

Aus der Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. h.c. Jörg Schipper

Polymorphismen bei Toll-like-Rezeptoren (TLR) 2, 4, 5 und 9 bei Patienten mit chronischer
Rhinosinusitis mit/ohne Polyposis nasi und allergischer Rhinitis

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
vorgelegt von:

Matthias Pibiri

2020

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: PD Dr. med. Kathrin Scheckenbach

Zweitgutachterin: PD Dr. med. Christiane Matuschek

Meiner Frau Nicole

Zusammenfassung

Toll-like-Rezeptoren (TLR) gehören zur Familie der *Pattern Recognition Receptors* und sind als wesentlicher Bestandteil des angeborenen Immunsystems an der primären Immunantwort maßgeblich beteiligt.

Durch Aktivierung verschiedener, teils hochkomplexer Signalkaskaden und dadurch initiierte Sekretion proinflammatorischer Zytokine interagieren sie mit dem erworbenen Immunsystem und tragen zur Genese und Aufrechterhaltung verschiedener, immunologisch aktiver Krankheiten bei.

Die chronische Sinusitis (ohne Polyposis nasi [CRSsNP]), die chronische Sinusitis (mit Polyposis nasi [CRSwNP]) als auch die allergische Rhinitis (AR) zeichnen sich durch eine chronisch entzündliche Reaktion der Schleimhaut der Nase und Nasennebenhöhlen aus, die durch eine multifaktorielle Genese und spezifische Zytokinprofile gekennzeichnet sind.

Gerade bei der chronischen Sinusitis kann die Entzündungsreaktion durch zusätzliche bakterielle und virale Superinfektionen beeinflusst werden (z. B. durch *Staphylococcus aureus*). Außerdem weist die Pathogenese der chronischen Sinusitis eine große Ähnlichkeit zur Pathogenese des Asthma bronchiale auf. Da eine genetische Prädisposition für Asthma bronchiale mit dem Vorkommen spezifischer Toll-like-Rezeptoren assoziiert werden konnte, ist ein prädisponierender Einfluss vergleichbarer Polymorphismen bei Patienten mit chronischer Sinusitis wahrscheinlich.

In der vorliegenden Pilotstudie wird deshalb die Inzidenz von 23 Varianten ausgesuchter Polymorphismen der TLR 2, TLR4, TLR 5 und TLR 9 bei 194 Patienten mit chronischer Rhinosinusitis mit/ohne Polyposis nasi sowie einer gesunden Kontrollgruppe und Patienten mit einer allergischen Rhinitis untersucht.

Hierbei zeigt sich ein signifikant vermehrtes Auftreten der Varianten TLR2.5743708 ($p = 0,03$) und TLR4.11536884 ($p = 0,001$) bei CRSsNP-Patienten, das sich im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe aber auch im Vergleich zu deren Inzidenz im *1000 Genome Project* darstellen lässt. Bei Patienten mit CRSwNP findet sich im Vergleich zu den Kontrollen und den Angaben im *1000 Genome Project* signifikant häufiger eine Variante des TLR4.4986791 SNP ($p = 0,029$). Bei Varianten des Polymorphismus TLR2.5743704 findet sich bei Patienten mit CRSwNP im Vergleich zu unseren eigenen Kontrollen ein nicht signifikanter Trend, der sich allerdings im Vergleich zum 1KGP als signifikant darstellen lässt ($p = 0,01$).

Die Ergebnisse legen eine unterschiedliche Prädisposition zu chronischer Rhinosinusitis mit und ohne Polyposis durch variante Toll-like-Rezeptoren nahe. Eine Bestätigung in größeren Kohorten ist deshalb anzustreben.

Abstract

Toll-like receptors (TLR) belong to the family of Pattern Recognition Receptors and, as an essential part of the innate immune system, play a key role as far as primary immune response is concerned. By activating various, sometimes highly complex signal cascades and thereby initiating the secretion of pro-inflammatory cytokines, they interact with the acquired immune system and contribute to the genesis and maintenance of various immunologically active diseases.

Chronic sinusitis (without polyposis nasi [CRSsNP]), chronic sinusitis (with polyposis nasi [CRSwNP]) as well as allergic rhinitis (AR) are characterised by a chronic inflammatory reaction of the mucous membrane of the nose and paranasal sinuses. These are characterised by multifactorial genesis and specific cytokine profiles. With chronic sinusitis in particular, the inflammatory response can be influenced by additional bacterial and viral superinfections (e.g. *Staphylococcus aureus*). In addition, the pathogenesis of chronic sinusitis is very similar to the pathogenesis of bronchial asthma. Since a genetic predisposition to bronchial asthma could be associated with the presence of specific toll-like receptors, a predisposing influence of comparable polymorphisms in patients with chronic sinusitis is likely.

In the present pilot study, the incidence of 23 variants of selected TLR 2, TLR4, TLR 5 and TLR 9 polymorphisms in 194 patients with chronic rhinosinusitis with or without nasal polyposis and a healthy control group and patients with allergic rhinitis will therefore be examined. This shows a significantly increased occurrence of the variants TLR2.5743708 ($p = 0.03$) and TLR4.11536884 ($p = 0.001$) with CRSsNP patients, which, compared to the healthy control group, can also be shown in comparison with their incidence in the 1000 Genome Project. Significantly more TLR4.4986791 SNP ($p = 0.029$) variants were found more in patients with CRSwNP in comparison with controls and information in the 1000 Genome Project. With variants of TLR2.5743704 polymorphism, there is no significant trend with CRSwNP patients as compared to our own controls, which, however, can be shown as significant in comparison to 1KGP ($p = 0.01$).

The results suggest a different predisposition to chronic rhinosinusitis with and without polyposis due to variant toll-like receptors. Confirmation in larger cohorts should therefore be pursued.

Abkürzungsverzeichnis

1KGP	<i>1000 Genomes Project</i>
APC	Antigen-präsentierende Zellen
AR	Allergische Rhinitis
ARS	Akute Rhinosinusitis
AS	Aminosäure
ASS	Acetylsalicylsäure
CRS	Chronische Rhinosinusitis
CRSsNP	Chronische Rhinosinusitis ohne Polyposis nasi
CRSwNP	Chronische Rhinosinusitis mit Polyposis nasi
CT	Computertomographie
IL	Interleukin(e)
IRF	<i>Interferon regulatory factor(s)</i>
g	(Newtonsche) Gravitationskonstante
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i>
MyD88	<i>Myeloid differentiation factor 88</i>
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NNH	Nasennebenhöhlen
OTC	<i>Over-the-counter</i>
PAMP	<i>Pathogen associated molecular pattern</i>
PBL	<i>Peripheral Blood Lymphocytes</i>
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i>
RBC	<i>Red-blood-cell</i>
rs-Nummer	<i>Reference SNP</i>
r/min	<i>Revolutions per Minute</i>
SARM/TIR-1	<i>Sterile-alpha and Armadillo motif-containing protein</i>
SD	<i>Standard deviation</i>
SNP	<i>Single nucleotid polymorphism</i>
TIRAP	<i>TIR domain-containing adaptor protein</i>
TLR	<i>Toll-like-Receptor, Toll-like-Rezeptor</i>
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TRAM	<i>TRIF-related adaptor molecule</i>
TRIF	<i>TIR domain-containing adapter protein inducing IFN-β</i>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Toll-like-Rezeptoren	1
1.1.1	TLR im menschlichen Organismus	3
1.1.2	Signalwege der TLR	4
1.2	Rhinosinusitis mit und ohne Nasenpolypen	8
1.2.1	Definition	8
1.2.2	Epidemiologie	9
1.2.3	Klinik der (chronischen) Rhinosinusitis	10
1.2.4	Diagnose	10
1.2.5	Pathophysiologie	12
1.2.5.1	Zytokine/Rezeptoren der angeborenen Immunabwehr	13
1.2.5.2	Allergie/allergische Rhinitis und CRS	14
1.2.5.3	Bakterien/Histologie	15
1.2.5.4	Pilze	15
1.2.6	Therapie	16
2	Fragestellung	18
3	Material und Methoden	19
3.1	Patientenkollektiv/Proben	19
3.2	DNA-Extraktion aus Patientenvollblut	21
3.3	DNA-Extraktion aus Gewebeproben	22
3.4	Photometrische Bestimmung der DNA-Konzentration	23
3.5	Polymerasekettenreaktion und Auftrennung der Produkte	23
3.6	Primerpaare	24
3.7	Vollautomatische DNA-Sequenzanalyse	24
3.8	Auswertung der DNA-Sequenzen	26
3.8.1	Auswahl der Polymorphismen	26
3.9	Materialien	28
3.9.1	Geräte	28
3.9.2	Verbrauchsmaterialien/Kits/Glaswaren	28
3.10	Software/Statistik	30
4	Ergebnisse	31
4.1	TLR Polymorphismen bei gesunden und CRSwNP Patienten	35
4.2	TLR Polymorphismen bei gesunden und CRSsNP-Patienten	37
4.3	TLR Polymorphismen bei gesunden und AR-Patienten	39
4.4	TLR Polymorphismen bei CRSsNP und CRSwNP-Patienten	41
4.5	Vergleich 1KGP mit einzelnen Gruppen	43
4.6	Schlussfolgerungen	44
5	Diskussion	47
5.1	Assoziation von Polymorphismen in TLR 2 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS	47
5.2	Assoziation von Polymorphismen in TLR 4 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS	51
5.3	Assoziation von Polymorphismen in TLR 5 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS	54
5.4	Assoziation von genetischen Polymorphismen in TLR 9 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS	55

5.5	Vergleich der Gruppen mit 1KGP	57
5.6	Fehlermöglichkeiten und Grenzen dieser Studie	58
5.7	Ausblick	58
	Literaturverzeichnis	60

1 Einleitung

1.1 Toll-like-Rezeptoren

Die erfolgreiche Abwehr von schädlichen (Mikro-)organismen basiert im menschlichen Organismus auf dem Zusammenspiel des angeborenen bzw. natürlichen (*innate*) und erworbenen (*adaptive*) Immunsystems. Die Kombination aus einer großen Rezeptorvielfalt der B- und T-Lymphozyten (genetisches Rearrangement) und den in der Keimbahn kodierten Rezeptoren des angeborenen Immunsystems ermöglicht einen optimalen Schutz des jeweiligen Organismus vor Pathogenen (Medzhitov und Janeway, 1998).

Pathogene dringen im Regelfall über Oberflächendefekte der Epithelien ein und vermehren sich anschließend rasch im Organismus. Zu den Mechanismen des *innate* Immunsystems gehören neben Makrophagen und neutrophilen Granulozyten, die einen Großteil der beteiligten Zellen ausmachen, unter anderem auch die Barrierefunktion der oberen Hautschichten und der hauttypische pH-Wert.

Im Gegensatz zu den bereits angesprochenen Rezeptoren des spezifischen Immunsystems, die eine beinahe unendliche Anzahl an Antigenen erkennen können, sind die Rezeptoren des angeborenen Immunsystems, sogenannte *Pattern Recognition Receptors* (PRRs), in ihrem Erkennungsmuster limitiert. Das Repertoire der potenziellen Antigene ist so bereits in der Keimbahn festgelegt.

PRR können grundsätzlich in zwei Kategorien gegliedert werden. Die erste Gruppe (*non-signaling*) ist maßgeblich an der Einleitung der Phagozytose beteiligt. Hierzu zählen unter anderem die Scavenger-Rezeptoren, C-reaktives-Protein oder das Mannan-bindende Lektin (MBL), während sich die zweite Gruppe (*signaling*) aus zahlreichen zytoplasmatischen PRR zusammensetzt, zu denen auch die TLR gerechnet werden. Letztgenannte Gruppe ist vordringlich für die Sekretion pro- und antiinflammatorischer Zytokine zuständig (Kaisho und Akira, 2006).

Toll-like-Rezeptoren, die ihren Namen von dem bei *Drosophila melanogaster* gefundenen Protein „Toll“ erhalten haben, zählen, wie bereits erwähnt, zu der Familie der *Pattern Recognition Receptors*. Bei *Drosophila melanogaster* spielt „Toll“ eine entscheidende Rolle in der Embryonalentwicklung der dorso-ventralen Achse (Anderson et al., 1985) und hat darüber hinaus eine wesentliche Bedeutung bei der Immunabwehr von Pilzinfektionen, speziell des *Aspergillus niger* (Lemaitre et al., 1996; Pandey und Agrawal, 2006). Die Funktion der PRRs

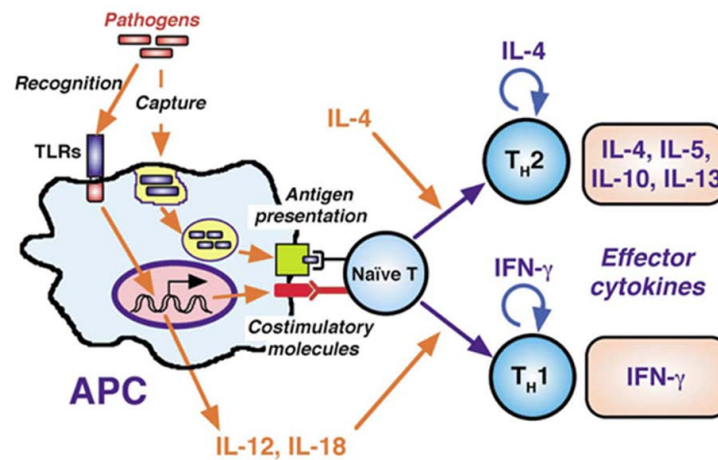


Abb. 1: Zusammenspiel zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem. TLR erkennen spezifische Antigene und präsentieren diese den T-Zellen dann als MHC-Peptid-Komplex auf der Zelloberfläche. Durch ein spezifisches Zytokinmilieu in Verbindung mit weiteren ko-stimulatorischen Molekülen erfolgt eine Differenzierung der naiven T-Zellen in Th1- oder Th2-Zellen. IL-12 ist beispielsweise zusammen mit IL-18 für die Differenzierung zu Th1-Zellen verantwortlich (nach Akira et al. 2001).

besteht darin, spezifische molekulare Strukturen, im Englischen als *pathogen associated molecular patterns* (PAMP) bezeichnet, zu erkennen. Diese können sowohl Bestandteil von endogenen als auch von exogenen Liganden sein. Durch die Erkennung der evolutionär konservierten Muster, die mehrheitlich für Mikroorganismen und Viren einer Art identisch sind, zeigen sie dem Organismus eine Infektion an (Wiersinga und van der Poll, 2005; Schwartz und Cook, 2005).

Als Reaktion auf die Rezeptor/Ligand-Bindung initiieren TLR über verschiedene Signalkaskaden eine Vielzahl von Abwehrmechanismen, die zum einen auf der Produktion von proinflammatorischen Zytokinen wie beispielsweise Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- α beruhen (Cristofaro und Opal, 2006), zum anderen aber auch durch die Beeinflussung der Genexpression (Produktion von Transkriptionsfaktoren) wirksam werden (Colonna, 2007).

1.1.1 TLR im menschlichen Organismus

Bis zum heutigen Tag wurden mindestens elf verschiedene Toll-like-Rezeptoren identifiziert, wobei lediglich für die ersten zehn Rezeptoren das Vorkommen im menschlichen Organismus gesichert scheint (Kaisho und Akira, 2006).

Jeder dieser elf Rezeptoren ist für die Erkennung spezifischer Strukturen, Strukturgruppen oder einzelner Moleküle verantwortlich und bedingt im Folgenden die Produktion proinflammatorischer Zytokine und eine damit verbundene Entzündungsreaktion.

Toll-like-Rezeptoren liegen als Transmembranrezeptoren entweder als Monomer, Heterodimer oder möglicherweise auch als homologes Dimer vor (Akira et al., 2006; Kaisho und Akira, 2006). Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Struktur der einzelnen Toll-like-Rezeptoren.

MONOMER	HETERODIMER	DIMER
TLR 3	TLR 1/2	TLR 2/2
TLR 4	TLR 5/6	
TLR 5	fraglich: TLR 4/5	
TLR 7		
TLR 8		
TLR 9		
TLR10		

Tabelle 1: Übersicht über die Struktur einzelner TLR Aufgliederung der einzelnen TLR nach der Anzahl ihrer Untereinheiten (nach Akira et al. 2006).

Sechs der Rezeptoren befinden sich an der Zellmembran (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 und TLR10), die restlichen vier sind in intrazytoplasmatischen Kompartimenten wie z. B. den Endosomen lokalisiert (TLR3, TLR7, TLR8 und TLR9) (Akira et al., 2006). Kodiert werden die TLR auf verschiedenen Chromosomen. So findet sich TLR 2 auf Chromosom 4, TLR 4 auf Chromosom 9 und TLR 5 und 9 werden auf den Chromosomen 1 und 3 kodiert.

Zahlreiche Liganden wurden im Laufe der letzten Jahre identifiziert. Die hohe Zahl an Liganden ergibt sich aus verschiedenen Gruppen. So kommen für die Rezeptor/Ligand-Bindung sowohl endogene (s. unten) als auch zahlreiche exogene Liganden in Frage. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Vielzahl an exogenen Liganden und die dazugehörigen Rezeptoren. Die Anzahl der bis zum heutigen Zeitpunkt erforschten und entdeckten endogenen Liganden ist wesentlich geringer. Beispiele für bekannte endogene Liganden stellen

die Hitze-Schock-Proteine 60 und 70 sowie Fibrinogen als Agonisten des Toll-like-Rezeptors 4 dar (Akira et al., 2006).

1.1.2 Signalwege der TLR

Die zahlreichen verschiedenen Mustererkennungsrezeptoren (PRR) reagieren mit spezifischen PAMP, was zu einer Aktivierung unterschiedlicher Signalwege führt, die jeweils eine charakteristische Reaktion auf das jeweils gebundene Pathogen bedingen.

Ausgehend von der Primärsequenz ist es möglich, die unterschiedlichen TLR in verschiedene Untergruppen einzuteilen. TLR 1, 2 und 6 erkennen beispielsweise Lipopeptide während TLR der Typen 7, 8 und 9 für die Erkennung von Nukleinsäuren zuständig sind (vgl. Tabelle 2). TLR 4 nimmt eine Sonderstellung ein, er kann strukturell verschiedene PAMP erkennen.

Die selektive Nutzung der einzelnen Proteine ist Voraussetzung für die unterschiedlichen Antworten auf eine Bindung von Agonisten. Mit Ausnahme von TLR 3 ist MyD88 (siehe hierzu Seite 4) ein essenzieller Bestandteil aller TLR Signalwege. Im Anschluss an die Rezeptor/Ligand-Bindung dimerisieren TLR und rekrutieren mit ihrem zytoplasmatischen Anteil spezielle Adapterproteine von denen derzeit fünf bekannt sind (Carty et al., 2006). Es handelt sich hierbei um Moleküle, die ebenfalls eine TIR-Domäne besitzen. Im Einzelnen sind dies:

1. MyD88,
2. TIRAP,
3. TRAM,
4. TRIF und
5. SARM/TIR-1.

Toll-like-Rezeptoren gehören zur Familie der Typ I Membranproteine, die aus einer Ektodomäne von *leucine rich repeats* (LRR) bestehen, die für die PAMP-Erkennung verantwortlich ist. Der zytoplasmatische Teil zeigt strukturelle Ähnlichkeit zu dem des IL-1 Rezeptors und wird daher auch als TIR (Toll/IL-1R-Domäne) bezeichnet (Abbildung 2). Diese stellt einen bedeutenden Bestandteil des Signalweges dar.

Sobald eine Ligandenbindung an den entsprechenden Rezeptor erfolgt ist, werden je nach Rezeptortyp und Signalweg die oben beschriebenen Adaptermoleküle, ebenfalls mit einer

TLR	Bakterien	Pilze	Parasiten	Viren
1	Triacyllipopeptide Diacyllipopeptide Triacyllipopeptide LTA PG Porine Lipoarabinomannan	Zyosan Phospholipomannan Glucuronoxylmannan	tGPI-mutin	Hämagglutinin
2				
3				dsRNA
4	LPS	Mannan Glucuronoxylmannan	Glycoisitolphospholipide	„envelope“ Proteine VSV-G, MMTV-G
5	Flagellin			
6	Diacyllipopeptide LTA	Zyosan		
7				ssRNA
8				ssRNA
9	CpG-DNA		Hemozoin	DNA
10	Ligand?; evtl. Dimerisierung mit TLR 2 (Cristofaro und Opal, 2006); in Mäusen Vorkommen als Pseudogen (Beutler, 2004)			
11	nicht näher bestimmte Bestandteile uropathogener Bakterien			

Tabelle 2: Auswahl wichtiger exogener Liganden der verschiedenen TLR. Gegliedert nach Organismen. LTA (Lipoteichonsäure); ssRNA (*single-stranded RNA*); VSV-G (*vesicular stomatitis virus-glycoprotein*); MMTV-G (*mouse mammary tumor virus surface-glycoprotein*) (modifiziert nach Akira et al. 2006).

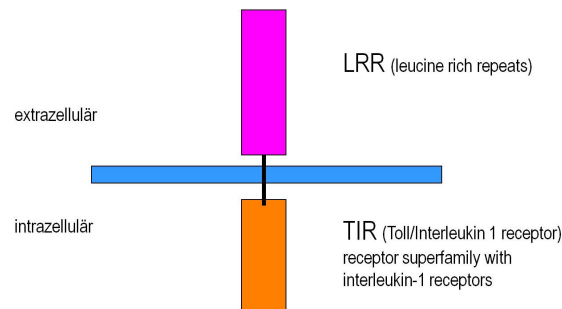


Abb. 2: Schematischer Aufbau eines Toll-like-Rezeptors. Die Ektodomäne, bestehend aus *leucine rich repeats* (LRR), ist für die PAMP-Erkennung verantwortlich. Der zytosolische Teil zeigt strukturelle Ähnlichkeit zu dem des IL-1 Rezeptors und wird daher auch als TIR (Toll/IL-1R-Domäne) bezeichnet.

TIR-Domäne ausgestattet, an den zytosolischen Teil rekrutiert. Der Adapter MyD88 führt über zahlreiche Zwischenschritte und weitere eingeschaltete Regulatorproteine (*IRAK*, *TRAF*) letztlich zu einer Phosphorylierung und Ubiquitinierung des Proteins $I\kappa B$, das seinen Abbau zur Folge hat (Chen, 2005; Terzic et al., 2007).

Dies führt im Folgenden zu einer Freisetzung des Faktors $NF-\kappa B$ aus dem $I\kappa B$ - $NF-\kappa B$ -Komplex. Zusätzlich wird ein weiterer Transkriptionsfaktor mit dem Namen AP1 aktiviert, der ebenso wie $NF-\kappa B$ in den Zellkern transloziert und dort die Produktion inflammatorischer Zytokine ($TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$ und $IL-12$) und Adhäsionsmoleküle (Selektine und Integrine) induziert. Die Aktivierung von AP-1 erfolgt mittels TAK1 über den MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase: p38*, JNK und Erk)-Weg.

Typ I-Interferone (wie z. B. mehrere Subtypen der $IFN-\alpha$) können TRIF/TRAM-abhängig durch die Bindung von Agonisten an TLR 3 bzw. 4 oder, wie auf Abbildung 3 ersichtlich, MyD88 abhängig durch die Rezeptoren TLR 7, 8 und 9 induziert werden. Die beiden weiteren IRF-Faktoren 1 und 5 werden ebenfalls mithilfe von MyD88 aktiviert und sind mitbeteiligt an der Transkription von Typ-I-Interferonen (IRF 1) bzw. inflammatorischen Zytokinen (IRF 5) (Colonna, 2007).

Das auf Seite 4 beschriebene Molekül SARM/TIR1 (in Abbildung 3 nicht dargestellt) stellt im menschlichen Organismus einen Negativregulator im Gefüge des TLR-Signalweges dar und interagiert mit TRIF (Carty et al., 2006).

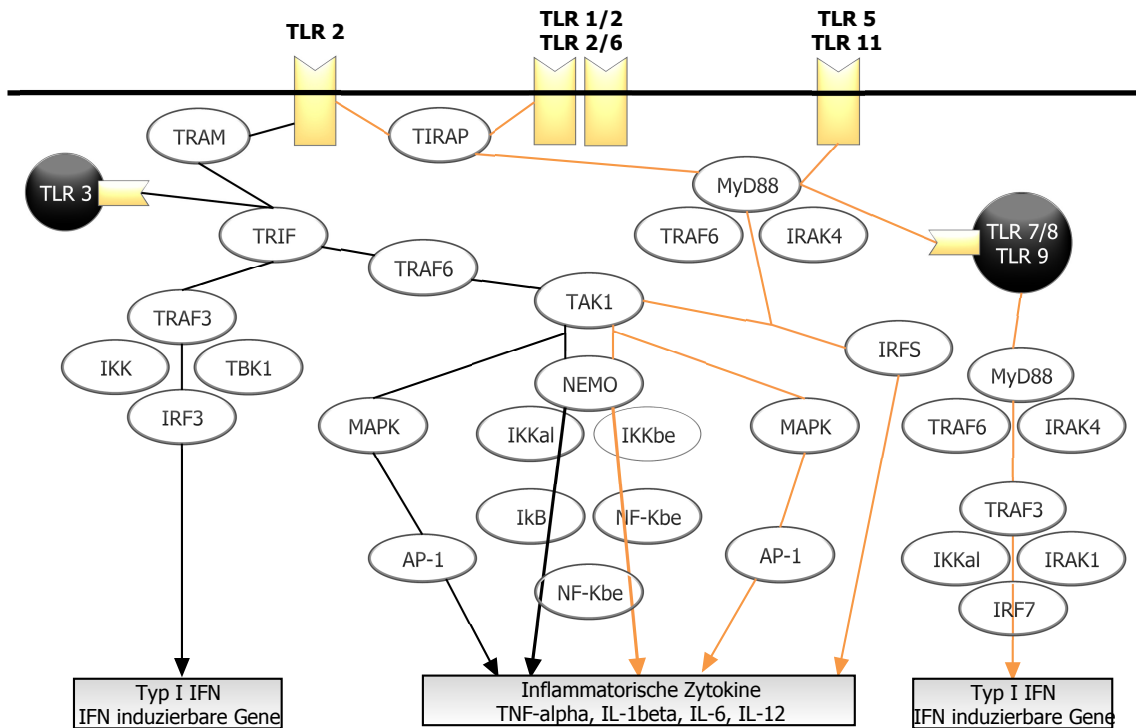


Abb. 3: TLR-Signalweg. Nach Bindung des entsprechenden Liganden erfolgt die Rekrutierung der Adapterproteine (MyD88, TIRAP, TRAM und TRIF) und über die beiden verschiedenen Signalwege (schwarze bzw. gelbe Pfeile, Details siehe Text) die Freisetzung von NF-κB und die Produktion proinflammatorischer Proteine. (modifiziert nach [Kawai und Akira 2007](#)).

1.2 Rhinosinusitis mit und ohne Nasenpolypen

1.2.1 Definition

Die akute und chronische Rhinitis und Sinusitis sind Krankheitsbilder, die oft nicht eindeutig und streng zu trennen sind. Auf Grund der engen anatomischen Verbindung und der häufigen Koexistenz beider Erkrankungen spricht man heutzutage in Abhängigkeit von der Dauer von akuter bzw. chronischer Rhinosinusitis (CRS) (Fokkens et al., 2005).

Der Rhinosinusitis liegt eine entzündliche Reaktion der Nasenschleimhaut sowie der Nasennebenhöhlen zu Grunde. Bei der chronischen Verlaufsform kann klinisch eine Rhinosinusitis mit und ohne Polypen (CRSwNP und CRSsNP) unterschieden werden (Thompson, 2007).

Bei der chronischen Rhinosinusitis nasi handelt es sich um ödematöse Schleimhautschwellungen der Nasennebenhöhlen und der Nasenschleimhaut, die häufig zur Obstruktion der Nasennebenhöhlen führt. Eine Polyposis nasi kommt meist im mittleren Nasengang klinisch zur Darstellung.

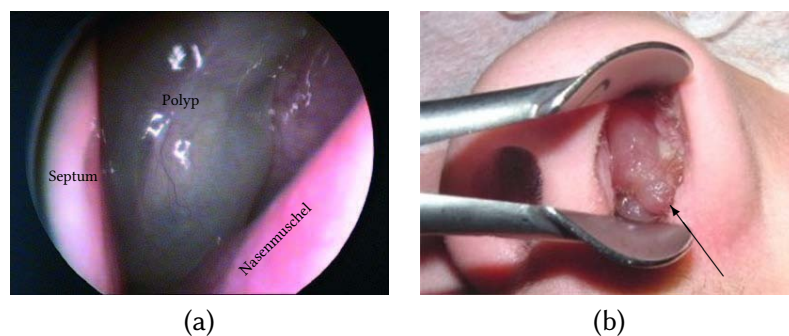


Abb. 4: Nasenpolypen. (a) zeigt eine endoskopische Aufnahme eines gräulich schimmernden Polypen im Bereich der mittleren Nasenmuschel (modifiziert nach Rinia et al. 2007) (b) zeigt einen großen Polypen (→) der linken Nasenhöhle bei Untersuchung mittels eines Nasenspekulums (eigenes Bildmaterial).

Die Einteilung der CRS kann anhand verschiedener Parameter wie z. B. Dauer der Erkrankung, Histopathologie oder immunologischen Gesichtspunkten vorgenommen werden. In der Klinik erfolgt die Klassifikation derzeit häufig nach Dauer und Frequenz der Beschwerden und weniger nach deren Ätiologie, wobei sich die folgenden Formen abgrenzen lassen (vgl. hierzu Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde,

Kopf-Hals-Chirurgie/AWMF-Leitlinien-Register Nr. 017/049):

akute Rhinosinusitis:	Symptomatik < 12 Wochen <u>und</u> < 4 Episoden/Jahr
akut rezidivierende Rhinosinusitis:	> 4 Episoden/Jahr mit vollständiger Rückbildung der Symptomatik
chronische Rhinosinusitis:	Symptomatik > 12 Wochen <u>oder</u> > 4 Episoden/Jahr mit Restsymptomatik.

1.2.2 Epidemiologie

Die chronische Rhinosinusitis zählt zu den Erkrankungen mit hoher Prävalenz und damit einhergehender hoher volkswirtschaftlicher Bedeutung. In der Bundesrepublik Deutschland zeigt die Rhinosinusitis eine Prävalenz von etwa 10-15 %, wobei etwa 1/3 aller Patienten an einer chronischen Rhinosinusitis leiden, während die restlichen 2/3 von der akuten Form betroffen sind (Baumann et al., 2006, 2007).

In den USA besteht eine ähnliche Situation. Die Rhinosinusitis zählt mit einer Prävalenz von ebenfalls etwa 15 % zu den häufigsten chronischen Erkrankungen, beinahe gleichauf mit den großen Volkskrankheiten wie arterieller Hypertonie oder degenerativen, orthopädischen Erkrankungen (Wolf-Maier et al., 2003; Pade, 2005).

Diese Daten lassen in beiden Ländern eine ähnliche Situation vermuten. Mit Blick auf die direkten und indirekten Kosten, die eine chronische Rhinosinusitis in den USA verursacht, fällt die große volkswirtschaftliche Bedeutung der Erkrankung auf. Im Jahr 2001 fielen aufgrund der Diagnose CRS 73 Millionen Arbeitstage aus und das amerikanische Gesundheitssystem wurde beispielsweise im Jahre 1996 mit 5,8 Milliarden \$ belastet (Ray et al., 1999). Neuere Daten verdeutlichen, dass es sich um ein zunehmendes Problem handelt. Im Jahre 2016 mussten für die Folgen der CRS (direkte Kosten) 11,7 Milliarden \$ aufgewendet werden (Rudmik, 2017).

Zahlen aus vergleichbaren Zeiträumen in Deutschland zeigen, dass auch hierzulande die CRS eine hohe wirtschaftliche Bedeutung hat, so wurden im Jahr 2001/2002 etwa 100 Millionen € für Arzneimittelausgaben im ambulanten Sektor aufgewendet (Pade, 2005).

1.2.3 Klinik der (chronischen) Rhinosinusitis

Für den Betroffenen sind vor allem die CRS mit und ohne Polypen aufgrund der Symptome regelhaft mit einem hohen Leidensdruck verbunden. Zu den häufig auftretenden und damit im Vordergrund stehenden Symptomen zählen unter anderem die nasale Obstruktion (evtl. mit gesteigerter Sekretion), ein Druckgefühl und/oder Schmerzen im Bereich von Stirn und Wangen, vermehrter nasopharyngealer Sekretfluss (*postnasal drip*) sowie ein eingeschränktes Riechvermögen. Zu den genannten Symptomen kommen meist noch weitere unspezifische Symptome wie Unwohlsein, Kopfschmerzen, gehäuftes Niesen und Husten oder Abgeschlagenheit hinzu.

Durch die Vielzahl möglicher Symptome wird deutlich, daß die Lebensqualität (*Quality of life*, QOL) der betroffenen Patienten erheblich eingeschränkt ist. Mehrere, teils prospektive Studien konnten zeigen, dass neben einer psychischen und physischen Beeinträchtigung häufig auch eine Beeinträchtigung im sozialen Umfeld der Patienten vorliegt (Cunningham et al., 2000; Kinney und Benninger, 2007).

In den letzten Jahren wurden zunehmend Messinstrumente entwickelt, an Hand derer es möglich sein soll, den Verlust an Lebensqualität messbar und somit objektivierbar zu machen. Ein exemplarisch ausgewähltes Beispiel ist der *Sinonasal-outcome-Test-20 GAV* (SNOT-20 GAV), der auf dem amerikanischen *Rhinosinusitis Outcome Measure - Test* (RSOM) basiert (Piccirillo et al., 1995). Der SNOT-20 GAV Test beruht auf der Beantwortung von 20 Einzelfragen, deren Punkte dann zu einem Gesamtscore addiert werden. Mithilfe zusätzlicher Berechnungen wird eine Einschätzung der Beeinträchtigung des Patienten ermöglicht (Piccirillo et al., 2002; Baumann et al., 2007).

1.2.4 Diagnose

Neben der typischen Anamnese können in der HNO-ärztlichen Spiegeluntersuchung wässrige oder putride Rhinorrhoe, hyperplastische Nasenmuscheln, gerötete Schleimhäute und/oder Polypen dargestellt werden. Weiterhin ist eine Computertomografie der Nasennebenhöhlen zur Komplettierung der Diagnostik und zur Planung einer ggf. notwendigen Operation unabdinglich. Sie bietet die Möglichkeit, bei einer guten Auflösung im Bereich der knöchernen Strukturen, Veränderungen der Nasennebenhöhlen mit hoher Sensitivität

zu erkennen (Abbildung 5). Die notwendige Knochendarstellung gelingt mit der Magnetresonanztomografie (MRT) nicht, daher kann die CT als Goldstandard in Bezug auf die Diagnosestellung einer CRS betrachtet werden (Zinreich, 2004).

Die Computertomografie kann ebenfalls zur Klassifikation einer CRS herangezogen werden. So existieren im angloamerikanischen Raum verschiedene Klassifikationssysteme, die auf den erhobenen CT-Befunden basieren. Beispiele dieser Klassifikationssysteme, auf die jedoch nicht näher eingegangen werden soll, sind das *Kennedy Staging System for chronic and recurrent Sinusitis*, das *Levine and May staging system for chronic Rhinosinusitis* sowie der *Lund-Mackay-Index*.

Ultraschallgestützte Untersuchungsverfahren die, wie in anderen Fachdisziplinen auch, stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig sind, haben nur eine eingeschränkte Aussagekraft.

Die Darstellung der Nase und ihrer Nebenhöhlen mittels konventioneller Röntgentechnik kann vorhandene Sekretspiegel oder Verschattungen der NNH darstellen, erfasst aber in der Regel nicht das Krankheitsbild in seiner Komplexität und wird durch die CT heutzutage zumeist ersetzt.

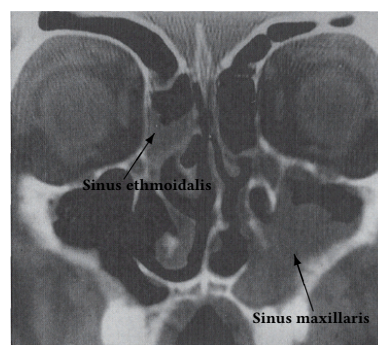


Abb. 5: Computertomografie Sinusitis maxillaris. Koronares CT-Bild eines Patienten mit Verschattungen im Bereich des linken Sinus maxillaris und der rechten Cellulae ethmoidales (modifiziert nach Zinreich 2004).

Geruchs- und Geschmackstest sowie die Durchführung einer Rhinomanometrie oder einer Allergiediagnostik können wertvolle diagnostische Zusatzinformationen liefern. Allergien sind koinzidenziell oft bei Patienten mit CRS vorhanden. Die Allergiediagnostik wird deshalb in der Regel als Stufendiagnostik angewendet. Zum Screening wird ein kutaner Prick-Test (Nachweis einer Typ I-Allergie) verwendet. Eine systemische Sensibilisierung kann mittels Bestimmung spezifischer IgE-Antikörper im Serum des Patienten verifiziert

werden. Die Reaktivität der Nase als Organ kann durch eine nasale Allergenprovokation und rhinomanometrische Messungen des nasalen Flows vor- und nach Applikation des Allergens dargestellt werden. Zusätzlich sollte das Vorliegen eines Asthma bronchiale überprüft werden, von dem ein erheblicher Anteil der Patienten mit CRS betroffen ist. Dies kann einerseits als exogenes (allergisches) Asthma vorliegen, andererseits aber auch als intrinsisches Asthma im Rahmen einer Analgetikaintoleranz (ASS) auftreten. Verallgemeinernd wird hier häufig stellvertretend von NERD (*Nonsteroidal anti-inflammatory drugs-exacerbated respiratory disease*) gesprochen. Hiermit wird dem Umstand Rechnung getragen, dass neben ASS auch andere NSAR an der Ausbildung eines Asthmas beteiligt sein können.

Mikrobiologische Diagnostik im Sinne eines Abstriches mit Erreger- und Resistenzbestimmung erfolgt bei unklarer Wertigkeit nur selten und ist vordringlich bei bekannter oder vermuteter Immunsuppression angezeigt.

1.2.5 Pathophysiologie

Die akute Rhinosinusitis wird als entzündlicher Prozess der Nasenschleimhaut bzw. der NNH zu einem großen Anteil von Viren verursacht. Als mögliche Erreger der akuten Rhinosinusitis gelten unter anderem Rhino-, Influenza- und Parainfluenzaviren (Pade, 2005). Zusätzlich oder alternativ zu einer bereits bestehenden viralen Rhinitis kann eine bakterielle Infektion vorliegen.

Die Ätiologie der CRS ist, im Vergleich zu der akuten Rhinosinusitis, bedeutend uneinheitlicher und noch nicht hinreichend geklärt und daher bis heute Gegenstand intensiver Forschung. Allgemein können die Ursachen für eine CRS in mechanische und immunologische (die Nasenschleimhaut betreffende) Gesichtspunkte eingeteilt werden. Ein Großteil der Fälle bleibt gleichwohl bis heute ätiologisch ungeklärt und wird nicht selten unter „konstitutioneller Schleimhautschwäche“ zusammengefasst (Wagenmann, 2002). Zu den möglichen mechanischen Ursachen zählen z. B. anatomische Normvarianten wie Septumdeviationen oder Veränderungen der lateralen Nasenwand, die häufig jedoch nur endoskopisch oder im Computertomogramm erkennbar sind.

Die überwiegende Zahl der Fälle einer CRS geht auf eine Kombination von anatomischen Formvariationen und der pathologischen Entzündungsreaktion der Nasen- bzw. Nasennebenhöhlenschleimhaut zurück. Da durch die heutigen Operationstechniken eine Vielzahl

der anatomischen Varianten operativ angegangen und korrigiert werden kann, ist die immunologische Komponente der CRS in das Zentrum der Forschung gerückt (Wagenmann, 2002).

Zusätzlich zu beachten ist, dass entzündliche Veränderungen der Nasenschleimhaut auch im Rahmen von systemischen Erkrankungen zu finden sind. Sie treten unter anderem im Rahmen der Mukoviszidose, Sarkoidose oder als Begleiterscheinung von Vaskulitiden (M. Wegener, Churg-Strauss-Syndrom, Lupus erythematoses) auf.

Nachfolgend soll, in stark verkürzter Form, ein Überblick über die potenziellen Ursachen der CRS gegeben werden. Dies geschieht ohne den Anspruch auf Vollständigkeit und mit dem Wissen, dass es mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht möglich ist, einen einzelnen Faktor als Auslöser zu bestimmen. Vielmehr ist die Kombination verschiedener Faktoren vermutlich ursächlich für die Erkrankung.

Als mögliche auslösende Faktoren kommen (neben zahlreichen weiteren) folgende in Betracht: Allergien, Bakterien, Pilze, Erkrankungen des Immunsystems und Arzneimitteltoleranz (ASS) (Meltzer et al., 2004).

1.2.5.1 Zytokine/Rezeptoren der angeborenen Immunabwehr

Als Zytokine werden im menschlichen Organismus eine Vielzahl von strukturell und funktionell unterschiedlichen Peptiden bezeichnet, die maßgeblich an der Steuerung der Immunantwort beteiligt sind. Produziert werden sie beispielsweise von Makrophagen, B- und T-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen und Fibroblasten. Zytokine können sowohl eine autokrine, parakrine als auch endokrine Wirkung besitzen und regulieren über komplexe Mechanismen unter anderem die Peptidsyntheseleistung von Zellen, deren Lebensdauer sowie die Gewebemigration. Im Rahmen der CRS kommt es zu zahlreichen und komplexen Interaktionen, so dass Zytokinen und dem angeborenen Immunsystem eine Schlüsselrolle zu Teil wird.

Die Epithelzellen der Nasenschleimhaut sind, neben ihrer Funktion als physikalische Barriere, auch für die Freisetzung von Chemo- und Zytokinen verantwortlich. Diese wiederum aktivieren dann weitere Abwehrzellen und/oder entzündungsfördernde Mediatoren (Claeys et al., 2003; Schleimer et al., 2007; Schleimer, 2017) und tragen so (mit) zur Entstehung der CRS bei.

Aufgrund der Vielfalt und Heterogenität ist eine genaue Einteilung der beteiligten Botenstoffe schwierig. Eine mögliche Einteilung ist hier stark verkürzt aufgeführt (nach [Bachert und Holtappels \(2015\)](#); [Boita et al. \(2016\)](#); [Yao et al. \(2017\)](#)).

- a) unspezifische, proinflammatorische Zytokine
 - IL-1, IL-6 und TNF- α
- b) für eosinophile Granulozyten bedeutsame Zytokine
 - GM-CSF, IL-3 und IL-5
- c) für atopische Erkrankungen bedeutsame Zytokine
 - IL-4 und IFN- γ
- d) für fibrotische Umbauprozesse bedeutsame Zytokine
 - TGF- β

1.2.5.2 Allergie/allergische Rhinitis und CRS

Der Kausalzusammenhang zwischen einer allergischen Rhinitis und der CRS wurde bis heute nicht eindeutig hergestellt und ist umstritten. Sicher bekannt ist, dass unter Patienten, die an einer CRS leiden, der Anteil derer mit einer allergischen Rhinitis erhöht ist ([Lane et al., 2001](#)).

Der chronischen Entzündung wird Vorschub geleistet, in dem APC das betreffende Antigen über entsprechende MHC-Proteinkomplexe T-Zellen präsentieren, die letztlich über zahlreiche Zwischenschritte mittels verschiedener Botenstoffe dafür sorgen, dass die aus B-Zellen entstandenen Plasmazellen IgE produzieren. Bei wiederholter Stimulation durch das Antigen verbinden sich mehrere IgE-Moleküle untereinander (*cross-linking*) und rekrutieren so zusätzliche inflammatorische Zytokine wie beispielsweise Histamin, TNF- α und verschiedene Interleukine. Diese Kaskade resultiert schließlich in einer Entzündungsreaktion mit den Konsequenzen wie etwa ziliärer Dysfunktion und vermehrter Sekretion, die schlussendlich zu den bekannten Symptomen führen ([Benninger et al., 2003](#)).

1.2.5.3 Bakterien/Histologie

Die Rolle, die bestimmte Bakterien bei der CRS spielen, ist ebenfalls noch nicht hinreichend geklärt. Unklar ist auch, ob sie als zusätzliche Ursache in Frage kommen oder den bestehenden inflammatorischen Prozess aufrechterhalten (Benninger et al., 2003).

In Studien konnten im Verlauf der CRS in den untersuchten Gewebe- und Aspirationsproben am häufigsten koagulase-negative Staphylokokken sowie Streptokokken nachgewiesen werden, während die akute bakterielle Rhinitis vor allem durch Bakterien wie Streptokokkus pneumoniae oder Haemophilus influenzae hervorgerufen wurde (Biel et al., 1998). Die zunehmende Bedeutung von Staphylokokken (hier vor allem Staphylokokkus aureus) führte zu der Theorie der „Superantigenhypothese“, bei der von Staphylokokken produzierte Exotoxine als Superantigen wirken und eine massive Entzündungsreaktion nach sich ziehen (Seiberling et al., 2005). „Superantigen“ bezeichnet in diesem Fall ein Antigen, das eine hohe Anzahl an T-Zell-Subpopulationen gleichzeitig aktivieren kann.

Bereits Ende der 1980er Jahre wurden histologische und immunohistochemische Untersuchungen zur Ätiologie der (chronischen) Rhinosinusitis mit dem Ergebnis durchgeführt, dass die untersuchten Proben neben Veränderungen der Basalmembran auch eine starke Eosinophilie aufwiesen (Harlin et al., 1988). Besonders deutlich zeigt sich die Eosinophilie bei Patienten mit einer Polyposis nasi, bei der sie in etwa 70 bis 80 % nachweisbar ist (Mauz et al., 2006). Ebenfalls häufig anzutreffen ist die oben beschriebene Eosinophilie bei Personen, die unter der sogenannten Samter-Trias leiden. Diese beinhaltet einen Symptomkomplex aus Analgetika-Intoleranz, Polyposis nasi und Asthma und wird verursacht durch einen abnormen Arachidonsäurestoffwechsel (Pfaar und Klimek, 2006).

Das entzündliche Infiltrat zeigt weiterhin eine Vielzahl an immunkompetenten Zellen, wie z. B. T-Lymphozyten und Mastzellen, die ebenfalls eine Rolle in der Entstehung spielen könnten.

1.2.5.4 Pilze

Sowohl Nase als auch Nasennebenhöhlen sind physiologisch mit Pilzen besiedelt, die, wie Bakterien auch, beinahe ubiquitär vorhanden sind und in hoher Anzahl auch in den Nasen von gesunden, immunkompetenten Personen zu finden sind (Catten et al., 2001).

Bei herabgesetzter Immunkompetenz, wie sie etwa im Rahmen einer Chemotherapie auftritt, kann es zur Aspergillose der Lunge kommen. Als Korrelat dieser Erkrankung kann

die pilzbedingte Infektion der Nase bzw. Nasennebenhöhlen bei Patienten mit reduzierter Immunabwehr verstanden werden (Benninger et al., 2003). Sie erklärt jedoch nicht das Vorkommen bei ansonsten gesunden, nicht beeinträchtigten Personen. In diesem Falle wird vermutet, dass es sich bei der histologisch gesicherten Form einer pilzbedingten CRS um eine IgE-vermittelte allergische Reaktion handelt (Manning und Holman, 1998).

1.2.6 Therapie

Die Behandlung der chronischen Rhinosinusitis umfasst, je nach vermuteter Ursache, zwei Optionen: die konventionelle, medikamentöse Therapie und das operative Vorgehen.

Die medikamentöse Therapie stützt sich vor allem auf Glucocorticoide (hauptsächlich topisch) und den Einsatz von Antibiotika (Aminopenicilline + β -Lactamase-Inhibitor oder Cephalosporine der 2. Generation), der aber nicht unumstritten ist (Small et al., 2007).

Weiterhin kommen abschwellende Nasentropfen (Dekongestiva) zum Einsatz mit dem Ziel, die Belüftung und Drainage der Nasennebenhöhlen sicherzustellen, um so die Symptome zu lindern (Empfehlung der europäischen Leitlinie [EPOS]). Eine Anwendungsdauer von 7 bis 10 Tagen sollte dabei nicht überschritten werden.

Die Verwendung systemischer Steroide in absteigender Dosierung ist möglich und kann eine Operation hinauszögern und/oder erleichtern (Empfehlungsgrad A bei Vorhandensein von Polypen, ansonsten Empfehlungsgrad C), jedoch ist in bis zu 50 % der Fälle mit einem Rezidiv zu rechnen. Systemische Kortikoidtherapien sind bei Schwangeren und Kinder kontraindiziert und bergen bei Langzeitanwendung die bekannten Risiken und Nebenwirkungen.

Die Verwendung von Analgetika/Antiphlogistika dient der symptomatischen Therapie einer akuten wie auch chronischen Rhinosinusitis. Ein eindeutiger Beleg für eine Wirkung im Sinne einer Krankheitsverkürzung fehlt bis dato. Für zahlreiche weitere frei verkäufliche (OTC) Präparate und Sekretolytika ist die Wirksamkeit meist entweder nicht eindeutig belegt oder es existieren keine geeigneten Studien (Stuck et al., 2007).

Bei chronischer Rhinosinusitis und Polyposis nasi hat sich die mehrwöchige (evtl. mehrmonatige) Applikation eines Kortikoid-Nasensprays (bspw. Mometason in Nasonex®) bewährt. Die früher häufiger anzutreffende Komplikation eines iatrogenen, medikamentös-induzierten M. Cushing ist, wie auch schwere weitere Nebenwirkungen, mit den heutigen topischen Kortikoiden vergleichsweise selten (Small et al., 2005).

Der Einsatz von Antibiotika wird in Deutschland bei der akuten Rhinosinusitis aufgrund der viralen Genese überhaupt nicht und bei ansonsten gesunden Personen bei einer bakteriellen Rhinitis ebenfalls nur sehr eingeschränkt empfohlen. Sinnvoll ist der Einsatz bei drohenden Komplikationen, immunsupprimierten Personen oder bei akuter Verschlechterung des Gesundheitszustandes. Als Mittel der Wahl kommen Penicilline und Cephalosporine, wie oben genannt, zum Einsatz. Die amerikanischen Empfehlungen ähneln den deutschen, propagieren aber in bestimmten Fällen (bspw. bei chronischen Erkrankungen) den sofortigen Einsatz von Antibiotika (Sande und Gwaltney, 2004).

Die chirurgische Therapie umfasst heutzutage zumeist die endoskopische Resektion der entzündlich veränderten Schleimhaut. Dies geschieht unter der Vorstellung, daß nach erfolgreicher Abtragung und Erweiterung der physiologischen Engstellen eine natürliche Ventilation der NNH wieder möglich ist und einer erneuten Entzündung vorgebeugt wird. In der gleichen oder einer späteren Operation können zusätzlich vorhandene Septumdeformitäten (mit)korrigiert werden. Die Computertomografie bestimmt dabei zusammen mit den endoskopischen Befunden und dem Beschwerdebild des Patienten das Ausmaß der Resektion.

2 Fragestellung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der (Sequenz-)Analyse einzelner ausgewählter Exon- und Promoterregionen, die für spezifische Toll-like-Rezeptoren kodieren. Untersucht werden TLR2, TLR4, TLR5 und TLR 9 auf bekannte und unter den entsprechenden rs-Nummern registrierten (SNP-Datenbank des *National Center for Biotechnology* (NCBI)) Einzelnukleotid-Polymorphismen. Im Einzelnen soll untersucht werden, welche Polymorphismen in den Patientenkollektiven in welcher Häufigkeit vorkommen und ob ein Zusammenhang mit dem Auftreten der CRS bzw. AR im Gegensatz zur Kontrollgruppe besteht. Folgende Fragen wurden hierbei berücksichtigt:

- Lassen sich die bekannten SNP nachweisen und wenn ja, in welcher Häufigkeit?
- Sind bestimmte SNP mit den untersuchten Erkrankungen assoziiert?
- Treten die SNP im Vergleich zur publizierten Häufigkeit (dort, wo bereits bekannt) ebenso häufig auf?

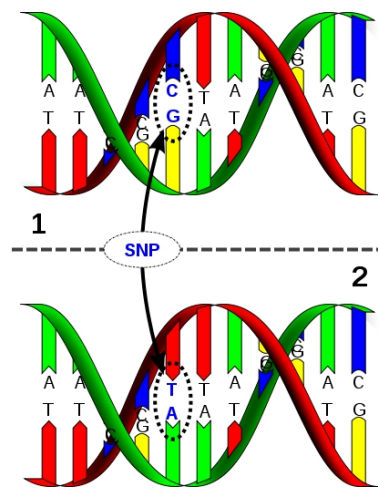


Abb. 6: Einzelnukleotid-Polymorphismus [SNP]. Variation eines einzelnen Basenpaares in einem komplementären DNA-Doppelstrang. DNA-Molekül 1 weicht lediglich in einem einzigen Basenpaar von DNA-Molekül 2 ab (modifiziert nach [Matyas \(2014\)](#)).

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv/Proben

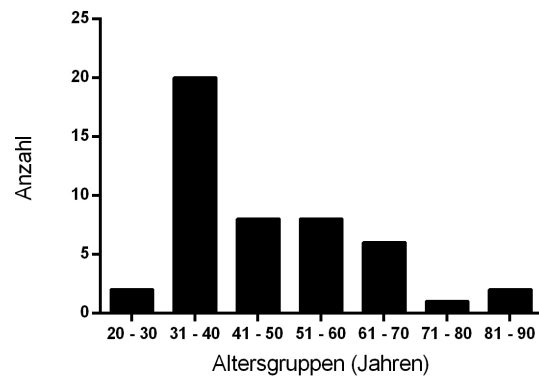
Es wurden insgesamt Blut- und Gewebeproben von 194 Patienten untersucht. Die Proben verteilen sich dabei auf 48 Personen in der Kontrollgruppe und 146 Patienten mit chronischer Rhinosinusitis mit und ohne Polypen. Die Kontrollgruppe bestand aus 48 Probanden (31 Männer und 17 Frauen) mit einem Durchschnittsalter von 48,9 Jahren (SD 16,3 Jahre, Median 51,5 Jahre). Das untersuchte Kollektiv setzte sich aus 35 Patienten (20 Männer, 15 Frauen) mit einer CRS (ohne Polyposis nasi), Durchschnittsalter 55,3 Jahre (Median 54 Jahre) sowie 89 Patienten mit einer CRS und Polyposis nasi (63 Männer, 26 Frauen, Durchschnittsalter 62,9 Jahre; Median 55 Jahre) und 22 Patienten (12 Männer, 10 Frauen) mit einer allergischen Rhinitis zusammen (Durchschnittsalter 47,9 Jahre, Median 55 Jahre, SD 12,9) (vergleiche hierzu Abbildungen 7 und 8). Ausgeschlossen werden mussten zwei Proben von Patienten, bei denen sich im Nachhinein die Diagnose eines Malignomes ergab.

Die Blutproben wurden im Zeitraum von Dezember 2006 bis August 2007 von geeigneten Patienten und einer repräsentativen Kontrollgruppe an Patienten entnommen (Ethikantrag Nr. 2431).

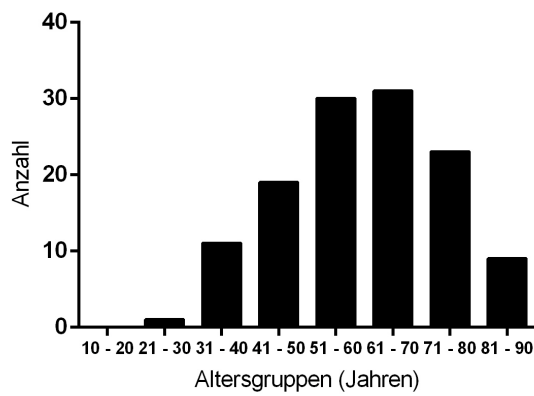
Die Gewebeproben der Patienten wurden nach Pausierung des Projektes und Auswertung von Teilergebnissen ab März 2016 aus histologischem Material, das während der Operation gewonnen und für die Diagnostik nicht benötigt wurde, retrospektiv aufgearbeitet, um die Probenanzahl zu erhöhen und damit die Aussagekraft des Projektes zu steigern (Ethikantrag Nr. 5346). Bei Keimbahnsequenzierungen kann in der Auswertung DNA aus Blut- und Gewebeproben im vorliegenden Kontext als in der Aussagekraft gleichwertig angenommen werden.

Die Anamnese und der klinische Untersuchungsbefund wurden durch Informationen aus der Patientenakte erfasst. Die Promotion wurde der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gemeldet und von dieser genehmigt (Nr. 2431 und Nr. 5346).

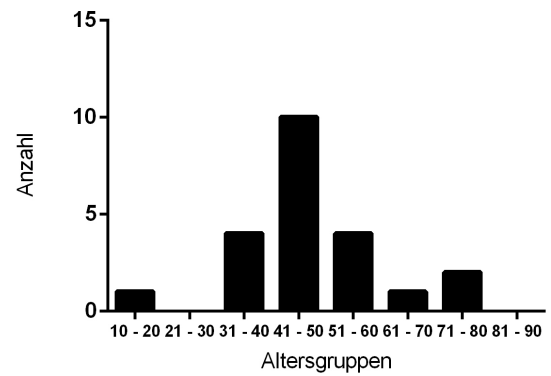
Die Erhebung der personenbezogenen Daten erfolgte in anonymisierter Form. Jedem Patienten wurde eine individuelle Code-Nummer, bestehend aus Zahlen und Buchstaben, zugeordnet. Ein Rückschluss auf die erhobenen Daten war demnach retrospektiv nicht mehr möglich.



(a) Kontrollgruppe

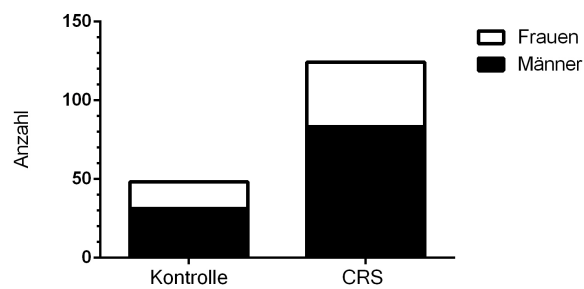


(b) CRS-Gruppe



(c) AR-Gruppe

Abb. 7: Altersverteilung in den entsprechenden Gruppen. Anzahl der Patienten pro Dekade und Gruppe.



(a) Geschlechterverteilung

Abb. 8: Geschlechterverteilung in den einzelnen Gruppen. Absolute Anzahl der Patienten aufgliedert nach Geschlecht pro Gruppe.

3.2 DNA-Extraktion aus Patientenvollblut

Das benötigte Vollblut wurde nach Aufklärung und Unterzeichnung der Einverständniserklärung durch Punktion einer peripheren Vene gewonnen. Anschließend wurde es für maximal 24 Stunden bei $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert und weiterverarbeitet. Die DNA-Isolierung wurde mit Hilfe des *QIAmp DNA Blood Mini Kit* der Firma Qiagen unter Durchführung der folgenden Arbeitsschritte und Beachtung der jeweiligen Herstellervorschriften durchgeführt.

Zunächst wurden die Blutröhrchen bei Raumtemperatur für 15 min bei 1650 g zentrifugiert, um so Plasma und Leukozyten von den restlichen Blutbestandteilen zu trennen. Der Überstand wurde in ein FalconTM-Röhrchen umgefüllt. Nun wurde das entsprechende Röhrchen mit PBS-Puffer auf 15 ml aufgefüllt. Es erfolgte eine erneute Zentrifugation bei Raumtemperatur und 1650 g für 3 min. Der entstandene Überstand wurde bis auf eine geringe Restmenge verworfen, das Pellet resuspendiert und in ein Eppendorf-Röhrchen überführt. Dieses wurde bei $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ und 1200 r/min zentrifugiert und erneut wurde der Überstand verworfen. Im Anschluss wurde 1 ml Erythrozyten-Lyse-Puffer (Qiagen) hinzugefügt und die Lösung resuspendiert und bei Raumtemperatur für 5 min inkubiert. Nachfolgend wurde 1 ml PBS-Puffer hinzugefügt und für 3 min bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ und 1200 r/min zentrifugiert. Nun wurden die Pellets, soweit mit bloßem Auge möglich, auf Reinheit kontrolliert und gegebenenfalls erfolgte eine Wiederholung der Arbeitsschritte. Nach Abpipettieren des Überstandes wurde das Pellet mit 100 μl PBS-Puffer resuspendiert. In dieser Form wurde es bei $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ für höchstens drei Tage verwahrt.

Falls die Proben nicht sofort weiterverarbeitet wurden, wurden sie nach Entnahme aus dem Gefrierschrank auf Präzipitate untersucht und, sofern nötig, für eine kurze Zeit bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Brutschrank geschüttelt.

Anschließend wurden sie bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit 1200 r/min zentrifugiert und der Überstand wurde verworfen. Nun wurden 100 μl PBS und 300 μl *RBC-Lysis-Solution* hinzugefügt und die Lösung wurde resuspendiert. Hiernach erfolgte die Inkubation für 5 min bei Raumtemperatur und zwischenzeitlicher Inversion. Im Anschluss wurde erneut für eine Minute bei $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert und der Überstand abpipettiert. Jetzt wurden abermals 100 μl *RBC-Lysis-Solution* hinzugefügt und die Lösung wurde nach Resuspension für 5 min bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend erfolgte eine erneute Zentrifugation bei 8000 r/min und $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ für eine Minute. Der entstandene Überstand wurde verworfen und zu dem Pellet wurden 300 μl *Cell-Lysis-Solution* hinzugegeben. Nach Resuspension wurden 1,5 μl *RNAse-A-Solution*

ergänzt und erneut gevortext. Im vorgeheizten Eppendorf-Schüttler wurden die Proben nun bei 37 °C mit 1000 r/min für 15 min geschüttelt.

Die nachfolgenden Schritte erfolgten unter sorgfältiger Kühlung der Proben. Nach zwei-minütigem Abkühlen in einem Kühlblock wurden 100 µl *Protein-Precipitation-Solution* hinzugegeben und im Anschluss daran die Proben gevortext. Danach erfolgte eine Zentrifugation bei 14000 rpm und 4 °C für 5 min. Die Arbeitsschritte wurden so lange wiederholt, bis die gefällten Proteine am Boden des Eppendorfgefäßes ein weißes Pellet gebildet hatten und der Überstand in ein neues Eppendorfgefäß überführt werden konnte.

Nach Hinzufügen von 300 µl Isopropanol und invertieren wurden die Lösungen für 5 min, 14000 rpm bei -4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde erneut Abpipettiert und verworfen. Nachfolgend wurde erneut 300 µl 70 % Ethanol hinzugegeben und unter den oben genannten Bedingungen zentrifugiert. Der erzielte Überstand wurde verworfen und die Pellets wurden für eine Minute bei geöffnetem Deckel luftgetrocknet.

Nach Beimischen von 50 µl *DNA-Hydration-Solution* wurden die Eppendorfgefäße für eine Stunde bei 65 °C inkubiert.

3.3 DNA-Extraktion aus Gewebeproben

Für die Gewinnung von DNA wurden in Paraffin eingebettete Gewebeschnitte (max. 10) von den Objektträgern entfernt und in ein Eppendorf-Reaktionsgefäß überführt. Anschließend wurden 300 µl Xylol hinzugegeben und die Probe wurde für eine Minute gevortext. Danach wurden die Proben bei Raumtemperatur für 5 min stehen gelassen. Die Proben wurden bei Raumtemperatur mit 14000 r/min zentrifugiert, das Xylol wurde abpipettiert. Es erfolgte eine Wiederholung des Arbeitsschrittes, um das Xylol vollständig zu entfernen. Nun wurden 300 µl 100 % Ethanol hinzugefügt, gevortext und ebenfalls bei 14000 r/min für 10 min unter Raumtemperatur zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und erneut kurz zentrifugiert, um das Ethanol komplett zu entfernen. Das erhaltene Pellet wurde für 5 min bei 55 °C offen im Brutschrank getrocknet. Im Anschluss wurde es in 180 µl 50 µM Tris-Puffer (pH 8,4) und 20 µl Proteinase K resuspendiert. Die Proben wurden wiederholt bei 37 °C geschüttelt und anschließend für 8 min gekocht. Hiernach wurden sie auf Eis abgekühlt und für 5 min bei 14000 r/min zentrifugiert.

Die weitere Verwendung erfolgte analog zum Vorgehen bei der aus Vollblut gewonnenen DNA.

Edukt	Volumen [μl]
dH ₂ O	21
Primer 1 (20 μM)	1
Primer 2 (20 μM)	1
Taq-Mastermix	25
Volumen - Premix	48
DNA	2
Gesamtvolumen	50

Tabelle 3: PCR-Produkte

Zyklen	Temperatur	Dauer
1	94 °C	3 min
37	94 °C	20 s
	60 °C	20 s
	72 °C	45 s

Tabelle 4: PCR-Zyklen

3.4 Photometrische Bestimmung der DNA-Konzentration

Die Konzentration von isolierter doppelsträngiger DNA wurde in einem Spektralphotometer durch Messung der Absorption bei 260 nm bestimmt. Die DNA-Isolate wurden hierzu um den Faktor 10 mit Aquadest verdünnt und in eine Quarzküvette gegeben. Die optische Dichte (OD) dieser verdünnten Probe wurde bei einer Wellenlänge von 260 nm bestimmt. Der gemessene Wert gab die DNA Konzentration in $\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$ an. Die Kalibrierung des Nullpunktes erfolgte durch Abgleich mit Aquadest.

3.5 Polymerasekettenreaktion und Auftrennung der Produkte

Für die PCR-Reaktion wurden 2 μl DNA-Suspension in einem 50 μl -PCR-Reaktionsansatz mit dem Primerpaar, den vier Desoxynukleosidtriphosphaten, Puffer und Taq-Polymerase angesetzt und unter den oben angegebenen PCR-Bedingungen (siehe hierzu Tabelle 3 und 4) amplifiziert. Um Kontaminationen auszuschließen wurde eine zusätzliche Negativkontrolle untersucht, die alle genannten Reagenzien mit Ausnahme der DNA enthielt. Bei positiver Negativkontrolle wurden die betroffenen Proben verworfen. Die erhaltenen Produkte wurden auf einem 0,7 % Agarosegel aufgetragen und bei einer Laufzeit von 30 min bei 120 V aufgetrennt. Zur Einschätzung der Größe der aufgetrennten Fragmente lief ein Längenstandard mit bekannten DNA-Fragmenten mit. Die Fragmente wurden unter UV-Licht durch Zugabe des DNA-interkalierenden Fluoreszenzfarbstoffes Ethidiumbromid sichtbar gemacht und zur Dokumentation fotografiert (Abbildung 9).

3.6 Primerpaare

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die verwendeten Primerpaare, die allesamt eine Länge von 20 bp aufwiesen. Ebenso sind hier die Längen (in Basenpaaren [bp]) der dadurch erhaltenen DNA-Sequenzen aufgezeigt.

TLR	Exon / Promoter	Produktgröße (bp)	Primer I	Primer II
2	Promoter	463	AGTCCCTTGGGTGCTGCTGT	TTGAATGTGTGCCCCAAAGC
2	Exon	591	ATGTCACAGGACAGCACTGG	CGCAGCTCTCAGATTTACCC
4	Exon	559	CCTGTGCAATTTGACCATTG	TGCCATTGAAAAGCAACTCTG
5	Exon	462	CCTTCTGGGGGAAC TTACA	TCCCTCAAAAACATCCCAAC
9	Promoter	447	GACATTCCAGCAGGGGAATA	CTAGGTCCCCTCCTCTGCTCA

Tabelle 5: Verwendete Primerpaare

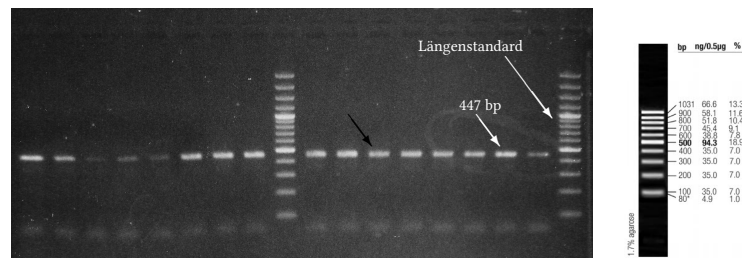
3.7 Vollautomatische DNA-Sequenzanalyse

Die Analyse und Sequenzierung der erhaltenen DNA-Fragmente erfolgte vollautomatisiert mithilfe eines Kapillarsequenziergerätes der Firma Applied Biosystems (Modell 310A) nach der Kettenabbruchmethode (Sanger et al., 1992). Verwendet wurde das *BigDye Terminator Sequencing Ready Reaction Kit* der Firma Applied Biosystems.

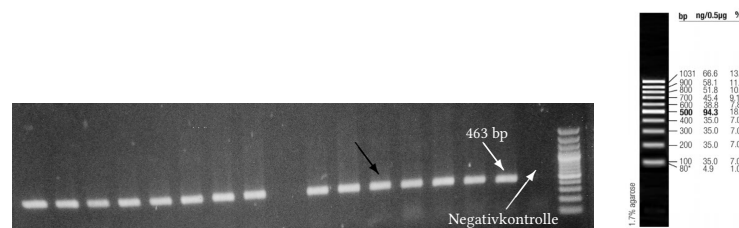
Der Sequenzieransatz bestand aus deionisierten 2,7 µl H₂O, 1 µl *BigDye Terminator Ready Reaction Kit*, der die Taq-Polymerase, Desoxynukleotide und fluoreszenzmarkierte Desoxynukleotide enthielt sowie 0,3 µl Primer (20 µM), 5 µl DNA-Template (10 ng µl⁻¹) und 1 µl Sequenzier-Pufferlösung. Insgesamt wurde so ein Probenvolumen von 10 µl erreicht.

Die so erhaltenen Proben durchliefen folgendes Amplifikationsprogramm: Denaturierung bei 96 °C, *Primerannealing* 30 s bei 96 °C sowie Extension bei 60 °C und einer Dauer von 4 min. Die Sequenzierung erfolgte bei jeder Probe sowohl in 3' als auch 5' - Richtung, um deren Vollständigkeit zu gewährleisten und gleichzeitig vorhandene Abberationen zu verifizieren. Alle Sequenzierungsreaktionen wurden mindestens zweifach wiederholt.

Die Aufreinigung des Sequenzieransatzes erfolgte nach Anleitung des Herstellers mit dem *Dye Ex Spin Kit* (Qiagen). Die weitere Analyse der Abbruchprodukte erfolgte, wie oben angegeben, mit einem Sequenziergerät der Firma Applied Biosystems, in dem durch einen Laserscanner die unterschiedliche Fluoreszenz der Nukleotide erkannt wird. Die ebenfalls automatische weitere Analyse der Laufdaten erfolgte mit dem Programm Genescan



(a) TLR 9 Elektrophorese



(b) TLR 2 Elektrophorese

Abb. 9: Fotodokumentation der Agarosegele. Zuvor erfolgte die Anfärbung mittels Ethidiumbromid (Abbildungen a und b). Jede Bande [→] entspricht einer Probe. Abbildung (a) zeigt beispielhaft DNA-Stränge mit einer Länge von 447 bp (Basenpaaren) im Rahmen der Sequenzierung des TLR 9 Promoter. Die Negativkontrolle ist nicht mit abgebildet. Abbildung (b) zeigt exemplarisch TLR 2 Promoter, die DNA-Stränge weisen eine Länge von 463 bp auf. Zusätzlich ist eine grafische Darstellung des verwendeten Längenstandards zu sehen, © FERMENTAS GmbH.

Multianalyst (Version 3.1.2, Applied Biosystems) mit dem auch die grafische Darstellung (Abbildung 10) zur Auswertung realisiert wurde.

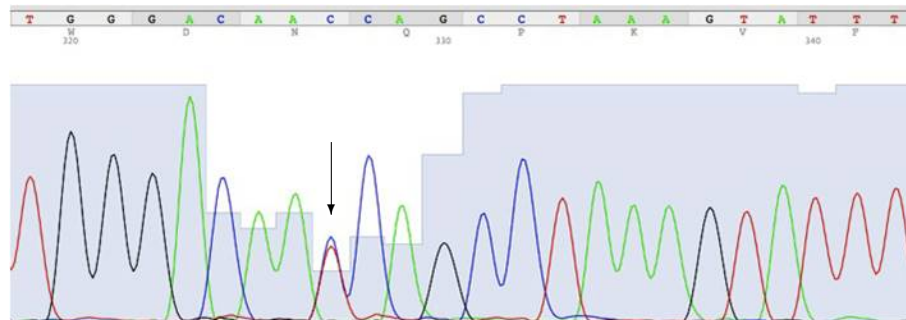


Abb. 10: Sequenzierung eines Polymorphismus. Grafische Darstellung am Beispiel der Sequenzierung des Polymorphismus rs4986791 (Thr399Ile) - abgebildet ist der Wildtyp mit der Base Cytosin.

3.8 Auswertung der DNA-Sequenzen

Nach erfolgter Auftrennung und anschließender Sequenzierung der kodierenden DNA (cDNA), erfolgte der Vergleich der so gewonnenen Basensequenzen mit den Original- bzw. Wildtypsequenzen. Auf diese Weise konnten Veränderungen in der Basenabfolge festgestellt werden.

3.8.1 Auswahl der Polymorphismen

Etwa zehn Jahre nach der Entdeckung und Beschreibung der TLR fand die Arbeitsgruppe um Nüsslein-Volhardt im Jahr 1996 in ihren Untersuchungen an *Drosophila* erstmalig einen Hinweis darauf, dass TLR eine bedeutende Rolle in der Pathogenese bestimmter Erkrankungen spielen könnten (Lemaitre et al., 1996). Seitdem wurden zahlreiche Publikationen veröffentlicht, die sich mit dem Thema der Assoziation zwischen TLR und Erkrankungen (beispielsweise Asthma, Hypertonie, Autoimmunerkrankungen) beschäftigen.

Die in dieser Arbeit untersuchten SNP wurden anhand von bereits bekannten Assoziationen zu einerseits der CRS bzw. AR ausgewählt (Ramanathan et al., 2007; Tewfik et al., 2008; Ramanathan et al., 2007; Xia et al., 2008; Detwiller et al., 2014) sowie andererseits zu

weiteren Krankheiten, die potenziell bei der Entstehung einer CRS eine Rolle spielen könnten. Hier ist vor allem das Asthma bronchiale zu nennen, aber auch weitere Erkrankungen des atopischen Formenkreises sowie SNP, die zu Allergien prädisponieren ([Tizaoui et al., 2015a](#)).

3.9 Materialien

3.9.1 Geräte

Tabelle 6 gibt einen Überblick über die einzelnen Geräte, die zur Verarbeitung der gewonnenen Proben und Sequenzierung der DNA eingesetzt wurden.

Gerät / Modell	Hersteller
Thermocycler (T3)	Biometra, Göttingen
Röhrchen-Schüttler (Thermomixer comfort)	Eppendorf, Hamburg
ABI 310 Genetic analyzer	Applied Biosystems, USA
Zentrifuge (groß)	Heraeus Instruments GmbH
Zentrifuge (klein)	Heraeus Instruments GmbH
TopMix	Bioblocks Inc., San Diego, USA
Magnetrührer mit Heizplatte	Ikamag Labortechnik, Staufen
UV-Spektrophotometer	Beckmann Coulter GmbH, Krefeld
UV-Lichtquelle	Biometra, Göttingen
Kamera	Polaroid, Minnetonka, USA
Kameraaufsatz	Fotodyne Inc., Hartland, USA
Fotofilm	Polaroid, Minnetonka, USA
Elektrophoresekammer inkl. Spannungsgeber	BioRad, München
Zentrifuge Picofuge PCM 860	Stratagene, Kalifornien, USA
Multipette 4780	Eppendorf, Hamburg
Pipetten, verstellbar (2 µl bis 200 µl)	Eppendorf, Hamburg
Kühlschrank mit Gefrierfach (-20 °C)	Einzelhandel
Plastikbox mit Gittereinsatz	Einzelhandel

Tabelle 6: Verwendete Geräte

3.9.2 Verbrauchsmaterialien/Kits/Glaswaren

Die nachfolgenden Tabellen (7, 8) zeigen die jeweils verwendeten Kits bzw. Verbrauchsmaterialien und eigens hergestellten Lösungen. Sofern Kits verwendet wurden, erfolgte ihre Anwendung stets gemäß den Herstellervorschriften.

Material	Hersteller
<i>QIAmp DNA Blood Mini Kit</i>	Qiagen, Krefeld
<i>Taq PCR Master Mix Kit</i>	Qiagen, Krefeld
<i>Qiaquick 96 PCR Purification Kit</i>	Qiagen, Krefeld
<i>BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit</i>	Applied Biosystems
<i>Gene Ruler 100bp DNA Ladder Plus</i>	Fermentas Life Sciences
Pipetten Filter Tips (0,1 µl bis 200 µl)	Star Lab, Ahrensburg
Mikrotiterplatten (96-Well-Platten)	Biochrom, Berlin
Eppendorf Reaktionsgefäße (0,5 ml bis 2 ml)	Eppendorf, Hamburg
Zentrifugen Röhrchen 50ml aus Polypropylen (Falcon TM , steril)	Corning, Wiesbaden
Serumröhrchen	BD, Heidelberg
Vacutainer: Kanülenhalter, Kanüle 21G	BD, Heidelberg
Einmal-Untersuchungs-Handschuhe	Meditrade, Krefeld
Stauschlauch	Eco Medizintechnik
Bechergläser, Messzylinder, Erlmeyerkolben, Glasflaschen	Schott, Wertheim

Tabelle 7: Kits/Gebrauchsmaterialien/Glaswaren

Reagenz	Hersteller
Agarose	PEQLAB Biotechnologie, Erlangen
Glycerin	GLACONCHEMIE, Merseburg
Ethidiumbromid	Sigma Aldrich Corp., St. Louis, USA
EDTA	Roth, Karlsruhe
TRIS-Puffer	LS Labor-Service, Griesheim

Tabelle 8: Chemikalien

3.10 Software/Statistik

Für die Erstellung der vorliegenden Arbeit wurde auf folgende Programme zurückgegriffen:

- Excel 2007, Microsoft, USA
- GraphPad-Prism Version 5.03, GraphPad Software, La Jolla, Kalifornien
- JabRef Version 2.5, General Public Licence (GPL)
- \LaTeX , LaTeX Project Public License (LPPL)
- TeXnicCenter Version 1 RC1, General Public Licence (GPL)
- SmartDraw Version 9, SmartDraw, San Diego, USA
- FileMaker Professional Version 8.5, FileMaker GmbH, Unterschleißheim
- GIMP Version 2.6.10, General Public Licence (GPL)

Zur Erstellung der statistischen Analysen wurde das Programm GraphPad-Prism® Version 5.03 verwendet. Analysiert wurden Kontingenztafeln mittels des χ^2 -Tests. In den Fällen, in denen die Voraussetzungen zur Durchführung des χ^2 -Tests nicht vorlagen, wurde der exakte Test nach Fisher verwendet. Die Altersvergleiche wurden mittels eines t-Test berechnet. Als Signifikanzniveau der Tests wurde 5 % ($p < 0,05$) festgelegt.

4 Ergebnisse

Die folgende Tabelle (9) gibt eine Übersicht und zeigt Details über die in der Arbeit analysierten Polymorphismen. Die Tabelle zeigt, unterteilt nach den verschiedenen TLR, die jeweilige rs-Nummer sowie den Genotyp des Wildtypes/Polymorphismus (homo- bzw. heterozygot), das entsprechend veränderte Nukleotid sowie die verändert synthetisierte Aminosäure. Dort, wo bekannt, findet sich in der letzten Spalte die relative Häufigkeit des Polymorphismus bezogen auf die europäische Bevölkerung (gemäß *1000 Genomes Project*, <https://www.internationalgenome.org/>, letztmalig abgerufen 01.02.2017).

Der Zugriff auf die Datenbank erfolgte mittels des *genome browse Ensemble® (release 88)*, letztmalig abgerufen am 01.02.2017. Für die Vergleiche wurden die unter Populationsgenetik abrufbaren Daten der europäischen Bevölkerung (Kennzeichnung: EUR) verwendet.

Tabelle 10 zeigt eine detaillierte Gesamtübersicht über die untersuchten Gruppen, Anzahl der Patienten sowie die absoluten und relativen Häufigkeiten der gefundenen Genotypen.

Die Patienten wurden anhand ihrer Diagnose (Allergische Rhinitis, CRSwNP sowie CRSsNP) in Gruppen eingeteilt und mit der untersuchten Kontrollgruppe verglichen, um so herauszufinden, ob zwischen dem Auftreten eines/mehrerer Polymorphismen und der gestellten Diagnose eine Korrelation besteht.

TLR	Exon / Promoter	rs-Nummer	Wildtyp	Mutante	Wildtyp-AS	Mutante-AS	AS-Position	Genotyp	Häufigkeit						
TLR 2	Promoter	4696480	T	A				TT	0,241						
								AA	0,276						
								AT	0,483						
	Exon		5743702	T	C	Ile	Thr	556	TT	1,0					
			574703	G	A	Arg	His	579	CC	0,77					
									AA	0,006					
									AC	0,217					
			5743704	C	A	Pro	His	631	CC	0,940					
									AC	0,06					
			5743705	T	C	Phe	Phe	707	TT	1,0					
			5743706	T	A	Tyr	Asn	715	TT	1,0					
			5743707	T	G	Tyr	STOP	715	TT	1,0					
			5743708	G	A	Arg	Gln	753	GG	0,952					
									AG	0,048					
1804965	G	T	Glu	Asp	768	GG	1,0								
TLR 4	Exon							AA	0,893						
								AG	0,101						
								GG	0,006						
								2770145	T	G	Cys	Trp	306	TT	1,0
								2770144	T	G	Val	Gly	310	TT	1,0
								5030715	A	G	Asn	Ser	329	AA	1,0
								5031050	T	A	Phe	Tyr	342	TT	1,0
								11536884	G	T	Leu	Phe	385	GG	1,0
								4986791	C	T	Thr	Ile	399	CC	0,891
														CT	0,209
														TT	0,012
								4987233	G	A	Ser	Asn	400	GG	1,0
								503716	C	A/T	Phe	Leu/Phe	443	CC	0,996
CT	0,004														
TLR 5	Exon							CC	0,986						
								CA	0,014						
								5744170	T	C	Asn	Asn	456	TT	1,0
								5744169	C	T	Leu	Leu	444	CC	0,996
														CT	0,004
5744168	C	T	Arg	STOP	392	CC	0,881								
						TT	0,002								
						TC	0,117								
TLR 9	Promoter	5743837	G	T				GG	0,998						
								TA	0,002						

Tabelle 9: Übersicht der verschiedenen Polymorphismen. Dargestellt sind neben dem Wildtyp-Allel das mutierte Allel wie auch die entsprechend kodierten Aminosäuren (AS) mit deren Position und die möglichen Genotypen mit ihren Häufigkeiten (nach 1KGP).

	Alle		Kontrollen		CRSwNP		CRSsNP		AR	
	N = 194		N = 48		N = 89		N = 35		N = 22	
ANZAHL										
GESCHLECHT										
männlich	126	64,9 %	31	64,6 %	63	70,8 %	20	57,1 %	12	54,5 %
weiblich	68	35,1 %	17	35,4 %	26	29,2 %	15	42,9 %	10	45,5 %
ALTER IN JAHREN / SD:	56,4	15,5	48,9	16,3	62,9	13,7	55,3	13,2	47,9	12,9
TLR2.P4696480										
TT (WT)	35	18,0 %	10	20,8 %	12	13,5 %	9	25,7 %	4	18,2 %
AT	116	59,8 %	26	54,2 %	55	61,8 %	22	62,9 %	13	59,1 %
AA	43	22,2 %	12	25,0 %	22	24,7 %	4	11,4 %	5	22,7 %
TLR2.5743702										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR2.5743703										
GG (WT)	192	99,0 %	48	100,0 %	89	100,0 %	33	94,3 %	22	100,0 %
GA	2	1,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %	2	5,7 %	0	0,0 %
TLR2.5743704										
CC (WT)	180	92,8 %	47	97,9 %	78	78,6 %	35	10,0 %	20	91,0 %
AA	2	1,0 %	0	0,0 %	2	2,25 %	0	0,0 %	0	0,0 %
CA	5	2,6 %	1	2,1 %	2	2,25 %	0	0,0 %	2	9,0 %
CT	7	3,6 %	0	0,0 %	7	7,87 %	0	0,0 %	0	0,0 %
TLR2.5743705										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR2.5743706										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR2.5743707										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR2.5743708										
GG (WT)	172	88,3 %	45	93,8 %	85	95,5 %	26	74,3 %	16	72,7 %
GA	22	11,7 %	3	6,2 %	4	4,5 %	9	25,7 %	6	27,3 %
TLR2.1804965										
GG (WT)	194	100,0 %								
TLR4.4986790										
AA (WT)	177	91,2 %	45	93,8 %	84	94,4 %	30	85,7 %	18	81,8 %
AG	15	7,8 %	3	6,3 %	3	3,4 %	5	14,3 %	4	18,2 %
GG	2	1,0 %	0	0,0 %	2	2,2 %	0	0,0 %	0	0,0 %
TLR4.2770145										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR4.2770144										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR4.5030715										
AA (WT)	194	100,0 %								
TLR4.5031050										
TT (WT)	194	100,0 %								
TLR4.11536884										
GG (WT)	182	93,8 %	48	100,0 %	86	96,6 %	26	74,3 %	22	100,0 %
TT	12	6,2 %	0	0,0 %	3	3,4 %	9	25,7 %	0	0,0 %
TLR4.4986791										

Fortsetzung nächste Seite ...

		Alle		Kontrollen		CRSwNP		CRSsNP		AR	
	CC (WT)	186	95,9 %	46	95,8 %	83	93,3 %	35	100,0 %	22	100,0 %
	CT	2	1,1 %	2	4,2 %	0	0,0 %	0	0,0 %	0	0,0 %
	TT	6	3,0 %	0	0,0 %	6	6,7 %	0	0,0 %	0	0,0 %
TLR4.4987233											
	GG (WT)	194	100,0 %								
TLR4.5030716											
	CC (WT)	194	100,0 %								
TLR5.5744171											
	CC (WT)	194	100,0 %								
TLR5.5744170											
	TT (WT)	194	100,0 %								
TLR5.5744169											
	TT (WT)	194	100,0 %								
TLR5.5744168											
	CC (WT)	168	86,6 %	42	87,5 %	83	93,3 %	28	80,0 %	15	68,2 %
	CT	26	13,4 %	6	12,5 %	6	6,7 %	7	20,0 %	7	31,8 %
TLR9P.5743837											
	GG (WT)	194	100,0 %								

Tabelle 10: Häufigkeit der Genotypen. Gesamtübersicht über alle untersuchten Gruppen sowie die absoluten und relativen Häufigkeiten der gefundenen Genotypen. Weiterhin sind Geschlecht, Alter und Standardabweichung (SD) aufgeführt.

4.1 TLR Polymorphismen bei gesunden und CRSwNP Patienten

Im Folgenden sind die Patienten, die unter einer CRSwNP leiden, der Kontrollgruppe gegenübergestellt. Aufgeführt sind nur diejenigen SNP, bei denen ein Vergleich aufgrund unterschiedlicher Genotypen möglich war. Zusätzlich sind in Tabelle 11 Geschlecht und Alter aufgeführt.

Bezüglich der Geschlechterverteilung ergibt sich kein signifikanter Unterschied ($p = 0,58$) zwischen den untersuchten Gruppen. Beide Geschlechter sind pro Gruppe in etwa gleich häufig vertreten. Signifikant ($p = 0,001$) unterscheiden sich die Gruppen hinsichtlich des Alters. Die Gruppe CRSwNP weist ein Durchschnittsalter von 62,9 Jahren gegenüber 48,9 Jahren in der Kontrollgruppe auf.

Bezüglich der SNP des TLR 2 lassen sich bei TLR2.P4696480, TLR2.5743704 sowie TLR2.5743708 Unterschiede feststellen, wobei jedoch keiner dieser statistisch signifikant ist.

Bei TLR2.P4696480 findet sich in über der Hälfte der Fälle in beiden Gruppen der heterozygote AT-Genotyp, während der Wildtyp etwas häufiger in der Kontrollgruppe (20,8 % gegenüber 13,5 %) vorkommt. TLR2.5743704 und TLR2.5743708 weisen nahezu ausschließlich den Wildtyp auf. Andere Varianten sind in geringerer Anzahl vertreten und erreichen keine Häufigkeiten über 8 %. Die entsprechenden p-Werte sind der Tabelle zu entnehmen.

TLR4.4986790 und TLR4.11536884 weisen ebenfalls annähernd gleich häufig den jeweiligen Wildtyp auf (94 bis 100 %). Mögliche weitere Genotypen sind entweder gar nicht oder in sehr geringer Anzahl vorzufinden und nicht signifikant abgrenzbar.

Abweichend hiervon zeigt sich bei TLR4.4986791 ein signifikanter ($p = 0,029$) Unterschied. Der homozygote TT-Genotyp ist in der CRSwNP-Gruppe häufiger ($n = 6$) anzutreffen, während er in der Kontrollgruppe nicht vorzufinden ist. Umgekehrt, allerdings nicht signifikant, findet sich der CT-Genotyp ($n = 2$) ausschließlich in der Kontrollgruppe.

In der Analyse von TLR5.5744168 ist in etwa 90 % der Fälle der Wildtyp zu erkennen. Ein signifikanter Unterschied besteht somit nicht.

	Kontrollen	%	CRSwNP	%	p - Wert
	N = 48		N = 89		
Geschlecht:					0,58
M	31	64,6	63	70,8	
W	17	35,4	26	29,2	
Alter in Jahren	48,9		62,9		0,001
TLR2.P4696480					0,507
TT (WT)	10	20,8	12	13,5	
AT	26	54,2	55	61,8	
AA	12	25,0	22	24,7	
TLR2.5743704					0,141
CC (WT)	47	97,9	78	87,6	
AA	0	0	2	2,25	
CA	1	2,1	2	2,25	
CT	0	0	7	7,9	
TLR2.5743708					0,696
GG (WT)	45	93,8	85	95,5	
GA	3	6,2	4	4,5	
TLR4.4986790					0,485
AA (WT)	45	93,8	84	94,4	
AG	3	6,2	3	3,4	
GG	0	0	2	2,2	
TLR4.11536884					0,552
GG (WT)	48	100	86	96,6	
TT	0	0	3	3,4	
TLR4.4986791					0,029
CC (WT)	46	95,8	83	93,3	
CT	2	4,2	0	0	
TT	0	0	6	6,7	
TLR5.5744168					0,343
CC (WT)	42	87,5	83	93,3	
CT	6	12,5	6	6,7	

Tabelle 11: Genotypen in der Kontroll- und CRSwNP-Gruppe Häufigkeit der verschiedenen Genotypen in der Gruppe der chronischen Rhinosinusitis mit Nasenpolypen im Vergleich zu der Kontrollgruppe bezogen auf die untersuchten TLR. Aufgeführt sind nur solche, bei denen Unterschiede bestanden und ein Vergleich möglich war (WT = Wildtyp).

4.2 TLR Polymorphismen bei gesunden und CRSsNP-Patienten

Zwischen der Kontrollgruppe und der Gruppe der Patienten, die unter einer chronischen Rhinosinusitis ohne Polyposis nasi leiden, besteht weder in der Geschlechterverteilung ($p = 0,646$) noch in der Altersverteilung ($p = 0,05$) ein signifikanter Unterschied.

Die homo- und heterozygoten Mutanten (AT- und AA-Genotyp) des SNP TLR2.P4696480 lassen sich häufiger als der TT-Wildtyp nachweisen, der in beiden Gruppen in 20 % bzw. 25 % der Fälle vorliegt. Am häufigsten findet sich der AT-Genotyp mit rund 54 % bzw. 63 %, während der AA-Genotyp in beiden Gruppen seltener (25 % bzw. 11 %) vorkommt. Insgesamt sind die Unterschiede nicht signifikant.

Bei TLR2.5743703 und TLR2.5743704 lässt sich fast in allen Fällen der Wildtyp nachweisen. Andere Genotypen finden sich in vernachlässigbarer Anzahl, so dass sich hier kein signifikanter Unterschied ableiten lässt.

Anders verhält es sich bei TLR2.5743708. Hier zeigt sich deutlich häufiger ($p = 0,003$) ein GA-Genotyp in der CRSsNP-Gruppe. Dieser ist in der Kontrollgruppe zwar auch nachweisbar, jedoch nur in etwa 6 % der Fälle verglichen mit 25 % in der CRSsNP-Gruppe.

Bei TLR4.4986790 und TLR4.4986791 lässt sich in beiden Fällen im Wesentlichen der Wildtyp nachweisen. Der GA-Genotyp zeigt sich im TLR4.4986790 in etwa 6 bzw. 14 % der Fälle, während der heterozygote CT-Genotyp in TLR4.4986791 nur in der Kontrollgruppe ($n = 2$; 4,2 %) zu finden ist.

Ein signifikanter Unterschied ($p = 0,001$) stellt sich bei TLR4.11536884 dar. Hier überwiegt in der CRSsNP-Gruppe der TT-Genotyp in etwa 1/4 der Fälle, während dieser in der Kontrollgruppe nicht nachzuweisen ist.

Heterozygote Polymorphismusträger (CT-Genotyp) finden sich häufiger (n.s.) bei TLR5-5744168 in der CRSsNP-Gruppe.

	Kontrollen	%	CRSsNP	%	p - Wert
	N=48		N=35		
Geschlecht					0,646
M	31	64,6	20	57,1	
W	17	35,4	15	42,9	
Alter in Jahren	48,9		55,3		0,05
TLR2.P4696480					0,3
TT (WT)	10	20,8	9	25,7	
AT	26	54,2	22	62,9	
AA	12	25,0	4	11,4	
TLR2.5743703					0,175
GG (WT)	48	100	33	94,3	
GA	0	0	2	5,7	
TLR2.5743704					1,00
CC (WT)	47	97,9	35	100	
CA	1	2,1	0	0	
TLR2.5743708					0,03
GG (WT)	45	93,8	26	74,3	
GA	3	6,2	9	25,7	
TLR4.4986790					0,272
AA (WT)	45	93,8	30	85,7	
AG	3	6,2	5	14,3	
TLR4.11536884					0,001
GG (WT)	48	100	26	74,3	
TT	0	0	9	25,7	
TLR4.4986791					0,506
CC (WT)	46	95,8	35	100	
CT	2	4,2	0	0	
TLR5.5744168					0,534
CC (WT)	42	87,5	28	80	
CT	6	12,5	7	20	

Tabelle 12: Genotypen in der Kontroll- und CRSsNP-Gruppe Häufigkeit der verschiedenen Genotypen in der Gruppe der chronischen Rhinosinusitis ohne Nasenpolypen im Vergleich zu der Kontrollgruppe bezogen auf die untersuchten TLR. Aufgeführt sind nur solche, bei denen Unterschiede bestanden und ein Vergleich möglich war (WT = Wildtyp).

4.3 TLR Polymorphismen bei gesunden und AR-Patienten

Beim Vergleich der Kontrollgruppe mit der Gruppe der an einer allergischen Rhinitis erkrankten Patienten zeigt sich weder in der Geschlechterverteilung ($p = 0,592$) noch in der Altersverteilung bei beinahe identischem Durchschnittsalter ein signifikanter Unterschied.

Bezüglich TLR2.P4696480 fallen Parallelen zu der Genotypen Verteilung der CRSwNP-Gruppe auf und auch in der CRSsNP-Gruppe zeigen sich zumindest annähernd vergleichbare Verhältnisse. Im Falle der AR Gruppe ist der heterozygote AT-Genotyp am häufigsten vertreten, der TT-Wildtyp sowie der heterozygote AA-Genotyp sind im Schnitt in etwa 22 % der untersuchten Personen nachweisbar. TLR2.5743704 zeigt in so gut wie allen untersuchten Fällen den Wildtyp. Der heterozygote CA-Genotyp tritt in der Kontrollgruppe bei einer Person auf, in der AR-Gruppe in < 10 % der Fälle. Ähnlich den Verhältnissen in der CRSsNP-Gruppe, tritt der heterozygote GA-Genotyp in der Gruppe der Allergiker signifikant ($p = 0,023$) häufiger auf.

Heterozygote Polymorphismusträger zeigten sich in den SNP TLR4.4986790 und TLR4-4986791 in der Kontrollgruppe jeweils nur in etwa 5 % der Fälle. Im Falle von TLR4.4986791 ist dieser in der AR- Gruppe gar nicht nachweisbar, während er bei TLR44986790 in knapp 20 % der Fälle nachweisbar ist. Beides liegt im nicht-signifikanten Bereich.

Ein CT-Genotyp (TLR5.5744168) findet sich in der AR-Gruppe in 31,8 % sowie in der Kontrollgruppe in 12,5 % (n. s.).

	Kontrollen	%	AR	%	p - Wert
	N = 48		N = 22		
Geschlecht					0,592
M	31	64,6	12	54,5	
W	17	35,4	10	45,5	
Alter in Jahren	48,9		47,9		0,781
TLR2.P4696480					1,00
TT (WT)	10	20,8	4	18,2	
AT	26	54,2	13	59,1	
AA	12	25,0	5	22,7	
TLR2.5743704					0,231
CC (WT)	47	97,9	20	90,9	
CA	1	2,1	2	9,1	
TLR2.5743708					0,023
GG (WT)	45	93,8	16	72,7	
GA	3	6,2	6	27,3	
TLR4.4986790					0,195
AA (WT)	45	93,8	18	81,8	
AG	3	6,2	4	18,2	
TLR4.4986791					1,00
CC (WT)	46	95,8	22	100	
CT	2	4,2	0	0	
TLR5.5744168					0,094
CC (WT)	42	87,5	15	68,2	
CT	6	12,5	7	31,8	

Tabelle 13: Genotypen in der Kontroll- und AR-Gruppe Häufigkeit der verschiedenen Genotypen in der Gruppe der allergischen Rhinitis im Vergleich zu der Kontrollgruppe bezogen auf die untersuchten TLR. Aufgeführt sind nur solche, bei denen Unterschiede bestanden und ein Vergleich möglich war (WT = Wildtyp).

4.4 TLR Polymorphismen bei CRSsNP und CRSwNP-Patienten

Betrachtet man die beiden Gruppen der Patienten, die unter einer chronischen Rhinosinusitis ohne (CRSsNP) sowie mit Polypsis nasi (CRSwNP) leiden, so zeichnet sich ein signifikanter Unterschied im Bezug auf die Altersverteilung ab (55,31 vs. 62,9 Jahre), die Verteilung der Geschlechter unterscheidet sich jedoch nicht signifikant.

Im Hinblick auf TLR2 findet sich lediglich bei TLR2.5743708 ein signifikanter ($p = 0,002$) Unterschied, hier tritt bei Patienten in der Gruppe CRSsNP der GA-Genotyp häufiger auf ($n = 9$, entsprechend 25,7 %). TLR2.P4696480 und TLR2.5743704 zeigen im Vergleich der beiden Gruppen keinen relevanten Unterschied auf, dies spiegelt die Ergebnisse der andere Gruppenvergleiche in Bezug auf diese untersuchten TLR wieder.

TLR4.11536884 weist signifikant häufiger ($p = 0,001$) einen homozygoten TT-Genotyp auf, während sich bei der Betrachtung von TLR4.4986790 keine bedeutsamen Unterschiede feststellen lassen, hier lässt sich in nahezu 90 % der Fälle der Wildtyp nachweisen. Ebenso besteht bei TLR4.4986791 kein statistisch signifikanter Unterschied.

TLR5.5744168 weist ebenfalls keinen signifikanten Unterschied auf.

	CRSsNP	%	CRSwNP	%	p - Wert
	N = 35		N = 89		
Geschlecht:					0,214
M	20	57,1	63	70,8	
W	15	42,9	26	29,2	
Alter in Jahren	55,31		62,9		0,006
TLR2.P4696480					0,114
TT (WT)	9	25,7	12	13,5	
AT	22	62,9	55	61,8	
AA	4	11,4	22	24,7	
TLR2.5743704					0,191
CC (WT)	35	100	78	87,6	
AA	0	0	2	2,25	
CA	0	0	2	2,25	
CT	0	0	7	7,9	
TLR2.5743708					0,002
GG (WT)	26	74,3	85	95,5	
GA	9	25,7	4	4,5	
TLR4.4986790					0,06
AA (WT)	30	85,7	84	94,4	
AG	5	14,3	3	3,4	
GG	0	0	2	2,2	
TLR4.11536884					0,001
GG (WT)	26	74,3	86	96,6	
TT	9	25,7	3	3,4	
TLR4.4986791					0,115
CC (WT)	35	100	83	93,3	
CT	0	0	0	0	
TT	0	0	6	6,7	
TLR5.5744168					0,065
CC (WT)	28	80	83	93,3	
CT	7	20	6	6,7	

Tabelle 14: Genotypen in der CRSsNP- und CRSwNP-Gruppe Häufigkeit der verschiedenen Genotypen im direkten Vergleich der Rhinosinusitis Gruppen mit und ohne Polypen bezogen auf die untersuchten TLR. Aufgeführt sind nur solche, bei denen Unterschiede bestanden und ein Vergleich möglich war (WT = Wildtyp).

4.5 Vergleich 1KGP mit einzelnen Gruppen

Es wurde im Folgenden verglichen, ob die gefundenen Häufigkeiten der einzelnen Genotypen mit denen der im Rahmen des 1000-Genome Projektes erhobenen Frequenzen übereinstimmen. Tabelle 15 zeigt eine Übersicht über die absoluten Häufigkeiten, die im Rahmen des 1KGP ermittelt wurden sowie über die in dieser Arbeit untersuchten Gruppen und Häufigkeiten und die im Rahmen dieser Vergleiche ermittelten p-Werte. Abbildung 11 stellt eine Übersicht der Genotypen der untersuchten Gruppen in Bezug auf den einzelnen Polymorphismus dar.

Der TLR2.4696480 SNP zeigt über die verschiedenen Gruppen hinweg keinen Unterschied im Vergleich zu den Daten des 1KGP.

TLR2.5743703 weist in der CRSsNP-Gruppe einen signifikanten ($p = 0,04$) Unterschied aufgrund des Vorhandenseins des GA-Genotyps ($n = 2$) auf, der sich ansonsten nicht nachweisen lässt. Weitere Unterschiede lassen sich nicht feststellen.

TLR2.5743704 zeigt in der CRSwNP-Gruppe häufiger den AA-Genotyp sowie eine weitere Mutante im Sinne eines CT-Genotyps ($p < 0,01$), der sich in keiner weiteren Gruppe findet.

In TLR2.5743708 weisen sowohl die CRSsNP-Patienten als auch die AR-Patienten häufiger ($p < 0,01$) als in der 1KP-Gruppe einen GA-Genotyp auf.

Bei der Analyse von TLR2.4986790 zeigt sich ein signifikanter ($p = 0,03$) Unterschied in der CRSwNP- Gruppe.

In TLR4.11536884 findet sich häufiger ($p = 0,01$ bzw. $< 0,01$) ein TT-Genotyp bei den CRS-Patienten, unabhängig davon, ob sie unter Polypen leiden. In der 1KGP-Gruppe wurde ausschließlich der Wildtyp nachgewiesen.

Bei TLR4.4986791 war ein signifikanter Unterschied ($p < 0,01$) in der CRSwNP-Gruppe zu erkennen wie auch bei der Analyse von TLR5.5744168 in Bezug auf die AR-Gruppe.

ANZAHL		1KGP	Kontrollen	CRSwNP	CRSsNP	AR	1KGP vs. Kontrollen	1KGP vs. CRSwNP	1KGP vs. CRSsNP	1KGP vs. AR
		N = 48	N = 89	N = 35	N = 22					
TLR2.4696480							0,77	0,08	0,09	0,72
	TT (WT)	121	10	12	9	4				
	AT	243	26	55	22	13				
	AA	139	12	22	4	5				
TLR2.5743703							1	1	0,04	1
	GG (WT)	503	48	89	33	22				
	GA	0	0	0	2	0				
TLR2.5743704							0,51	<0,01	0,25	0,64
	CC (WT)	473	47	78	35	20				
	AA	0	0	2	0	0				
	CA	30	1	2	0	2				
	CT	0	0	7	0	0				
TLR2.5743708							0,72	1	<0,01	<0,01
	GG (WT)	479	45	85	26	16				
	GA	24	3	4	9	6				
TLR2.4986790							0,70	0,03	0,51	0,36
	AA (WT)	449	45	84	30	18				
	AG	51	3	3	5	4				
	GG	3	0	2	0	0				
TLR4.11536884							1	0,01	<0,01	1
	GG (WT)	503	48	86	26	22				
	TT	0	0	3	9	0				
TLR4.4986791							0,34	<0,01	0,08	0,25
	CC (WT)	448	46	83	35	22				
	CT	52	2	0	0	0				
	TT	3	0	6	0	0				
TLR5.5744168							0,89	0,16	0,15	0,005
	CC (WT)	443	42	83	28	15				
	CT	59	6	6	7	7				

Tabelle 15: Gruppenvergleiche mit den Daten des 1KGP-Projektes

4.6 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend kann anhand der vorliegenden Daten für die nachfolgenden Polymorphismen eine mögliche Assoziation zu der chronischen Rhinosinusitis bzw. allergischen Rhinitis postuliert werden.

Bezüglich des TLR4.4986791 SNP findet sich in der CRSwNP-Gruppe häufiger ein homozygoter TT-Genotyp als in der Kontrollgruppe.

TLR2.5743708 lässt sich als heterozygoter GA-Genotyp häufiger sowohl in der CRSsNP- als auch in der AR-Gruppe nachweisen, was auf eine mögliche Suszeptibilität hindeuten könnte. Beachtenswert ist, dass sich der genannte Unterschied nicht in der CRSwNP-Gruppe wiederfindet.

In der CRSsNP-Gruppe lässt sich weiterhin häufiger der TT-Genotyp (TLR4.11536884) nachweisen. Auch in diesem Fall findet sich in der entsprechenden CRSwNP-Gruppe kein signifikanter Unterschied. Dies könnte erneut die Hypothese unterstützen, dass es sich bei der chronischen Rhinosinusitis mit/ohne Polypen um zwei separate Entitäten handelt (Van Zele et al., 2006).

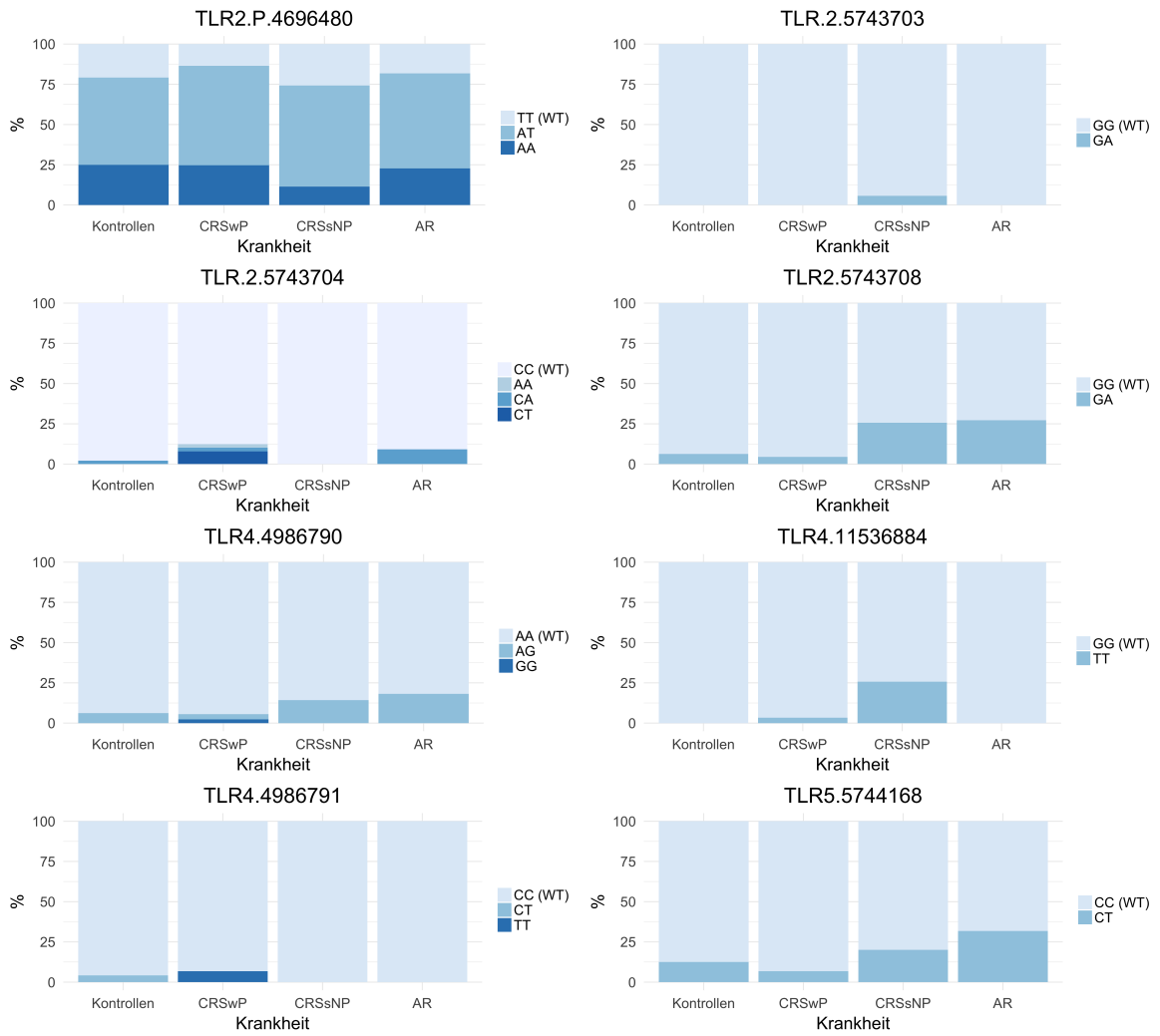


Abb. 11: Häufigkeiten der Genotypen aller Gruppen bezogen auf den einzelnen Polymorphismus

5 Diskussion

Erste genetische Polymorphismen wurden vor nunmehr 20 Jahren im Jahre 2000 für TLR 4 entdeckt (D299G und T399I). Die beschriebenen SNP deuten aufgrund der fehlenden Immunantwort bei einer Infektion mit gram-negativen Bakterien auf eine gesteigerte Anfälligkeit von Patienten für eine Sepsis hin (Lorenz et al., 2002; Schröder und Schumann, 2005).

Genetische Polymorphismen und die Assoziation zu bestimmten Krankheiten sind derzeit, auch bei TLR, Gegenstand intensiver Forschung. So bestehen beispielsweise Hinweise für eine Assoziation zu der Sepsis (s. oben) im Allgemeinen wie auch zu Meningokokkeninfektionen. Gleichzeitig finden sich auch Hinweise für eine Korrelation zwischen bestimmten SNP und inflammatorischen Erkrankungen wie etwa der Arteriosklerose (Hodgkinson und Ye, 2011) oder Asthma sowie weiteren Krankheiten des atopischen Formenkreises (Chen et al., 2011). Auch bei Autoimmunkrankheiten, wie beispielweise dem Lupus erythematoses, werden Assoziationen zwischen SNP und der Krankheitsentstehung bzw. dem Verlauf beschrieben (Lee et al., 2012).

Dies sind nur einige von unzähligen Beispielen, bei denen Toll-like-Rezeptoren bzw. deren Polymorphismen eine Rolle spielen (könnten).

Die Erkennung von genetischen Polymorphismen kann daher unter Umständen wertvolle Informationen zur Einteilung in Risikogruppen und möglicherweise auch zur Therapie liefern. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher eine mögliche Korrelation zwischen den in Tabelle 9 beschriebenen SNP und dem Auftreten der chronischen und allergischen (Rhino)Sinusitis überprüft.

5.1 Assoziation von Polymorphismen in TLR 2 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS

Die Häufigkeit und Bedeutung speziell der chronischen Rhinosinusitis und die damit verbundenen Beschwerden wurde bereits dargestellt. Im Rahmen der chronischen Rhinosinusitis spielt sich ein wesentlicher Teil der bisher bekannten Pathogenese im Bereich der Nasenschleimhaut (*first-line of defence*) ab, deren Aufgabe die Reinigung der eingeatmeten Luft ist und die gleichzeitig auch das Zielorgan des infektiösen Geschehens ist.

Als eine der möglichen Ursachen für die Entstehung einer chronischen Rhinosinusitis gilt die Besiedelung/Infektion mit Bakterien. Vor allem kommen hier *Staphylokokkus aureus* und koagulase-negative Stahylokokken in Frage (Brook et al. (2008), siehe auch 1.2.5.3). Zu einem geringeren Anteil sollen ebenso anaerobe und gram-negative Bakterien wie beispielsweise *Pseudomonas aeruginosa* eine Rolle spielen (Brook, 2005).

Eine zentrale Bedeutung kommt hier dem TLR2-Rezeptor (Chromosom 4q32) zu, der neben der Erkennung von Pilzen unter anderem an der Erkennung von Peptidoglykanen (PGN) als wesentlichem Bestandteil der Zellmembranen von gram-positiven Bakterien, wie *Staphylokokkus aureus*, beteiligt ist. TLR 4 scheint an dieser Reaktion ebenso beteiligt zu sein.

Insgesamt existieren zwar zahlreiche Arbeiten, die sich mit einzelnen Polymorphismen und deren Assoziation zu bestimmten Erkrankungen beschäftigen, häufig jedoch mit widersprüchlichen Ergebnissen, so dass eine eindeutige Aussage bezüglich eines Zusammenhanges zwischen dem Auftreten einer Erkrankung und dem untersuchten SNP in der Mehrzahl der Fälle kaum valide möglich ist.

Die in dieser Arbeit gefundene signifikante Korrelation zwischen dem heterozygoten GA-Genotyp (TLR2.5743708) und dem Auftreten der chronischen Rhinosinusitis ohne Polypen sowie der allergischen Rhinitis deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren. Der SNP rs5743708 führt an Position 753 durch einen Aminosäureaustausch (Arginin wird durch Glutamin ersetzt) zu einem veränderten Antwortverhalten nach Bindung der oben beschriebenen Liganden.

So fand die Arbeitsgruppe um Kormann et al. heraus, dass bei den von ihnen untersuchten 3099 Kindern solche mit der heterozygoten Mutation anfälliger für Erkrankungen des atopischen Formenkreises waren. Dies wurde von den Autoren auf eine reduzierte TLR 2-Aktivität mit reduzierter NF- κ B und verminderter Il-8-Produktion zurückgeführt. Il-8 ist über die Aktivierung bestimmter Rezeptoren mitverantwortlich für die Chemotaxis der neutrophilen Granulozyten, so dass ein reduzierter Spiegel eine gleichermaßen reduzierte Immunantwort bedingt, was letztlich wahrscheinlich (mit)verantwortlich für den chronischen Entzündungsprozess der CRS und AR ist (Kormann et al., 2009). Nahezu identische Effekte und Mechanismen wurden auch in Bezug auf weitere Erkrankungen beobachtet. So stellte sich heraus, dass Neugeborene mit der heterozygoten GA-Mutation deutlich häufiger von einer Cytomegalievirus-Infektion betroffen waren als Träger des Wildtypes (Wujcicka et al., 2016).

Ebenso zeigten Smeekens et al. auf, dass Patienten mit dem genannten Genotyp häufiger an einer Candida Sepsis erkranken. Auch hier spielt maßgeblich die reduzierte Il-8-Produktion eine Rolle (Smeekens et al., 2013).

Vergleichbare Daten wurden auch von der Arbeitsgruppe um Tyurin et al. erhoben. Die Forscher verglichen Patienten mit atopischer Dermatitis und allergischer Rhinitis und bestätigten ebenfalls, dass die heterozygoten GA-Genotypen signifikant häufiger im Bereich des erkrankten Kollektives anzutreffen sind. Die Arbeitsgruppe untersuchte jedoch nicht Il-8, sondern fand erhöhte Spiegel des Interleukins 10. Il-10 weist eine Reihe komplexer Interaktionen auf. Es supprimiert unter anderem die Transkription von NF- κ B und führt so zu einer Art „Immundefizienz“, die für den einzelnen Organismus zu einer erhöhten Anfälligkeit für entzündliche Prozesse führt (Tyurin et al., 2017).

Auch dies stützt die Hypothese, dass rs5743708 mitverantwortlich für die Entstehung der CRSsNP und AR sein könnte.

Untermauert wird dies weiterhin durch eine Metaanalyse von Tizaoui et al.. Hier fanden die Autoren heraus, dass SNP rs5743708 signifikant mit dem Auftreten und teilweise auch dem Schweregrad der an Asthma bronchiale erkrankten Patienten assoziiert ist (Tizaoui et al., 2015b). Im Rahmen asthmatischer Erkrankungen lässt sich eine ähnliche Pathophysiologie finden, auch hier spielt eine chronische Entzündungsreaktion eine Rolle. Das Auftreten einer CRS erhöht somit auch das Risiko, an Asthma zu erkranken.

Weshalb der GA-Genotyp in der vorliegenden Untersuchung in der CRSwNP-Gruppe nicht in dem Ausmaße nachweisbar ist, wie es aufgrund der Pathophysiologie zu erwarten wäre, bleibt zu diesem Zeitpunkt unklar.

Die weiteren in dieser Arbeit untersuchten TLR 2 SNP zeigen keinerlei signifikante Unterschiede. TLR2.P4696480 lässt sich über alle Gruppen (CRS \pm NP und AR) in etwa der gleichen Häufigkeit nachweisen. Der TT-Wildtyp ist jeweils, im Verhältnis zu den Mutationen, in der geringsten Häufigkeit anzutreffen. Am häufigsten findet sich der heterozygote AT-Genotyp sowohl in den untersuchten Gruppen als auch in der Kontrollgruppe. Untersuchungen zu Assoziationen zwischen rs4696480 und der CRS existieren so gut wie keine, daher wird an dieser Stelle stellvertretend auf Untersuchungen zu Erkrankungen des atopischen Formenkreises zurückgegriffen. Eine mögliche Assoziation wurde in der Mehrzahl der Arbeiten nicht gefunden, exemplarisch sei hier auf Weidinger et al. (2006) sowie Lau et al. (2017) verwiesen.

Der SNP rs5743704 führt zu einem Austausch von Prolin gegen Histidin an Position 631

(Pro631His). Ein signifikanter Zusammenhang lässt sich in keiner der Gruppen nachweisen. In der CRSsNP-Gruppe wurde ausschließlich der Wildtyp nachgewiesen und auch in der CRSwNP-Gruppe sind sowohl der heterozygote CA- wie auch der homozygote AA-Genotyp nur in geringer Häufigkeit (je 2,25 %) anzutreffen.

Eine weitere Mutation im Sinne eines CT-Genotypes findet sich bei Patienten mit CRSwNP in etwa 8 % (n = 7) der Fälle. Insgesamt ist rs5743704 in Bezug auf die chronische und allergische Rhinitis unzureichend untersucht. Es existieren einige Arbeiten, die die Korrelation mit schweren Erkrankungen mit überwiegend chronischen Verläufen wie beispielsweise der Pankreatitis, COPD und Tuberkulose oder auch Autoimmunerkrankungen wie der Sklerodermie untersuchen. Insgesamt ist die Bewertung jedoch uneinheitlich. Während für die Pankreatitis (Matas-Cobos et al., 2015) und COPD (Budulac et al., 2012) bzw. Tuberkulose (Panwar et al., 2016) keine Assoziation gefunden werden konnte, deutet im Falle der Sklerodermie (Korman und Criswell, 2015) zumindest eine Studie auf eine mögliche Assoziation hin. Ein Zusammenhang mit dem Nachweis des SNP rs5743704 wurde auch für andere Autoimmunerkrankungen wie beispielsweise der rheumatoiden Arthritis postuliert. Dieser scheint jedoch für Infektionserkrankungen aktuell zu fehlen. Der CT-Genotyp wird in den Daten des 1KGP nicht beschrieben, er findet sich lediglich in der CRSwNP-Gruppe (n. s.).

In der Gruppe der Patienten, die an einer chronischen Rhinosinusitis ohne Polypen leiden, lässt sich der heterozygote GA-Genotyp, im Gegensatz zum Kollektiv des 1KGP, in dem er nicht nachweisbar war, in knapp 6 % der Fälle (n = 2) nachweisen. Auch hier ist die Studienlage dürftig, es existieren insgesamt nur wenige Untersuchungen. Ein Zusammenhang mit chronischen Lungenerkrankungen (Lee et al., 2006) scheint nicht zu bestehen. Angaben zur Häufigkeit finden sich ebenso kaum. In der Untersuchung von Baker et al. (Baker et al., 2012) lässt sich der SNP in knapp 1 % der Fälle nachweisen, seine Bedeutung bleibt unklar.

Weitere Polymorphismen lassen sich in dieser Arbeit in Bezug auf TLR 2 nicht nachweisen.

5.2 Assoziation von Polymorphismen in TLR 4 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS

Ein weiterer bedeutender und bezüglich seiner Liganden und seines Signaltransduktionsweges bereits gut untersuchter und charakterisierter Toll-like-Rezeptor ist TLR 4, unter anderem weil dieser in der TLR-Familie den komplexesten Signalweg besitzt und alle Adapterproteine gleichzeitig aktivieren kann (Vogel et al., 2003).

TLR 4 wird einerseits, wie bereits beschrieben, durch PAMPs aktiviert, andererseits mutmaßlich ebenso durch Liganden, die bei entzündlichen Prozessen und Gewebeerkrankungen freigesetzt werden. Zu den von TLR 4 erkannten und bereits identifizierten endogenen Liganden zählen beispielsweise Fibronectin oder verschiedene Hitze-Schock-Proteine, während Teile der Oberfläche von gram-negativen Bakterien (LPS) oder Pilzen (Mannan) zu seinen wichtigen exogenen Liganden gezählt werden. Eine Übersicht hierzu findet sich in Tabelle 2.

Die Interaktion von LPS mit TLR 4 findet in einem Komplex mit dem LPS-bindenden Protein (LBP), CD 14 und einem Molekül namens MD-2 (*myeloid differentiation factor-2*) statt. SNP rs4986790 führt zu Strukturveränderungen und Veränderungen der Oberflächeneigenschaften des Rezeptors, während rs4986791 zu keiner strukturellen Veränderung beitragen soll (Ohto et al., 2012). Dies ist möglicherweise auch die Ursache dafür, dass ersterer häufiger zu Assoziationen mit schweren, chronischen Erkrankungen führt als rs4986791.

SNP zählen zu den am häufigsten beobachteten genetischen Veränderungen innerhalb einer Population (Schröder und Schumann, 2005). Innerhalb des TLR-4-Genoms wurden in der kaukasischen Bevölkerung 13 verschiedene SNP beschrieben (Orange und Geha, 2003), von denen zwei (rs4986790 und rs4986791; *missense*-Mutationen) mit einer Frequenz von > 5 % vorkommen. Diese zwei gehören gleichzeitig aufgrund ihrer Häufigkeit zu den in Studien am besten untersuchten SNP.

Die SNP rs4986790 (A>G) und rs4986791 (C>T) des TLR-4-Gens befinden sich im vierten Exon und beeinflussen die extrazelluläre Domäne des Moleküls, die mit einer veränderten, das heißt verringerten, Rezeptorantwort verbunden ist. Dies ist bereits bekannt. Arbour et al. fanden vor beinahe 20 Jahren heraus, dass durch die beiden SNP zum einen der Transport des Rezeptors an die Zellmembran verhindert wird oder dieser ein verändertes Bindungsverhalten für Liganden (beispielsweise LPS) zeigt (Arbour et al., 2000; Figueroa

et al., 2012). Denkbar wäre also, dass durch die veränderte Rezeptorantwort und die verminderte Ausschüttung von Interferonen eine chronische Entzündungsreaktion gefördert bzw. unterhalten wird.

In dieser Arbeit zeigt sich jedoch für rs4986790 weder in Bezug auf die CRS noch die AR eine signifikante Assoziation, obwohl diese in zahlreichen Arbeiten für Infektionen mit gram-negativen Erregern und konsekutiv erhöhter Anfälligkeit für eine Sepsis nachgewiesen wurde (Agnese et al., 2002; Lorenz et al., 2002). Zu beachten ist allerdings, dass auch in diesem Fall widersprüchliche Daten existieren, so dass unter anderem Read et al. keinen Zusammenhang mit einer erhöhten Infektanfälligkeit nachweisen konnten (Read et al., 2001).

Erwähnenswert ist weiterhin, dass SNP ebenso protektive Funktionen haben können. So kann rs4986790 beispielsweise vor einer cerebralen Malaria Infektion schützen (Ferwerda et al., 2008).

Dies passt erneut in das uneinheitliche Bild und verdeutlicht, dass es häufig wahrscheinlich nicht das Vorhandensein bzw. die Abwesenheit eines einzelnen SNP ist, welcher eine erhöhte Anfälligkeit bedingt. Vielmehr handelt es sich um ein komplexes Zusammenspiel, bedingt durch Interaktionen zwischen einzelnen TLR sowie zwischen TLR und anderen, für das Immunsystem wichtigen Proteinen. Zuletzt darf eine Beeinflussung durch äußere Umweltfaktoren ebenso nicht außer Acht gelassen werden.

Der zweite SNP (rs4986791) tritt in der Gruppe der CRS-Patienten mit Polypen signifikant häufiger auf ($p = 0,029$). Hierbei handelt es sich um den homozygoten TT-Genotyp. In den anderen Gruppen lässt sich dieser in keinem der untersuchten Patienten nachweisen.

Im Vergleich zu rs4986790 existieren für rs4986791 aufgrund seiner geringeren Häufigkeit und potenziell weniger bedeutsamen Auswirkungen insgesamt weniger Daten, speziell bezogen auf den Bereich der CRS.

Eine Reihe von Untersuchungen fanden eine Assoziation zwischen rs4986791, der zu einer Cytosin-Thymin-Substitution an Position 1196 führt, und malignen Erkrankungen. Ein gehäuftes Auftreten des Polymorphismus wurde unter anderem für das Gallenblasenkarzinom, das Pankreaskarzinom wie auch für das Bronchialkarzinom nachgewiesen (Kurt et al., 2016; Kutikhin, 2011; Rigoli et al., 2010). Loganathan et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen dem Auftreten von rs4986791 und einer chronischen Infektion mit *Helicobacter pylori*, die wiederum mit dem gehäuften Auftreten von Magenkarzinomen

und Lymphomen vergesellschaftet ist. Auch hier konnte ein signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden (Loganathan et al., 2017).

Dies wiederum stützt die Hypothese, dass die SNP mitverantwortlich für die veränderte Immunantwort des betroffenen Organismus sind. *Helicobacter pylori*, ein gram-negatives Stäbchen, kann aufgrund der unzureichenden Produktion von proinflammatorischen Zytokinen nicht vernichtet werden und kann so über eine chronische Infektion zu der Entwicklung eines Magenkarzinoms beitragen. Dies könnte somit auch die Entwicklung der CRSwNP fördern. Warum der SNP in den anderen Gruppen nicht in gleicher Signifikanz nachweisbar ist, muss an dieser Stelle unbeantwortet bleiben.

Der SNP rs11536884, dessen homozygote TT-Variante signifikant häufiger ($p = 0,001$) in der CRSsNP-Gruppe auftritt, ist bis heute kaum untersucht. Über Zusammenhänge mit anderen chronischen Erkrankungen oder funktionelle Auswirkungen existieren noch keine gesicherten Erkenntnisse. Aus diesem Grunde kann an dieser Stelle auch keine Aussage über die Bedeutung getroffen werden, so dass es bei der reinen Beschreibung bleiben muss. Weitere Untersuchungen müssen Aufschluss über die Bedeutung von rs11536884 geben.

5.3 Assoziation von Polymorphismen in TLR 5 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS

Toll-like-Rezeptor 5, dem innerhalb der TLR Familie unter anderem das Erkennen von Flagellin, einem (Haupt)Bestandteil begeißelter Bakterien obliegt, kann so auf eindringende Mikroorganismen wie beispielsweise Legionellen oder Salmonellen mit einer erhöhten Zytokinproduktion reagieren. Ein in mehreren Studien untersuchter SNP ist rs5744168. Hier kommt es an Aminosäureposition 392 zu einem Austausch von Arginin durch ein STOP-Codon (Arg³⁹²Stop), der zu einem völligen Verlust der Fähigkeit zur Erkennung von Flagellin führen kann. In der Literatur wird die Frequenz des SNP zwischen 10 und 23 % angegeben (Netea et al., 2012), die sich geringfügig von der in dieser Arbeit ermittelten Frequenz unterscheidet (Kontrollgruppe: 13 %, Patientengruppen: 6,7 bis 31,8 %). Die Konsequenz aus dem *missense*-Polymorphismus ist unter anderem eine Reduktion der Produktion von Interleukin 10 (West et al., 2013). Wie bereits beschrieben kommt es hierdurch zu einer unzureichenden Immunantwort unter anderem durch Hemmung der Phagozytose und Verhinderung der Ausdifferenzierung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen und in der Folge zu einer erhöhten Anfälligkeit für Infektionen.

Auch im Falle von TLR 5 und dem SNP rs5744168 ist die Datenlage, vergleichbar den anderen TLR, nicht einheitlich. Der in vielen Studien erbrachte Nachweis der Assoziation mit bakteriellen Infektionen durch gram-negative Erreger wie etwa der Legionärskrankheit, Harnwegsinfektionen oder auch der Melioidose (Hawn et al., 2003, 2009; Chaichana et al., 2017) stützt erneut die Hypothese, dass auch rs5744168 über diesen Mechanismus bei der Entstehung der CRS und AR eine Rolle spielen könnte. Eine signifikante Häufung des SNP lässt sich jedoch in weder in der Kontrollgruppe noch in einer der Patientengruppen feststellen. In der Gruppe der AR-Patienten findet sich zwar der SNP mit knapp 32 % am häufigsten, ein signifikanter ($p = 0,094$) Zusammenhang besteht jedoch nicht. In der Gruppe der CRSsNP lässt sich der SNP in 1/5 der Fälle nachweisen. Auch hier besteht jedoch kein signifikanter Zusammenhang. Im Vergleich zu vielen der bereits erwähnten Erkrankungen, ist der Zusammenhang zwischen rs5744168 und dem Auftreten der Autoimmunerkrankung Lupus erythematoses, speziell der systemischen Verlaufsform (SLE), verhältnismäßig gut untersucht. Dem SLE liegt eine gesteigerte Immunantwort zugrunde, die letztlich in der erhöhten Produktion von antinukleären - Antikörpern (ANA) resultiert, die wiederum körpereigene Zellen schädigen. Mehrere Studien zeigen nun, dass rs5744168 nicht mit dem

Auftreten der Autoimmunerkrankung assoziiert ist bzw. bei den untersuchten Personen, die den SNP aufweisen, SLE seltener auftritt (Wen et al., 2015; Elloumi et al., 2017). Dies zeigt nochmals, dass TLR ein kleiner, jedoch wichtiger Bestandteil in dem komplexen System der Immunantwort sind. Aufgrund der verminderten Immunantwort bilden sich insgesamt niedrigere Antikörperspiegel aus, so dass die Erkrankung seltener auftritt.

Dies erklärt umgekehrt das gehäufte Auftreten bakterieller Infektionen bzw. Besiedelung des jeweiligen Organismus. Hier bestehen also Parallelen zur Pathogenese der CRS und AR.

5.4 Assoziation von genetischen Polymorphismen in TLR 9 und dem Auftreten der allergischen Rhinitis/CRS

TLR 9 erkennt hauptsächlich sogenannte CpG-Sequenzmotive (Cytosin-Phosphat-Guanin). Dies sind Bestandteile, die in unterschiedlicher Form sowohl in der DNA von Wirbeltieren als auch im Genom von Mikroorganismen wie Bakterien und Viren vorkommen. Der wesentliche Unterschied besteht darin, dass in bakterieller und viraler DNA das Cytosin in nicht-methylierter Form vorliegt, während im Genom von Wirbeltieren selbiges in methylierter Form vorhanden ist.

Die Einschränkungen bezüglich der vorherrschenden Daten-/Studienlage betreffend SNP und chronischer und allergischer Rhinitis, die für die TLR 2, 4 und 5 gelten, treffen ebenso auf TLR 9 zu.

Ramanathan et al. fanden heraus, dass Patienten mit CRSwNP eine signifikant niedrigere Expression des TLR 9 in der Nasenschleimhaut aufwiesen als die untersuchte Kontrollgruppe. Dies deutet auf eine Beteiligung des TLR an der chronischen Entzündungsreaktion hin (Ramanathan et al., 2007). Im Gegensatz hierzu stellten Melvin et al. das Gegenteil, nämlich eine erhöhte Expression des TLR 9 fest (Melvin et al., 2013). Festzustehen scheint also, dass TLR 9 eine Rolle spielt. Welche diese genau ist, muss weiter untersucht werden.

Der untersuchte Polymorphismus rs5743837 liegt im Promoterbereich der für TLR 9 kodierenden Sequenz. Als Teil des „genregulatorischen Bereiches“ ist er für die regulierte Expression eines bestimmten Gens zuständig. Hier könnten Sequenzvariationen also zur möglichen Über- bzw. Unterexpression eines Gens führen.

Bezogen auf das hier vorliegende Kollektiv konnte der beschriebene SNP nicht nachgewiesen werden. Eine Assoziation zu der CRS oder AR scheint nicht vorzuliegen.

Der SNP rs5743837 wurde allerdings gemäß dem *National Center for Biotechnology Information* (Zugriff 01.02.2017) bisher auch in keiner weiteren Studie untersucht, so dass weitere Untersuchungen notwendig sind.

5.5 Vergleich der Gruppen mit 1KGP

Das 1000-Genome-Projekt (1KGP), das im Zeitraum von 2008 bis 2015 realisiert wurde, hatte zum Ziel, eine vollständige Sequenzierung des menschlichen Genoms von etwa 2500 Personen durchzuführen (Auton et al., 2015). Im Rahmen der Sequenzierung wurden etwa 84 Millionen SNP festgestellt. Dies unterstreicht nochmals die Heterogenität des menschlichen Erbgutes.

Die erhobenen Daten sind weltweit frei und kostenlos für Wissenschaftler zugänglich. Die genetische Analyse erstreckte sich auf Personen aus 26 Bevölkerungsgruppen, die wiederum in fünf größere Gruppen (Afrika (AFR), Ost-Asien (EAS), Europa (EUR), Süd-Asien (SAS) und Amerika (AMR)) zusammengefasst wurden.

Für den hier vorgenommenen Vergleich wurden die Daten der europäischen Bevölkerung (EUR) des 1000 Genome Projektes herangezogen. Ziel war es, die in dieser Arbeit erhobenen Daten bzw. Häufigkeiten mit denen einer Stichprobe der europäischen Bevölkerung zu vergleichen, wobei die untersuchten Personen, soweit bekannt ist, nicht erkrankt waren. Im Speziellen litten sie also nicht an einer CRS±NP oder allergischen Rhinitis. In 75 % der verglichenen Gruppen ließ sich kein signifikanter Unterschied nachweisen, während 25 % sich statistisch signifikant unterschieden.

Es fiel auf, dass sich die SNP-Häufigkeiten des 1KGP nicht (signifikant) von denen der hier untersuchten Kontrollgruppe unterschieden, was wiederum die Hypothese untermauert, dass die untersuchten SNP eine Rolle in der Pathogenese der CRS und AR spielen.

Unterschiede finden sich vornehmlich in den CRS-Gruppen, während sich bei der AR-Gruppe nur in einem einzigen Fall (TLR2.5743708) ein wesentlicher Unterschied feststellen lässt.

Für eine Übersicht wird auf Tabelle 15 und Kapitel 4.5 verwiesen. Abschließend sei noch darauf hingewiesen, dass bei den Vergleichen der Daten des 1KGP mit den hier erhobenen Daten in Hinblick auf die statistische Signifikanz zwei Einschränkungen zu beachten sind. Zum einen handelt es sich um verhältnismäßig kleine Fallzahlen, so dass hier möglicherweise in Einzelfällen ein signifikanter Unterschied entsteht, der in einem größeren Kollektiv nicht mehr in diesem Ausmaß nachzuweisen wäre.

Zum anderen wurde im Rahmen der Studie die ethnische Zugehörigkeit nicht erfasst. Dies spielt insofern eine Rolle, als das sich - in manchen Fällen - bedeutsame Unterschiede in der Frequenz einzelner SNP ergeben. Beispielfhaft sei hier TLR2.5743703 erwähnt. Betrachtet

man die CRSwNP-Gruppe so fällt ein Unterschied im Vergleich zu dem Kollektiv des 1KGP auf. Der GA-Genotyp tritt ausschließlich in der CRS-NP Gruppe auf (etwa 6 %). Würde als Referenz nicht die europäische Bevölkerung (EUR) sondern die afrikanische (AFR) zugrunde gelegt werden (2 % der Fälle), würde der Unterschied bedeutend geringer ausfallen. Dies sollte bei der Interpretation der Daten bedacht werden.

5.6 Fehlermöglichkeiten und Grenzen dieser Studie

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich, wie oben beschrieben, um eine Fall-Kontrollstudie, so dass die allgemeinen Einschränkungen bezüglich der Durchführung solcher Studien gelten. Es handelt sich insgesamt um eine Pilotstudie mit einer verhältnismäßig geringen Anzahl von Probanden. Weitere Untersuchungen mit einem zahlenmäßig größeren Kollektiv sind sinnvoll, um die Erkenntnisse zu verifizieren.

Die ethnische Zugehörigkeit der untersuchten Personen wurde nicht erfasst, so dass die vorliegenden Ergebnisse nicht ohne Weiteres auf andere Bevölkerungsgruppen (bspw. unterschiedliche Allelfrequenzen bei Asiaten) übertragen bzw. mit denen verglichen werden können (vgl. hierzu auch 5.5). Es ist jedoch aufgrund unserer Patientenstruktur und in anderen Studien unserer Klinik erhobenen Daten davon auszugehen, dass die Mehrheit der Patienten kaukasisch sind.

Die Auswahl der Kontrollen erfolgte in Teilen krankenhausbasiert, was unter Umständen eine herabgesetzte Repräsentativität zur Folge haben könnte. Weiterhin erfolgte bezüglich der Erkrankten und der Kontrollgruppe kein *matching*.

Trotz der genannten Umstände, die in weiten Teilen ebenso für viele der zitierten Publikationen gleichermaßen zutreffen, lässt sich eine Assoziation zwischen den in 4.6 beschriebenen SNP und der CRS / AR nicht von der Hand weisen.

5.7 Ausblick

Die Ergebnisse dieser Arbeit weisen daraufhin, dass bestimmte Polymorphismen bei der Entstehung der CRS±NP und der AR eine Rolle spielen könnten. Mit Hilfe von genomischen Untersuchungen wäre, auch in multimodaler Analyse mit weiteren Patientendaten, so zukünftig ggfs. eine bessere Einschätzung des Risikos oder des Krankheitsverlaufs für eine

CRS mit oder ohne Polypen sinnvoll. Inwieweit diese SNP als beispielsweise Screeninginstrument eingesetzt werden könnten, muss in weiterführenden Studien mit einer größeren Fallzahl überprüft werden. Möglicherweise bieten die untersuchten SNP zukünftig auch einen Behandlungsansatz für die CRS und AR, was bei der großen volkswirtschaftlichen Bedeutung der Erkrankungen wünschenswert wäre.

Vereinzelt existieren bereits Medikamente, wenn auch nicht für die CRS/AR, die bereits TLR als Angriffspunkt verwenden. Exemplarisch sei hier auf Imiquimod[®] und Isatoribine[®] verwiesen.

Beide TLR-7-Agonisten haben sich als nützlich in der Behandlung von malignen Erkrankungen bzw. der viralen Replikationshemmung erwiesen, auch wenn der genaue Wirkmechanismus bisher noch unbekannt ist. Imiquimod[®] wird zur topischen Therapie des Baszellkarzinomes sowie zur Therapie von aktinischen Keratosen verwendet.

Isatoribine[®] wird in der Behandlung der chronischen Hepatitis C eingesetzt. Hier führt es zu einer reduzierten Viruslast ([Horsmans et al., 2005](#)).

Diese Beispiele zeigen, dass weitere Untersuchungen für neue Behandlungsansätze notwendig sind.

Literaturverzeichnis

- Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ et al.** «Human toll-like receptor 4 mutations but not cd14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections.» In *The Journal of infectious diseases*, Band 186: Seiten 1522–5, 2002.
- Akira S, Takeda K und Kaisho T.** «Toll-like receptors: critical proteins linking innate and acquired immunity.» In *Nat Immunol*, Band 2 (8): Seiten 675–80, 2001.
- Akira S, Uematsu S und Takeuchi O.** «Pathogen recognition and innate immunity.» In *Cell*, Band 124 (4): Seiten 783–801, 2006.
- Anderson KV, Jurgens G und Nusslein-Volhard C.** «Establishment of dorsal-ventral polarity in the drosophila embryo: Genetic studies on the role of the toll gene product.» In *Cell*, Band 42 (3): Seiten 779–789, 1985.
- Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC et al.** «Tlr4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans.» In *Nature Genetics*, Band 25: Seite 187, 2000.
- Auton A, Brooks LD, Durbin RM et al.** «A global reference for human genetic variation.» In *Nature*, Band 526: Seiten 68–74, 2015.
- Bachert C und Holtappels G.** «Pathophysiologie der chronischen rhinosinusitis, konservative therapieoptionen.» In *Laryngo-Rhino-Otol*, Band 94 (S 01): Seiten S32–S63, 2015.
- Baker AR, Qiu F, Randhawa AK et al.** «Genetic variation in tlr genes in ugandan and south african populations and comparison with hapmap data.» In *PLoS ONE*, Band 7 (10): Seite e47597, 2012.
- Baumann I, Blumenstock G, Demaddalena H et al.** «Quality of life in patients with chronic rhinosinusitis : Validation of the sino-nasal outcome test-20 german adapted version.» In *HNO*, Band 55 (1): Seiten 42–7, 2007.
- Baumann I, Blumenstock G, Praetorius M et al.** «Patients with chronic rhinosinusitis: disease-specific and general health-related quality of life.» In *HNO*, Band 54 (7): Seiten 544–9, 2006.

- Benninger M, Ferguson B, Hadley J et al.** «Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology.» In *Otolaryngol Head Neck Surg*, Band 129 (3 Suppl): Seiten S1–32, 2003.
- Beutler B.** «Inferences, questions and possibilities in toll-like receptor signalling.» In *Nature*, Band 430 (6996): Seiten 257–63, 2004.
- Biel M, Brown C, Levinson R et al.** «Evaluation of the microbiology of chronic maxillary sinusitis.» In *Ann Otol Rhinol Laryngol*, Band 107 (11 Pt 1): Seiten 942–5, 1998.
- Boita M, Bucca C, Riva G et al.** «Release of type 2 cytokines by epithelial cells of nasal polyps.» In *Journal of immunology research*, Band 2016: Seite 2643297, 2016.
- Brook I.** «Microbiology of acute and chronic maxillary sinusitis associated with an odontogenic origin». In *The Laryngoscope*, Band 115 (5): Seiten 823–825, 2005.
- Brook I, Foote PA und Hausfeld JN.** «Increase in the frequency of recovery of meticillin-resistant staphylococcus aureus in acute and chronic maxillary sinusitis». In *Journal of Medical Microbiology*, Band 57 (8): Seiten 1015–1017, 2008.
- Budulac SE, Boezen HM, Hiemstra PS et al.** «Toll-like receptor (tlr2 and tlr4) polymorphisms and chronic obstructive pulmonary disease». In *PloS one*, Band 7 (8): Seite e43124, 2012.
- Carty M, Goodbody R, Schröder M et al.** «The human adaptor sarm negatively regulates adaptor protein trif-dependent toll-like receptor signaling.» In *Nat Immunol*, Band 7 (10): Seiten 1074–81, 2006.
- Catten M, Murr A, Goldstein J et al.** «Detection of fungi in the nasal mucosa using polymerase chain reaction.» In *Laryngoscope*, Band 111 (3): Seiten 399–403, 2001.
- Chaichana P, Chantratita N, Brod F et al.** «A nonsense mutation in tlr5 is associated with survival and reduced il-10 and tnf- α levels in human melioidosis». In *PLoS neglected tropical diseases*, Band 11 (5): Seite e0005587, 2017.
- Chen K, Xiang Y, Yao X et al.** «The active contribution of toll-like receptors to allergic airway inflammation.» In *International immunopharmacology*, Band 11 (10): Seiten 1391–8, 2011.

- Chen ZJ.** «Ubiquitin signalling in the nf-[kappa]b pathway». In *Nat Cell Biol*, Band 7 (8): Seiten 758–765, 2005.
- Claeys S, de Belder T, Holtappels G et al.** «Human beta-defensins and toll-like receptors in the upper airway.» In *Allergy*, Band 58 (8): Seiten 748–53, 2003.
- Colonna M.** «Tlr pathways and ifn-regulatory factors: To each its own». In *European Journal of Immunology*, Band 37 (2): Seiten 306–309, 2007.
- Cristofaro P und Opal SM.** «Role of toll-like receptors in infection and immunity: clinical implications». In *Drugs*, Band 66 (1): Seiten 15–29, 2006.
- Cunningham JM, Chiu EJ, Landgraf JM und Gliklich RE.** «The health impact of chronic recurrent rhinosinusitis in children». In *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, Band 126 (11): Seiten 1363–1368, 2000.
- Detwiler KY, Smith TL, Alt JA et al.** «Differential expression of innate immunity genes in chronic rhinosinusitis.» In *American journal of rhinology & allergy*, Band 28 (5): Seiten 374–7, 2014.
- Eloumi N, Fakhfakh R, Abida O et al.** «Relevant genetic polymorphisms and kidney expression of toll-like receptor (tlr)-5 and tlr-9 in lupus nephritis.» In *Clinical and experimental immunology*, Band 190: Seiten 328–339, 2017.
- Ferwerda B, McCall MBB, Verheijen K et al.** «Functional consequences of toll-like receptor 4 polymorphisms». In *Molecular Medicine*, Band 14 (5-6): Seiten 346–352, 2008.
- Figuroa L, Xiong Y, Song C et al.** «The asp299gly polymorphism alters tlr4 signaling by interfering with recruitment of myd88 and trif». In *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, Band 188 (9): Seiten 4506–4515, 2012.
- Fokkens W, Lund V, Bachert C et al.** «Eaaci position paper on rhinosinusitis and nasal polypos executive summary.» In *Allergy*, Band 60 (5): Seiten 583–601, 2005.
- Harlin SL, Ansel DG, Lane SR et al.** «A clinical and pathologic study of chronic sinusitis: The role of the eosinophil». In *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Band 81 (5, Part 1): Seiten 867–875, 1988.

- Hawn TR, Scholes D, Li SS et al.** «Toll-like receptor polymorphisms and susceptibility to urinary tract infections in adult women». In *PLoS ONE*, Band 4 (6): Seite e5990, 2009.
- Hawn TR, Verbon A, Lettinga KD et al.** «A common dominant tlr5 stop codon polymorphism abolishes flagellin signaling and is associated with susceptibility to legionnaires' disease». In *The Journal of Experimental Medicine*, Band 198 (10): Seiten 1563–1572, 2003.
- Hodgkinson CP und Ye S.** «Toll-like receptors, their ligands, and atherosclerosis.» In *TheScientificWorldJournal*, Seiten 437–53, 2011.
- Horsmans Y, Berg T, Desager JP et al.** «Isatoribine, an agonist of tlr7, reduces plasma virus concentration in chronic hepatitis c infection.» In *Hepatology (Baltimore, Md.)*, Band 42: Seiten 724–31, 2005.
- Kaisho T und Akira S.** «Toll-like receptor function and signaling.» In *J Allergy Clin Immunol*, Band 117 (5): Seiten 979–87, 2006.
- Kawai T und Akira S.** «Tlr signaling.» In *Semin Immunol*, Band 19 (1): Seiten 24–32, 2007.
- Kinney W und Benninger M.** «Assessment of quality of life among patients with sinonasal disease as determined by an internet survey based on the rhinosinusitis disability index.» In *Ear Nose Throat J*, Band 86 (8): Seiten 482, 484–6, 2007.
- Korman BD und Criswell LA.** «Recent advances in the genetics of systemic sclerosis: toward biological and clinical significance». In *Current rheumatology reports*, Band 17 (3): Seite 21, 2015.
- Kormann MSD, Ferstl R, Depner M et al.** «Rare tlr2 mutations reduce tlr2 receptor function and can increase atopy risk». In *Allergy*, Band 64 (4): Seiten 636–642, 2009.
- Kurt H, Ozbayer C, Bayramoglu A et al.** «Determination of the relationship between rs4986790 and rs4986791 variants of tlr4 gene and lung cancer». In *Inflammation*, Band 39 (1): Seiten 166–171, 2016.
- Kutikhin AG.** «Impact of toll-like receptor 4 polymorphisms on risk of cancer». In *Human immunology*, Band 72 (2): Seiten 193–206, 2011.

- Lane AP, Pine HS und Pillsbury III HC.** «Allergy testing and immunotherapy in an academic otolaryngology practice: A 20-year review». In *Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, Band 124 (1): Seiten 9–15, 2001.
- Lau MYZ, Dharmage SC, Burgess JA et al.** «The interaction between farming/rural environment and tlr2, tlr4, tlr6 and cd14 genetic polymorphisms in relation to early- and late-onset asthma». In *Scientific reports*, Band 7: Seite 43681, 2017.
- Lee PL, West C, Crain K und Wang L.** «Genetic polymorphisms and susceptibility to lung disease». In *Journal of negative results in biomedicine*, Band 5: Seite 5, 2006.
- Lee YH, Lee HS, Choi SJ et al.** «Associations between tlr polymorphisms and systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis.» In *Clinical and experimental rheumatology*, Band 30 (2): Seiten 262–5, 2012.
- Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L et al.** «The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/toll/cactus controls the potent antifungal response in drosophila adults». In *Cell*, Band 86 (6): Seiten 973–983, 1996.
- Loganathan R, Nazeer M, Goda V et al.** «Genetic variants of tlr4 and tlr9 are risk factors for chronic helicobacter pylori infection in south indian tamils». In *Human immunology*, Band 78 (2): Seiten 216–220, 2017.
- Lorenz E, Mira JP, Frees KL und Schwartz DA.** «Relevance of mutations in the tlr4 receptor in patients with gram-negative septic shock.» In *Archives of internal medicine*, Band 162 (9): Seiten 1028–32, 2002.
- Manning S und Holman M.** «Further evidence for allergic pathophysiology in allergic fungal sinusitis.» In *Laryngoscope*, Band 108 (10): Seiten 1485–96, 1998.
- Matas-Cobos AM, Redondo-Cerezo E, Alegría-Motte C et al.** «The role of toll-like receptor polymorphisms in acute pancreatitis occurrence and severity». In *Pancreas*, Band 44 (3): Seiten 429–433, 2015.
- Matyas PDG.** «Single nucleotid polymorphism». In *ASA/SVV Fortbildungsreihe Genetik 2014 - Module 1 Grundlagen und Terminologie von genetischen Untersuchungen*, 2014.

- Mauz P, Gensch J und Brosch S.** «Chronic polypous rhinosinusitis : Genesis, clinical picture, therapy and relapse rate - a retrospective study.» In *HNO*, 2006.
- Medzhitov R und Janeway C.** «Innate immune recognition and control of adaptive immune responses.» In *Semin Immunol*, Band 10 (5): Seiten 351–3, 1998.
- Meltzer E, Hamilos D, Hadley J et al.** «Rhinosinusitis: establishing definitions for clinical research and patient care.» In *J Allergy Clin Immunol*, Band 114 (6 Suppl): Seiten 155–212, 2004.
- Melvin TAN, Lane AP, Nguyen MT und Lin SY.** «Sinonasal epithelial cell expression of toll-like receptor 9 is elevated in cystic fibrosis-associated chronic rhinosinusitis.» In *American journal of rhinology & allergy*, Band 27: Seiten 30–3, 2013.
- Netea MG, Wijmenga C und O’Neill LAJ.** «Genetic variation in toll-like receptors and disease susceptibility.» In *Nature immunology*, Band 13 (6): Seiten 535–42, 2012.
- Ohto U, Yamakawa N, Akashi-Takamura S et al.** «Structural analyses of human toll-like receptor 4 polymorphisms d299g and t399i.» In *The Journal of Biological Chemistry*, Band 287 (48): Seiten 40611–40617, 2012.
- Orange JS und Geha RS.** «Finding nemo: genetic disorders of nf-[kappa]b activation.» In *The Journal of clinical investigation*, Band 112 (7): Seiten 983–5, 2003.
- Pade J.** «Sinusitis - Eine ernst zu nehmende Erkrankung». In *HNO(Online Publikation)*, 2005.
- Pandey S und Agrawal DK.** «Immunobiology of toll-like receptors: emerging trends». In *Immunol Cell Biol*, Band 84 (4): Seiten 333–41, 2006.
- Panwar A, Garg RK, Malhotra HS et al.** «25-hydroxy vitamin d, vitamin d receptor and toll-like receptor 2 polymorphisms in spinal tuberculosis: A case-control study». In *Medicine*, Band 95 (17): Seite e3418, 2016.
- Pfaar O und Klimek L.** «Aspirin desensitization in aspirin intolerance: update on current standards and recent improvements.» In *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, Band 6 (3): Seiten 161–6, 2006.

- Piccirillo J, Merritt M und Richards M.** «Psychometric and clinimetric validity of the 20-item sino-nasal outcome test (snot-20).» In *Otolaryngol Head Neck Surg*, Band 126 (1): Seiten 41–7, 2002.
- Piccirillo JF, Edwards D, Haiduk A et al.** «Psychometric and clinimetric validity of the 31-item rhinosinusitis outcome measure (rsom-31)». In *American Journal of Rhinology*, Band 9 (10): Seiten 297–306, 1995.
- Ramanathan MJ, Lee WK, Dubin MG et al.** «Sinonasal epithelial cell expression of toll-like receptor 9 is decreased in chronic rhinosinusitis with polyps.» In *American journal of rhinology*, Band 21 (1): Seiten 110–6, 2007.
- Ray N, Baraniuk J, Thamer M et al.** «Healthcare expenditures for sinusitis in 1996: contributions of asthma, rhinitis, and other airway disorders.» In *J Allergy Clin Immunol*, Band 103 (3 Pt 1): Seiten 408–14, 1999.
- Read RC, Pullin J, Gregory S et al.** «A functional polymorphism of toll-like receptor 4 is not associated with likelihood or severity of meningococcal disease». In *The Journal of Infectious Diseases*, Band 184 (5): Seiten 640–642, 2001.
- Rigoli L, Di Bella C, Fedele F et al.** «Tlr4 and nod2/card15 genetic polymorphisms and their possible role in gastric carcinogenesis.» In *Anticancer research*, Band 30: Seiten 513–7, 2010.
- Rinia A, Kostamo K, Ebbens F et al.** «Nasal polyposis: a cellular-based approach to answering questions.» In *Allergy*, Band 62 (4): Seiten 348–58, 2007.
- Rudmik L.** «Economics of chronic rhinosinusitis.» In *Current allergy and asthma reports*, Band 17 (4): Seite 20, 2017.
- Sande M und Gwaltney J.** «Acute community acquired bacterial sinusitis: Continuing challenges and current management». In *Clinical Infectious Diseases*, Band 39 (s3): Seiten S151–S158, 2004.
- Sanger F, Nicklen S und Coulson AR.** «Dna sequencing with chain-terminating inhibitors. 1977.» In *Biotechnology (Reading, Mass.)*, Seiten 104–108, 1992.

- Schleimer RP.** «Immunopathogenesis of chronic rhinosinusitis and nasal polyposis.» In *Annual review of pathology*, Band 12: Seiten 331–357, 2017.
- Schleimer RP, Kato A, Kern R et al.** «Epithelium: at the interface of innate and adaptive immune responses.» In *The Journal of allergy and clinical immunology*, Band 120 (6): Seiten 1279–84, 2007.
- Schröder NWJ und Schumann RR.** «Single nucleotide polymorphisms of toll-like receptors and susceptibility to infectious disease.» In *The Lancet infectious diseases*, Band 5 (3): Seiten 156–64, 2005.
- Schwartz DA und Cook DN.** «Polymorphisms of the toll-like receptors and human disease». In *Clin Infect Dis*, Band 41 Suppl 7: Seiten S403–7, 2005.
- Seiberling K, Conley D, Tripathi A et al.** «Superantigens and chronic rhinosinusitis: detection of staphylococcal exotoxins in nasal polyps.» In *Laryngoscope*, Band 115 (9): Seiten 1580–5, 2005.
- Small CB, Bachert C, Lund VJ et al.** «Judicious antibiotic use and intranasal corticosteroids in acute rhinosinusitis». In *The American Journal of Medicine*, Band 120 (4): Seiten 289–294, 2007.
- Small CB, Hernandez J, Reyes A et al.** «Efficacy and safety of mometasone furoate nasal spray in nasal polyposis». In *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Band 116 (6): Seiten 1275–1281, 2005.
- Smeekens SP, van de Veerdonk FL, Kullberg BJ und Netea MG.** «Genetic susceptibility to candida infections». In *EMBO Molecular Medicine*, Band 5 (6): Seiten 805–813, 2013.
- Stuck BA, Bachert C, Federspil P et al.** «Leitlinie Rhinosinusitis der Dt. Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie». In *HNO*, Band 55 (10): Seiten 758–776, 2007.
- Terzic J, Marinovic-Terzic I, Ikeda F und Dikic I.** «Ubiquitin signals in the nf-kappab pathway.» In *Biochem Soc Trans*, Band 35 (Pt 5): Seiten 942–5, 2007.

- Tewfik MA, Bossae Y, Hudson TJ et al.** «Assessment of toll-like receptor 2 gene polymorphisms in severe chronic rhinosinusitis.» In *Journal of otolaryngology - head & neck surgery = Le Journal d'oto-rhino-laryngologie et de chirurgie cervico-faciale*, Band 37 (4): Seiten 552–8, 2008.
- Thompson L.** «Sinonasal polyps.» In *Ear Nose Throat J*, Band 86 (6): Seiten 322–325, 2007.
- Tizaoui K, Kaabachi W, Hamzaoui K und Hamzaoui A.** «Association of single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor genes with asthma risk: A systematic review and meta-analysis.» In *Allergy, asthma & immunology research*, Band 7 (2): Seiten 130–40, 2015a.
- Tizaoui K, Kaabachi W, Hamzaoui K und Hamzaoui A.** «Association of single nucleotide polymorphisms in toll-like receptor genes with asthma risk: A systematic review and meta-analysis.» In *Allergy, asthma & immunology research*, Band 7 (2): Seiten 130–40, 2015b.
- Tyurin YA, Shamsutdinov AF, Kalinin NN et al.** «Association of toll-like cell receptors tlr2 (p.arg753gln) and tlr4 (p.asp299gly) polymorphisms with indicators of general and local immunity in patients with atopic dermatitis». In *Journal of immunology research*, Band 2017: Seite 8493545, 2017.
- Van Zele T, Claeys S, Gevaert P et al.** «Differentiation of chronic sinus diseases by measurement of inflammatory mediators». In *Allergy* 61, (11): Seiten 1280–1289, 2006.
- Vogel SN, Fitzgerald KA und Fenton MJ.** «Tlrs: differential adapter utilization by toll-like receptors mediates tlr-specific patterns of gene expression.» In *Molecular interventions*, Band 3 (8): Seiten 466–77, 2003.
- Wagenmann M.** «Prognostische und pathophysiologische Faktoren der chronischen Nasennebenhöhlenentzündung». Habilitation (Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf), 2002.
- Weidinger S, Novak N, Klopp N et al.** «Lack of association between toll-like receptor 2 and toll-like receptor 4 polymorphisms and atopic eczema». In *The Journal of allergy and clinical immunology*, Band 118 (1): Seiten 272–279, 2006.

- Wen SJ, Wu FY, Fang L et al.** «Associations of genetic polymorphisms of tlr5, tlr9 and transduction molecules in myd88 signaling pathway with systemic lupus erythematosus in zhuang and han ethnics of guangxi province, china». In *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, Band 8 (5): Seiten 7872–7880, 2015.
- West TE, Chantratita N, Chierakul W et al.** «Impaired tlr5 functionality is associated with survival in melioidosis». In *The Journal of Immunology*, Band 190 (7): Seiten 3373–3379, 2013.
- Wiersinga WJ und van der Poll T.** «Toll-like receptors and the significance for clinical medicine». In *Ned Tijdschr Geneeskd*, Band 149 (21): Seiten 1150–5, 2005.
- Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR et al.** «Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 european countries, canada, and the united states.» In *JAMA : the journal of the American Medical Association*, Band 289 (18): Seiten 2363–9, 2003.
- Wujcicka W, Paradowska E, Studzińska M et al.** «Tlr2 2258 g>a single nucleotide polymorphism and the risk of congenital infection with human cytomegalovirus». In *Virology Journal*, Band 14: Seite 12, 2016.
- Xia Z, Kong W, Yue J et al.** «[effects of toll-like-receptor-9 expression in chronic rhinosinusitis with nasal polyps].» In *Lin chuang er bi yan hou tou jing wai ke za zhi = Journal of clinical otorhinolaryngology, head, and neck surgery*, Band 22 (14): Seiten 631–3, 2008.
- Yao Y, Xie S, Yang C et al.** «Biomarkers in the evaluation and management of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis.» In *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*, 2017.
- Zinreich S.** «Imaging for staging of rhinosinusitis.» In *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl*, Band 193: Seiten 19–23, 2004.

Tabellenverzeichnis

1	Übersicht über die Struktur einzelner TLR	3
2	Auswahl wichtiger exogener Liganden der verschiedenen TLR	5
3	PCR-Produkte	23
4	PCR-Zyklen	23
5	Verwendete Primerpaare	24
6	Verwendete Geräte	28
7	Kits/Verbrauchsmaterialien/Glaswaren	29
8	Chemikalien	29
9	Übersicht der verschiedenen Polymorphismen	32
10	Häufigkeit der Genotypen	34
11	Genotypen in der Kontroll- und CRSwNP-Gruppe	36
12	Genotypen in der Kontroll- und CRSsNP-Gruppe	38
13	Genotypen in der Kontroll- und AR-Gruppe	40
14	Genotypen in der CRSsNP- und CRSwNP-Gruppe	42
15	Gruppenvergleiche mit den Daten des 1KGP-Projektes	44

Abbildungen

1	Zusammenspiel zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem .	2
2	Schematischer Aufbau eines Toll-like-Rezeptors	6
3	TLR-Signalweg	7
4	Nasenpolypen	8
5	Computertomografie Sinusitis maxillaris	11
6	Einzelnukeotid Polymorphismus	18
7	Altersverteilung in den entsprechenden Gruppen	20
8	Geschlechterverteilung in den einzelnen Gruppen	20
9	Fotodokumentation der Agarosegele	25
10	Sequenzierung eines Polymorphismus	26
11	Häufigkeiten der Genotypen aller Gruppen bezogen auf den einzelnen Polymorphismus	46

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mir mein Studium und die Vollendung meiner Promotion ermöglichten:

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. Schipper danke ich für die Möglichkeit, in seiner Klinik meine Promotionsarbeit anfertigen zu dürfen.

An vorrangiger Stelle möchte ich hier Frau PD Dr. med. Kathrin Scheckenbach und Herrn Prof. Dr. med. Martin Wagenmann für die hervorragende Betreuung und die enorme Unterstützung bei der Umsetzung der gesamten Arbeit danken. Gleiches gilt für das Laborteam ohne dessen Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Meiner Familie, speziell meiner Frau Nicole, möchte ich für die andauernde Unterstützung gerade in schwierigen Zeiten danken und dafür, dass Du immer an meiner Seite warst.

Meinen Eltern für die fortwährende Unterstützung in jeder Hinsicht.