	0.3223	0.3374	0.1127

Knochen 1000Hz	0.9943	0.5750	0.6078	0.7335	<u>0.0147</u>
Knochen 2000Hz	0.8030	0.1728	0.5608	0.9664	0.7705
Kno. Mittel 3000Hz	<u>0.0435</u>	0.7690	0.4261	<u>0.0808</u>	0.6570
Knochen PTA	0.1169	0.7572	0.5153	0.2015	0.8897
Air-bone gap 250Hz	0.8651	0.5629	0.7201	0.1003	0.5906
Air-bone gap 500Hz	0.9287	0.5073	0.8797	0.1965	0.3825
Air-bone gap 1000Hz	0.7635	0.4627	0.9043	<u>0.0818</u>	0.2059
Air-bone gap 2000Hz	0.5269	0.9759	0.5824	0.1222	0.6806
Air-bone gap 4000Hz	0.2893	0.7671	0.4376	0.1170	0.7245

Tabelle 7. Haplotyp rechts

Frequenz	Chrom. 7	Chrom. 11
Luft 125Hz	0.3801	0.8919
Luft 250Hz	0.6140	0.4699
Luft 500Hz	0.3563	0.3456
Luft 1000Hz	0.4428	0.6789
Luft 2000Hz	<u>0.0354</u>	0.4637
Luft 4000Hz	<u>0.0687</u>	0.8970
Luft 8000Hz	0.2086	0.8287
Luft 12000Hz	-	-
Luft Mittel 3000Hz	<u>0.0470</u>	0.6464
Luft RTA	0.1702	0.5024
Knochen 250Hz	0.1185	0.1389
Knochen 1000Hz	<u>0.0244</u>	0.5937
Knochen 2000Hz	0.1307	0.7616
Kno. Mittel 3000Hz	<u>0.0607</u>	0.7956
Knochen PTA	0.1035	0.8201
Air-bone gap 250Hz	0.8235	0.7353
Air-bone gap 500Hz	0.1554	0.8158
Air-bone gap 1000Hz	0.3995	0.2482
Air-bone gap 2000Hz	0.2446	0.1634
Air-bone gap 4000Hz	0.7367	0.3593

Tabelle 8. Haplotyp links

Frequenz	Chrom. 7	Chrom. 11
Luft 125Hz	0.6460	0.5043
Luft 250Hz	0.9117	0.3533
Luft 500Hz	0.9083	0.8140
Luft 1000Hz	0.9360	0.7020
Luft 2000Hz	0.8887	0.3946
Luft 4000Hz	0.8200	<u>0.0641</u>
Luft 8000Hz	0.4733	<u>0.0346</u>
Luft 12000Hz	0.1755	0.8035
Luft Mittel 3000Hz	0.8499	0.2137
Luft RTA	0.9495	0.4359
Knochen 250Hz	0.8830	0.4098
Knochen 1000Hz	0.5367	0.6463
Knochen 2000Hz	0.6704	0.8601
Kno. Mittel 3000Hz	0.9638	0.4846
Knochen PTA	0.7785	0.7056
Air-bone gap 250Hz	0.5382	0.6047
Air-bone gap 500Hz	0.4937	0.7331
Air-bone gap 1000Hz	0.4582	0.6950
Air-bone gap 2000Hz	0.3930	0.6220
Air-bone gap 4000Hz	0.1242	0.4648

6. Diskussion

Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen genetischem Risiko und der Erkrankung an Otosklerose hergestellt werden. Um diesen Trend eindeutig nachzuweisen, braucht es eine grössere Stichprobe. Die genetischen Effekte für komplexe Erkrankung sind meistens klein, aber ermuntern diese Resultate zu bestätigen. In einer Gesamtauswertung dieser Multicenter Studie könnten durchaus wichtige Erkenntnisse gewonnen werden.

Da die SNP für LCT nicht signifikant war, können artifizielle Resultate aufgrund einer inhomogenen Verteilung der Bevölkerung ausgeschlossen werden [49]. Es zeigte sich, dass die rekrutierte Population für die Anforderungen dieser Studie hinsichtlich ihrer Homogenität geeignet war. Eine inhomogene Population könnte zu diversen falsch positiven Assoziationen führen.

Die SNPs in TGFB sind sehr selten. Für die Schweizer Population konnten so keine statistisch relevanten Daten gewonnen werden. Es ist auch anzumerken, dass nur eine in früheren Studien signifikante SNP (rs1800472) von TGFB getestet wurde, im Gegensatz zu vier bis sieben in diesen Studien nicht signifikanten SNPs [49]. Insgesamt nahmen dort auch viel mehr Patienten teil (632 Belgier oder Holländer, 457 Franzosen). Entweder ist die Schweizer Population zu klein für den Nachweis der TGFB-Mutation oder eine andere genetische Veränderung ist hier für die Entstehung der Otosklerose verantwortlich.

Auch für BMP2 und 4 ist die Population wie oben erwähnt im Vergleich zu anderen Studien eher zu klein. Diese zwei SNPs zeigten in früheren Studien (neben einem weiteren falsch positiven Marker) in einer Gruppe von 13 analysierten SNPs einzig ein signifikantes Resultat [60].

Obwohl in der Schweizer Population die SNPs für BMP2 und TGFB nicht signifikant waren, könnten sie einen Trend zur Assoziation zeigen, wenn die Daten mit zwei anderen kleinen Populationen wie z.B. Rumänien und Italien kombiniert werden. Unsere Resultate unterstützen die These, dass Polymorphismen in der TGF- β Superfamilie, zu der auch BMP2 und 4 gehören, eine bedeutende Rolle für das Erkrankungsrisiko an Otosklerose darstellen [60]. Diese Mitglieder der Superfamilie sind kritische Regulatoren der Knochenbildung. Zum Beispiel inhibiert TGF- β 1 nachweislich die Expression

von BMP2-mRNA in Kulturen von fetalen Rattenschädelknochen-Osteoblasten, während BMP2 die Genexpression von TGFB1 in normalen humanen Osteoblasten-artigen Zellen verstärkt [60]. Genetische Varianten in BMP2 sind assoziiert mit tiefer Knochendichte in Isländischen, Koreanischen und Dänischen Populationen. BMP2 ist ausserdem auch assoziiert mit Arthrose [60]. Der funktionelle Nachweis von Proteinmutationen, welche mit TGF- β interagieren, kann uns Einsicht geben in die Pathophysiologie der Otosklerose. Diese Erkenntnisse können zur Entwicklung von neuen therapeutischen Massnahmen zur Linderung und Heilung der Otosklerose führen.

Eine Geschlecht-Genotyp Interaktion wurde nicht berechnet, da in einer grossen Studie mit ähnlicher Fragestellung keine signifikanten Resultate gewonnen werden konnten [60].

Für den bilateralen Befall wäre ein genetisches Risiko zu erwarten, was sich in einer Studie mit grösseren Patientenzahlen zeigen könnte. Wir haben keine publizierte Arbeit gefunden, welche sich mit dieser Fragestellung bisher befasst hätte.

Eine erhöhte Progressionsgeschwindigkeit des Hörverlustes bei positiven Risikofaktoren wurde nachgewiesen. Dies ist jedoch nur ein Trend, welcher mit einer grösseren Stichprobe bestätigt werden müsste. Auch hier haben wir keine vergleichbare Arbeit gefunden, welche sich mit dieser Fragestellung bisher befasst hätte.

7. Abkürzungen

BMP	Bone Morphogenetic Protein
DNA	Desoxy-Ribonucleic Acid
dB	Dezibel
domrec	dominant-rezessives Modell, anstelle des üblichen additiven Modells
HLA	Human Leukocyte Antigen
LCT	Lactase Gen
LOD	Logarithm of the Odds
LRT	Likelihood Ratio Test
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
PCR	Polymerase Chain Reaction
RTA	Reintonaudiogramm
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
TGFB	Transforming Growth Factor Beta 1
WGA	Whole Genome Association

8. Literaturverzeichnis

1. Becker W and N. HH, *Hals-Nasen-Ohrenheilkunde*. 1986, Stuttgart: Thieme. 115-116.
2. Jonson W, *Hearing aids and otosclerosis*. Otolaryngol Clin North Am, 1993. **26**: p. 491-502.
3. Berghaus A, Rettinger G, and B. G, *Hals-Nasen-Ohrenheilkunde*. 1996, Stuttgart: Hippokrates. 154.
4. Niedermeyer HP and A. W, *Untersuchungen zu einer möglichen Masernviruspersistenz in der Otosklerose*. Otorhinolaryngologie, 1999. **9**: p. 87-91.
5. Arnold W and N. HP, *Measles virus in otosclerosis and the specific immune response of the inner ear*. Acta Otorhinolaryngol (Stockh), 1996. **116**: p. 705-709.
6. Arnold W and N. HP, *Zur Pathogenese der Otosklerose*. HNO, 1996. **44**: p. 121-129.
7. Niedermeyer HP and e. al, *Otosclerosis: A measles virus associated inflammatory disease*. Acta Otorhinolaryngol (Stockh), 1995. **115**: p. 300-303.
8. Arnold W and e. al, *Die Otosklerose: Eine durch Paramyxoviren unterhaltene Entzündungsreaktion*. HNO, 1989. **37**: p. 236-241.
9. McKenna MJ and M. BG, *Ultrastructural and immunohistochemical evidence of measles virus in active otosclerosis*. Acta Otorhinolaryngol (Stockh), 1990. **470**: p. 130-140.
10. James WH, *Sex ratios in otosclerotic families*. J Laryngol Otol, 1989. **103**: p. 1036-1039.
11. Gordon MA, *The genetics of otosclerosis*. Am J Otol, 1989. **10**: p. 426-438.
12. Drira M. in *Etude génétique et localisation d'un gène du 106e Congrès français d'oto-rhinolaryngologie et de chirurgie de la face et du cou*. 1999. Paris.
13. Tomek MS, *Localisation of a gene for otosclerosis to chromosome 15q25-126*. Hum Mol Genet, 1998. **7**: p. 285-290.
14. Arnold W and F. W, *Presence of virus-specific antigens (measles, rubella) around the active otosclerotic focus*. Laryngol Rhinol Otol, 1987. **66**: p. 167.
15. McKenna MJ, *Filamentous structures morphologically similar to viral nucleocapsids in otosclerotic lesions in two patients*. Am J Otolaryngol, 1986. **7**: p. 25.
16. Guild SR, *Incidence, location and extent of otosclerotic lesions*. Arch Otolaryngol, 1950. **52**: p. 848-861.
17. Guild SR, *Histologic otosclerosis*. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1944. **53**: p. 246.
18. Linthicum F, *Histopathology of otosclerosis*. Clin North Am, 1993. **26**: p. 335-353.
19. Sabintha R, *Genetics of otosclerosis*. Laryngol Otol, 1997. **11**: p. 109-112.
20. Häusler R, *Fortschritte in der Stapeschirurgie*. Laryngorhino-otologie, 2000. **79 (suppl 2)**: p. 95-139.
21. Morrison AW, *Genetic factors in otosclerosis*. Ann R Coll Surg Engl, 1967. **41**: p. 202-237.
22. Zenner HP and W. B, *Einnahme von Oestrogenen bei Otosklerose*. NHO, 1994. **42**: p. 374.

23. Bernstein DS, et al., *Prevalence of osteoporosis in high and low fluoride areas in North Dakota*. JAMA, 1966. **198**: p. 499-504.
24. Shambaugh GE Jr and S. A., *Sodium fluoride for arrest of otosclerosis*. Arch Otolaryngol, 1964. **80**: p. 263-270.
25. Ramsay HA and L. FH, *Mixed hearing loss in otosclerosis: Indication for long-term follow-up*. Am J Otol, 1994. **15**: p. 536-539.
26. Bretlau P, *Otospongiosis and sodium fluoride*. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1985. **94**: p. 103-107.
27. Causse JR, et al., *Enzymology of otospongiosis and NaF therapy*. Am J Otol, 1980. **1**: p. 206-214.
28. Shea JJ, Ge X, and O. DJ, *Endolymphatic hydrops associated with otosclerosis*. Am J Otol, 1994. **15**: p. 348-357.
29. Kerr GS and H. GS, *Fluoride therapy for otosclerosis*. Ear Nose Throat, 1988. **68**: p. 426-429.
30. Rauch SD and B. ML, *Argon laser stapedectomy: Comparison to traditional fenestration techniques*. Am J Otol, 1992. **13**: p. 556-560.
31. Farrior J and S. A., *Revision stapes surgery*. Laryngoscope, 1991. **101**: p. 1155-1161
32. Han WW, et al., *Revision stapedectomy: Intraoperative findings, results and review of the literature*. Laryngoscope, 1997. **107**: p. 1185-1192.
33. Häusler R and M. A., *Experimental and clinical results of fiberoptic argon laser stapedotomy*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 1996. **253**: p. 193.
34. Schär PJ and H. R., *Erbium-Laser-Stapedotomie mit fiberoptischem Mikrohandstück (Sonderdruck)*. Aktuelle Probleme der Otorhinolaryngologie ORL, 1998. **21**: p. 107-116.
35. Stahle J, *Incidence of Ménière's Disease*. Arch Otolaryngol, 1978. **104**: p. 99-102.
36. Statistik, S.B.f., *Veränderung der Geburtenrate*.
37. Birkhäuser M and B. W., *Guidlines for estrogen and gestagen replacement in the climacteric postmenopause*. Gynäkol Geburtshilfliche Rundsch, 1999. **39**: p. 133-135.
38. Cerel-Suhl SL and Y. BF, *Update on oral contraceptive pills*. Am Fam Physician, 1999. **60**: p. 2073-2084.
39. Allen ED, *Pregnancy and otosclerosis*. Am J Obstet Gynecol, 1945. **49**: p. 32.
40. Elbrod O, *Otosclerosis and pregnancy*. Clin Otolaryngol, 1979. **4**: p. 59.
41. Neuner NT and H. R., *Epidemiologie der Otosklerose in den vergangenen 20 Jahren*. Otorhinolaryngol Nova, 2001. **11**: p. 123-129.
42. Bel Hadj Ali I, Van Camp G, and e. al, *A new locus for otosclerosis, OTSC8, maps to the pericentromeric region of chromosome 9*. Hum Genet, 2008. **123**: p. 267-272.
43. Brownstein Z, Avraham KB, and e. al, *Chromosomal mapping and phenotypic characterization of hereditary otosclerosis linked to the OTSC4 locus*. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2006. **132**: p. 416-424.
44. Burmeister M, *Basic Concepts in the Study of Diseases with Complex Genetics*. Biol Psychiatry, 1999. **45**: p. 522-532.

45. Cardon LR and B. JL, *Association study designs for complex diseases*. Nature reviews, 2001. **2**: p. 91-99.
46. Ceclau F, Van Camp G, and e. al, *Phenotype-genotype correlations in otosclerosis: clinical features of OTSC2*. Adv Otorhinolaryngol, 2007. **65**: p. 114-118.
47. Chen W, Smith RJH, and e. al, *Linkage of otosclerosis to a third locus (OTSC3) on human chromosome 6p21.3-22.3*. J Med Genet, 2002. **39**: p. 473-477.
48. Cordell HJ and C. DG, *Genetic association studies*. Lancet, 2005. **366**: p. 1121-1131.
49. Thys M, Van Camp G, and e. al, *The coding polymorphism T263I in TGF-beta1 is associated with otosclerosis in two independent populations*. Human Molecular Genetics, 2007. **16**: p. 2021-2030.
50. Thys M, Van Camp G, and e. al, *A seventh locus for otosclerosis, OTSC7, maps to chromosome 6q13-16.1*. Eur J Hum Genet, 2007. **15**: p. 362-368.
51. Van Den Bogaert K, *Genetic research on monogenic and complex forms of otosclerosis*, in *Biomedische Wetenschappen*. 2004: Antwerpen.
52. Van Den Bogaert K, Van Camp G, and e. al, *A Second Gene for Otosclerosis, OTSC2, Maps to Chromosome 7q34-36*. Am J Hum Genet, 2001. **68**: p. 495-500.
53. Van Den Bogaert K, Van Camp G, and e. al, *Otosclerosis: A Genetically Heterogeneous Disease Involving at Least Three Different Genes*. Bone, 2002. **30**: p. 624-630.
54. Van Den Bogaert K, V.C.G., et al, *A fifth locus for Otosclerosis, OTSC5, Maps to Chromosome 3q22-24*. J Med Genet, 2004. **41**: p. 450-453.
55. Browning GG and G. S, *Sensorineural hearing loss in stapedial otosclerosis*. Ann Otol Rhinol Laryngol, 1984. **93**: p. 13-16.
56. Dahlqvist A, et al., *GC serum groups and otosclerosis*. Acta Otolaryngol, 1991. **111**: p. 1105-1108.
57. Gregoriadis S, et al., *HLA antigens and otosclerosis. A possible new genetic factor*. Arch Otolaryngol, 1982. **108**: p. 769-771.
58. Willing MC, et al., *Osteogenesis imperfecta type I is commonly due to a COL1A1 null allele of type I collagen*. Am J Hum Genet, 1992. **51**: p. 508-515.
59. McKenna MJ, et al., *Association of COL1A1 and otosclerosis: evidence for a shared genetic etiology with mild osteogenesis imperfecta*. Am J Otol, 1998. **19**: p. 604-610.
60. Schrauwen I, et al., *Association of bone morphogenetic proteins with otosclerosis*. J Bone Miner Res, 2008. **23**: p. 507-516.

9. Verdankungen

Ich möchte mich bei Herrn PD Dr. med. A. Huber für die kontinuierliche Betreuung dieser Arbeit und die gute Zusammenarbeit herzlich bedanken.

Zusätzlich bedanke ich mich bei:

- den teilnehmende Patientinnen und Patienten
- Herrn Prof. R. Probst
- Herrn Prof. G. van Camp, Frau I. Schrauwen (Belgien)
- Laborantin Frau V. Hoffmann
- Direktion und Sekretariat ORL Zürich, insbesondere Frau A.-M. Montagnini und Frau R. Jauch
- ORL-Informatik
- Team der ORL-Poliklinik, -Empfang und -Administration

10. Curriculum Vitae

Viktor Paul Martos von Zürich

21.7.1982	Geboren in Zürich, Bürger der Stadt Zürich
1989-1995	Primarschule in Zürich
1995-2002	Gymnasium Kantonsschule Zürich-Oerlikon (Maturität Typus B)
2002-2008	Studium der Humanmedizin Universität Zürich
10/2008	Staatsexamen an der Universität Zürich