

Aus dem
CharitéCentrum für Audiologie / Phoniatrie, Augen- und HNO-Heilkunde

Klinik für Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde

Direktorin: Prof. Dr. Heidi Olze

Habilitationsschrift

**Diagnostik und Therapie der Nasenatmungsbehinderung - Evaluation konventioneller und
Entwicklung innovativer Verfahren**

zur Erlangung der Lehrbefähigung

für das Fach Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät

Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Katharina Stölzel

Eingereicht: September/2019

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter: Prof. Gerd Rasp, Salzburg

2. Gutachter: Prof. Steffen Maune, Köln

Inhalt

1. Einleitung	4
1.1 Die allergische Rhinitis als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase	6
1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie	6
1.1.2 Therapie	6
1.2 Die chronische Hypertrophie der Conchae nasales inferiores als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase	7
1.2.1 Anatomie und Histologie der Conchae nasales inferiores	7
1.2.2 Epidemiologie und Ätiologie der chronischen Hypertrophie der Conchae nasales inferiores	8
1.2.3 Therapie der chronischen Hypertrophie der Conchae nasales inferiores	8
1.3 Die Nasenseptumdeviation als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase	9
1.3.1 Anatomie des Nasenseptums	9
1.3.2 Ätiologie und Symptomatik der Nasenseptumdeviation	10
1.4 Die Nasenseptumperforation als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase	10
1.4.1 Epidemiologie und Ätiologie	10
1.4.2 Therapie	11
1.5 Regenerative Medizin als Therapiemöglichkeit der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase durch Knorpel- oder/und Knochenersatz	11
1.5.1 Kultivierung von nasoseptalen Chondrozyten im Monolayer	11
1.5.2 Kultivierung von nasoseptalen Chondrozyten in Biomaterialien	12
1.5.3 Mesenchymale Stammzellen in der Chondrozytenkultur	15
1.6 Zielstellung	17
2. Eigene Arbeiten	18
2.1 "Safety and efficacy of Nasya/Prevalin in reducing symptoms of allergic rhinitis"	18
2.2 "Effect of nasal sprays on an in vitro survival and morphology of nasoseptal cartilage"	28
2.3 "Narrow Band Imaging Endoscopy- Novel diagnostic method in the hypertrophy of inferiore turbinates"	41
2.4 "Effekt of surgical treatment of hypertrophic turbinates on the nasal obstruction and the quality of life"	46
2.5. "Cartilage tissue engineering of nasal septal chondrocyte-macroaggregates in human demineralized bone matrix "	52
2.6 "Immortalised human mesenchymal stem cells undergo chondrogenic differentiation in alginate and PGA/PLLA scaffolds"	66
3 Diskussion	79

3.1 “Safety and efficacy of Nasya/Prevalin in reducing symptoms of allergic rhinitis”	80
3.2 “Effect of nasal sprays on an in vitro survival and morphology of nasoseptal cartilage“	80
3.3 “Narrow Band Imaging Endoscopy- Novel diagnostic method in the hypertrophy of inferiore turbinates”	81
3.4 “Effekt of surgical treatment of hypertrophic turbinates on the nasal obstruction and the quality of life”	83
3.5 “Cartilage tissue engineering of nasal septal chondrocyte-macroaggregates in human demineralized bone matrix “	84
3.6 “Immortalised human mesenchymal stem cells undergo chondrogenic differentiation in alginate and PGA/PLLA scaffolds“	86
3.7. Ausblick	87
4 Zusammenfassung	89
5 Literaturübersicht	94
6 Danksagung	103
Erklärung	104

1. Einleitung

Die Nase ist ein Atmungsorgan. Gleichzeitig spielt sie als Riech- und Reflexorgan eine große Rolle und ist für die physikalische und immunologische Anpassung des Organismus an die Umwelt und für die Sprachbildung mitverantwortlich [1]. Die Atmung durch die Nase ist der einzige physiologische Weg. Ist dieser Weg gestört, kommt es zur pathologischen Mundatmung und die Nase kann auch ihre weiteren Funktionen nur eingeschränkt wahrnehmen. Für die Nase als Riechorgan ist es wichtig, dass die Duftstoffe von ventral über die Nasenlöcher aber auch von retranasal das Nasendach erreichen. Damit ist die Duftstoffkonzentration von der ungestörten Nasenatmung abhängig. Riechstörungen entstehen in 72% durch sinunasale Ursachen und in 19% davon durch rein respiratorische Störungen [2].

Die ungestörte respiratorische Funktion der Nase ist abhängig vom Atemwegswiderstand und von der ausreichenden Erwärmung, Anfeuchtung und Säuberung der Luft [3]. Als Atmungsorgan obliegt es der Nase eine Druckdifferenz zwischen der Lunge und der äußeren Nasenöffnung zu bilden und aufrechtzuerhalten, sodass eine geregelte Luftströmung während der Ein- und Ausatmung vorherrschen kann. Dabei beträgt der Atemwegswiderstand der Nase 60% des Gesamtemwegswiderstandes [4]. Steigt der Atemwegswiderstand an, so wird die Nase durch Mundatmung umgangen. Durch die konstante Erwärmung der Luft beträgt die Temperatur im Nasopharynx konstant 31-34°C, sodass die unteren Luftwege im physiologischen Temperaturmilieu arbeiten können. Die Befeuchtung der Atemluft wird stetig per Verdunstung reguliert. Die relative Luftfeuchtigkeit 50-60% beträgt [1].

Für die ungestörte respiratorische Funktion ist ein ausgewogenes Verhältnis zwischen turbulenter und laminarer Luftströmung in der Nase notwendig, die einen möglichst hohen Schleimhautkontakt ermöglichen [5]. Durch das autonome Nervensystem gesteuert, schwillt die Nasenschleimhaut im zirkadianen Rhythmus an und ab. Vor allem die *Conchae nasales inferiores* spielen dabei aufgrund ihrer großen Oberfläche und den Schwellkörpern eine große Rolle. Das Lumen der Nasenhaupthöhle kann, bedingt durch den nasalen Zyklus, rechts und links variieren, sodass bei einem engen Lumen ein erhöhter Atemwegswiderstand vorliegt und umgekehrt. Obwohl sich der Atemwegswiderstand wechselseitig und reziprok zwischen den zwei Nasenhaupthöhlen verändert, bleibt der Gesamtemwegswiderstand der Nase insgesamt gleich. [1]. Besonders im vorderen Cavum sind durch die Variation des Querschnitts turbulente Luftströmungen in der Arbeitsphase und laminare Luftströmungen in der Ruhephase mit einem kaum vorhandenem Lumen zu finden [5].

Wird diese Balance durch anatomische Abnormitäten des Knorpel- und Knochengerüsts der Nase wie zum Beispiel die Septumdeviation und/oder pathologisches Schwellungsverhalten der Mukosa gestört, kommt es zu einer Einschränkung der respiratorischen Funktion. Sie ist ein therapiebedürftiger Risikofaktor für Erkrankungen der oberen und unteren Atemwege und des kardiovaskulären Systems und beeinflusst signifikant die Lebensqualität.

In mehreren Reviews konnte gezeigt werden, dass die respiratorische Funktionseinschränkung das Auftreten der chronischen Rhinosinusitis begünstigt [6, 7]. Die hohe Prävalenz der chronischen Rhinosinusitis von 10,9% in Europa nach der GA2LEN Studie [8] und 4,5% bis 12% in Nordamerika mit hohen gesundheitsökonomischen Kosten von zum Beispiel 12,8 Billionen Dollar in den USA [9] ist somit auch auf die respiratorische Funktionseinschränkung zurückzuführen. Es gibt eine Studie, die zeigt, dass nach alleiniger Septumplastik bei Nasenseptumdeviation und chronischer Rhinosinusitis in mehr als 80% der Fälle auch die subjektiven Beschwerden und objektiven Befunde der chronischen Rhinosinusitis weniger wurden [10].

In der aktuellen nationalen Versorgungsleitlinie „Asthma“ wird auf die Notwendigkeit der Beachtung und Therapie von Komorbiditäten der oberen Atemwege hingewiesen [11]. In einer südkoreanischen bevölkerungsbasierten Studie konnten bei 8865 Probanden in 44,8% eine Nasenseptumdeviation diagnostiziert und eine signifikante Assoziation mit Asthma bronchiale nachgewiesen werden [12].

Es wurde weiterhin gezeigt, dass bei Patienten mit einem obstruktiven Schlaf-Apnoe-Syndrom eine respiratorische Funktionseinschränkung der Nase mit einem höheren Apnoe-Hypopnoe Index assoziiert ist [13]. Damit steigt mit dem höheren Apnoe-Hypopnoe Index die Gefahr der Tagesschläfrigkeit mit vermehrter Unfallneigung und das Risiko des Auftretens von Herzrhythmusstörungen, arterieller Hypertonie, Atherosklerose oder eines Cor pulmonale, Herzinfarkts, Herzinsuffizienz oder Apoplex [14].

Die respiratorische Funktionseinschränkung führt zu einer deutlichen Reduktion der Lebensqualität und der Arbeitsproduktivität. Neben Schlafstörungen treten Schluckbeschwerden, gehäufte Infekte der oberen und unteren Atemwege und Kopfschmerzen auf [15, 16]. Auch psychologische Erkrankungen sind nach einer Übersichtsarbeit von 2018 mit der nasalen Obstruktion assoziiert [17].

Aufgrund dieser Studienlage ist die Analyse der klinischen und experimentellen Diagnostik- und Therapieverfahren bei respiratorischer Funktionseinschränkung der Nase von großer

Bedeutung. Dazu wurden in dieser Arbeit ausgewählte Diagnostik und Therapieverfahren der häufigsten Ursachen der respiratorischen Funktionseinschränkung evaluiert. Eine der häufigsten Ursachen ist die allergische Rhinitis.

1.1 Die allergische Rhinitis als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase

1.1.1 Epidemiologie und Ätiologie

Mit einer Lebenszeitprävalenz von 25 bis 30% hat die allergische Rhinitis eine hohe gesundheitsökonomische Bedeutung [18]. Nach einer Studie von Shedden A klagten 59% der Erwachsenen mit Nasenobstruktion durch Schwellung der Mukosa bei allergischer Rhinitis über eine verminderte berufliche Leistungsfähigkeit und 61% der Kinder mit Nasenobstruktion bei allergischer Rhinitis zeigten schlechtere Leistungen in der Schule. Bei 49% kam es zusätzlich zu Schlafstörungen [19].

Ursache der allergischen Rhinitis ist eine Entzündungsreaktion auf zellulärer Ebene. Man unterscheidet eine Sofortphase (<2 Stunden) und eine Spätphase (2- 48 Stunden). Dabei kommt es zur Freisetzung von Histamin, Arachidonsäuremetaboliten, Kininen, Cytokinen und Chemokinen. Eosinophile Lymphozyten, T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Mastzellen, basophile Lymphozyten, Endothel- und Epithelzellen sowie Fibroblasten werden aktiviert und differenziert. Ziel ist die Verlängerung der Überlebenszeit der Entzündungszellen, Regulation einer lokalen und systemischen IgE Antwort und eine erhöhte Expression von IgE-Rezeptoren [20].

1.1.2 Therapie

Kann man die Allergene der allergischen Rhinitis mittels Prick Test und/oder CAP (Carrier Polymer System) Test eindeutig bestimmen und liegen keine Kontraindikationen vor, so ist die Hyposensibilisierung möglich. Durch die Gabe von Allergenextrakten werden spezifische blockierende Antikörper, toleranzinduzierende Zellen und Botenstoffe aktiviert. Das führt zu einer Blockierung der spezifischen Immunantwort und Dämpfung der Entzündungsreaktionen im Gewebe [20]. Neben der klassischen subkutanen Applikation stehen auch sublinguale Applikationsmöglichkeiten zur Verfügung, deren Wirksamkeit in verschiedenen Studien bewiesen wurde und so auch die Zulassung vom Paul- Ehrlich- Institut haben [21-24].

Für die symptomatische Therapie werden neben den lokalen und systemischen Antihistaminika und Mastzellstabilisatoren vor allem Glukokortikoide eingesetzt. Bei allergischer

Rhinosinusitis wird meist die Monotherapie mit topischen Glukokortikoide oder die Kombinationstherapie mit einem nasalen Anthistaminika eingesetzt [25]. Seit einigen Jahren sind auch nicht pharmakologische Nasensprays auf dem Markt. Sie beruhen auf dem Wirkprinzip der mechanischen Barriere der nasalen Mukosa bei Antigenkontakt.

1.2 Die chronische Hypertrophie der Conchae nasales inferiores als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase

1.2.1 Anatomie und Histologie der Conchae nasales inferiores

Die *Concha nasalis inferior* ist ein eigenständiger Knochen in der Nasenhaupthöhle und wird von schwellungsfähigem Weichgewebe umkleidet [26]. Im Folgenden ist der histologische Aufbau dargestellt (Abb. 1).



Abb.1 Schnitt durch die *Concha nasalis inferior*. 1- Mehrreihiges Flimmerepithel mit Becherzellen, 2- Venenplexus, 3- Submuköse Drüsen
(Originalabbildung – freundlicherweise durch Dr. P. Lohneis (Institut für Pathologie der Charité-2017) zur Verfügung gestellt)

1.2.2 Epidemiologie und Ätiologie der chronischen Hypertrophie der Conchae nasales inferiores

Zuverlässige epidemiologische Daten zur Prävalenz der chronischen Hypertrophie der *Conchae nasales inferiores* sind aufgrund der multifaktoriellen Ursachen nicht zu finden. Im Jahr 2017 lag die Zahl der Nasenmuschelverkleinerungen an 21. Stelle der 50 häufigsten Operationen in Deutschland und damit bei 165.325 Fällen [27]. Ursachen neben der allergischen Rhinitis sind chronische Schleimhautschwellungen der *Conchae nasales inferiores* beidseits oder auch einseitig Schwellungen durch die Septumdeviation zur Gegenseite. Endogene Faktoren wie die erhöhte Durchblutung der Mukosa, Inflammationen durch Erreger oder Autoimmungeschehen sind ebenfalls beschrieben [28]. Als exogene Faktoren sind Medikamente und Staubpartikel zu nennen. Diagnostisch stehen neben der anterioren Rhinoskopie mit dem Spekulum und der Weißlicht-Endoskopie die anteriore und akustische Rhinomanometrie zur Messung des Atemwegswiderstandes zur Verfügung. Mit der Weißlicht-Endoskopie werden in 39% der Untersuchungen Pathologien detektiert [29]. Der Vergleich zwischen den Kurven der Atemwegswiderstände mit und ohne Abschwellung der Nasenmuscheln mit einem Dekongestivum ermöglicht die Beurteilung des Anteils der Schleimhautschwellung zur respiratorischen Funktionsstörung. Wichtig für die Beurteilung der respiratorischen Funktionsstörung sind die subjektiven Beschwerden. In einer Studie von Min et al zeigte sich, dass von 9284 Probanden 22 % eine Septumdeviation hatten, aber nur 2,8 % von Ihnen Beschwerden angegeben haben [30].

1.2.3 Therapie der chronischen Hypertrophie der Conchae nasales inferiores

Patienten mit einer persistierenden Nasenmuschelhypertrophie erhalten je nach Ursache zunächst eine medikamentöse Therapie. Meist nutzen die Patienten im Rahmen eines grippalen Infektes frei verkäufliche Dekongestiva. Bei längerem Gebrauch dieser Nasensprays kann es zur Tachyphylaxie kommen, sodass nur eine operative Verkleinerung der *Conchae nasales inferiores* möglich ist [31]. Alternativpräparate sind kortisonhaltige Nasensprays und Meersalzsprays. Die operative Nasenmuschelreduktion ist wie oben genannt ein häufiger Eingriff. Es gibt verschiedene operative Techniken. Neben der Verkleinerung durch Turbinoplastiken unterschiedlichen Ausmaßes sind die Laser- und Elektrokaustik, die Radiofrequenztherapie, die Ultraschalltherapie, das Microdebridgment und die Kryochirurgie beschrieben. Eine Standardoperation gibt es nicht. Nach der aktuellen Studienlage scheint die submuköse Turbinoplastik mit Lateralisation die besten Langzeitergebnisse zu zeigen [32].

Häufig geht die Hypertrophie der *Conchae nasales inferiores* mit einer Nasenseptumdeviation einher. Bei operativem Vorgehen werden deshalb in der Praxis sehr häufig die Verkleinerung der Nasenmuscheln und die Begradigung der Nasenscheidewand kombiniert.

1.3 Die Nasenseptumdeviation als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase

1.3.1 Anatomie des Nasenseptums

Die Nasenscheidewand besteht aus der knorpeligen *Lamina quadrangularis*, der knöchernen *Lamina perpendicularis* und dem knöchernen *Vomer*. Der hyaline Nasenknorpel ist ein avaskuläres, nervenfreies und bradytrophes Gewebe, das nur einen Zelltyp, die Chondrozyten enthält. Sie sind in ihre umfangreiche extrazelluläre Matrix (EZM) eingebettet. Im Gegensatz zum hyalinen Gelenkknorpel, der direkt von der Synovialflüssigkeit umspült und ernährt wird, ist der hyaline Knorpel des Nasenseptums von einem Perichondrium umgeben. Es fungiert als immunologische Barriere und ernährt den Knorpel.

Die Chondrozyten haben sich aus mesenchymalen Stammzellen entwickelt. Eine wichtige Rolle spielt dabei der Transkriptionsfaktor SOX9, welcher für die Chondrozytendifferenzierung und Knorpelbildung verantwortlich ist. Vertreter der Transforming Growth Factor (TGF) β Familie sind ebenfalls essentiell an der Differenzierung der Chondrozyten beteiligt [33, 34].

Die Chondrozyten liegen in kleinen Gruppen und werden zusammen mit ihren Vorhöfen aus EZM Chondrone genannt. Sie liegen in den Knorpelzellhöhlen (Lakunen) der EZM und bilden die EZM. Kollagen Typ II ist das Hauptprotein, welches nur von Knorpelzellen produziert wird, für die Stabilität des Knorpels verantwortlich ist und den wichtigsten Knorpelmarker darstellt. Aggrecan bildet mit Hyaluronsäure große Chondroitinsulfat-Proteoglykanaggregate und zeigt durch seine reversible Wasserbindungskapazität einen osmotischen Widerstand bei Knorpelkompression (Abb. 2) [34].

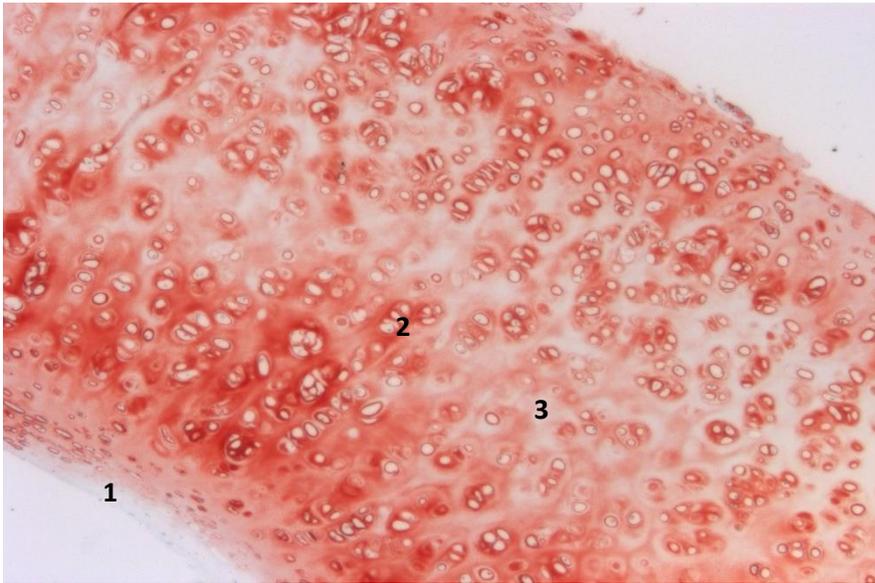


Abb.2 Schnitt durch das knorpelige Nasenseptum- hyaliner Knorpel- Aggrecanfärbung
1- Perichondrium, 2- Chondron, 3- Extrazellulärmatrix (Originalabbildung selbst erstellt)

1.3.2 Ätiologie und Symptomatik der Nasenseptumdeviation

Während der Adoleszenz wächst auch das Nasenseptum. Dabei kommt es aufgrund des unterschiedlichen Wachstums von knorpeligen und knöchernen Anteilen des Nasenseptums zu Deviationen, die unterschiedliche Ausprägungen haben [35]. Weitere Ursachen der Septumdeviation sind Traumata der Nase. Die Folge ist die respiratorische Funktionseinschränkung, die zur Verstärkung und Unterhaltung der Symptomatik der chronischen Rhinosinusitis, des Asthma bronchiale und des obstruktiven Schlafapnoesyndroms beitragen kann [10, 12, 13]. Deshalb empfiehlt die American Academy of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery bei den genannten Beschwerden die Nasenseptumplastik [36]. Eine Komplikation der Nasenseptumplastik ist die Nasenseptumperforation.

1.4 Die Nasenseptumperforation als Ätiologie der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase

1.4.1 Epidemiologie und Ätiologie

Die Nasenseptumperforation wird in der Literatur mit einer Prävalenz von 0,9% bis 1,2% angegeben und ist in 2/3 der Fälle Folge der Nasenseptumplastik [37, 38]. Häufig führt ein Septumhämatom oder Septumabszess konsekutiv zur Knorpelnekrose mit Veränderungen der äußeren Nase.

Andere Ursachen sind Verletzungen des Perichondriums durch Trauma der Nase, exogene Entzündungen, Vaskulitiden, Autoimmunerkrankungen, Kokainabusus und Neubildungen [37] [38]. Folge der Septumperforation sind Störungen des Gleichgewichts zwischen turbulenter und laminarer Luftströmung. Daraus folgt die respiratorische Funktionseinschränkung mit Trockenheit in der Nase, vermehrter Borkenbildung und Epistaxis.

Verletzter Knorpel weist eine nur äußerst geringe Heilungsfähigkeit auf, da die enthaltenen Chondrozyten ihre Teilungsfähigkeit im ausgereiften Gewebe verloren haben.

1.4.2 Therapie

Klinisch therapeutische Ansätze sind hier z.B. die dreischichtige Rekonstruktion mittels autologen Knorpel der Ohrmuschel oder der Rippe und dem Brückenlappen nach Schultz-Coulon [39]. Die Erfolgsraten liegen bei begrenzter Größe bei ca. 78% [38]. Große Defekte können mittels eines Septumbuttons therapiert werden [40]. Wobei hier die Probleme eines Fremdkörpers in der Nase, wie Dislokation, Borkenbildung und Entzündungen auftreten können.

1.5 Regenerative Medizin als Therapiemöglichkeit der eingeschränkten respiratorischen Funktion der Nase durch Knorpel- oder/und Knochenersatz

Aufgrund der unbefriedigenden Ergebnisse in der plastisch- rekonstruktiven Therapie wird seit Jahrzehnten der Wiederaufbau des Knorpel- und Knochengerüsts durch die regenerative Medizin aus dem Labor angestrebt.

1.5.1 Kultivierung von nasoseptalen Chondrozyten im Monolayer

Zur Gewinnung von humanen hyalinen Chondrozyten wird Nasenseptumknorpel, der bei Septorhino- und Septumplastiken überbleibt, verwendet. In ca. 5x5 mm große Stücke zerteilt und von Bindegewebe und Perichondrium befreit, kann der Knorpel zur Zellisolierung verarbeitet werden. Der Verdau der Knorpel-EZM zur Freisetzung der Zellen findet über 17 Stunden mit Hilfe von Kollagenase Typ II (0.1 % (NB5, Serva)) bei 37°C und 5% CO₂ statt. Für die Zellkultivierung der gewonnenen Chondrozyten werden 175 cm² Zellkulturflaschen verwendet (Abb. 3). Als Medium dient das modifizierte Dulbecco's MEM/HAM's F-12.

Medium:

400 ml DMEM/HAM F12

50 ml Fötale Kälberserum 10%

5 ml Penicillin/Streptomycin 1%

5 ml nichtessentielle Aminosäuren 1%

Nach zwei Passagen im supplementierten Dulbecco's MEM/HAM's F-12 Medium können die Chondrozyten in eine dreidimensionale (3D) - Kultur überführt werden. In der Fortführung der Monolayer (2D) Kultur würden die Chondrozyten dedifferenzieren. Das heißt sie verlieren ihre knorpelspezifischen Eigenschaften wie die Kollagen Typ II Synthese.

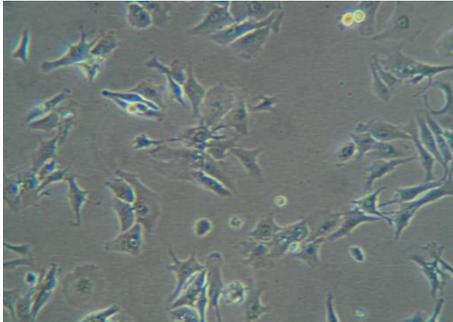


Abb.3 Humane nasoseptale Chondrozyten in der Monolayer (=2D) Kultur, Passage (P) 0, 100x, nativ
(Originalabbildung selbst erstellt)

Wichtiger Marker für den Nachweis des differenzierten Phänotyps von Chondrozyten ist der Transkriptionsfaktor SOX9, welcher bei Aktivierung durch Phosphorylierung in den Zellkern transloziert und die Transkription von Kollagen der Typen II, IX, XI, und des Proteoglykans Aggrecan reguliert [41]. Kollagen Typ II und das Proteoglykan Aggrecan, welche in der EZM des Knorpels zu finden sind, sind die wichtigsten spezifischen Marker für die EZM des Knorpels [42, 43]. Kollagen Typ I findet man vor allem bei Dedifferenzierung der Chondrozyten zu Fibroblasten. Bei der *in vitro* Proliferation der Chondrozyten in der Monolayerkultur findet regelmäßig die Dedifferenzierung während des Passagierens statt. Bei Hypertrophie des Knorpels ist vermehrt das Kollagen Typ X zu finden, welches auch im Knochen nachweisbar ist [44]. Um eine Dedifferenzierung in der *in vitro* Kultur zu verhindern, werden die Chondrozyten in der 3D Kultur gezüchtet [45].

1.5.2 Kultivierung von nasoseptalen Chondrozyten in Biomaterialien

Um Chondrozyten autolog zu transplantieren und um ihre Dedifferenzierung zu verhindern, werden seit Jahrzehnten verschiedene resorbierbare Biomaterialien für die 3D Chondrozytenkultur untersucht. Biomaterialien nehmen in der Regeneration von Geweben und Organen als Träger für die Organ-spezifischen Zellen und damit in der Wiederherstellung ihrer Funktion eine zentrale Rolle ein. Zur Unterstützung der Differenzierung stehen verschiedene Biomaterialien zur Verfügung. Dabei werden natürliche und synthetische Biomaterialien

unterschieden. Im Folgenden sollen einige Biomaterialien vorgestellt werden, die auch in den aufgeführten Veröffentlichungen genutzt wurden.

Eines der ältesten Biomaterialien ist die demineralisierte Knochenmatrix (DBM). Erstbeschreiber der Herstellung von humaner DBM war Urist im Jahr 1965. Neben Knochen von Labortieren lyophilisierte und dekalzifizierte er humane Kortikalis von Unfallopfern in einer sterilen 0.6N Chlorwasserstofflösung. Es folgte die Implantation in den Muskel eines Labortieres und/ oder in Skelettdefekte eines Menschen. Nach 3 Wochen konnte Urist das Einwandern von Histiozyten und anderen inflammatorischen Zellen beobachten. Die Kollagenfasern blieben dabei intakt und nach 4 bis 6 Wochen konnte ausgehend von Osteoprogenitorzellen neuer Knochen und neuer Knorpel detektiert werden [46]. Heute weiß man, dass knochenmorphogenetische Proteine (BMP) aus der Familie der transformierenden Wachstumsfaktoren β (TGF β), der fibrosierende Wachstumsfaktor (FGF) und der Insulin Wachstumsfaktor für Osteoinduktion und Osteokondition verantwortlich sind [47].

In den letzten Jahrzehnten hat die DBM als Biomaterial in verschiedenen Fachgebieten Einzug gehalten. Neben der Unfallchirurgie und Orthopädie ist das Biomaterial vor allem in der Zahnmedizin zu finden [48-50]. Aber auch in der Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde wird DBM angewandt. Die Verkleinerung von Radikalhöhlen nach Ausbohrung des Mastoids aufgrund von Cholesteatomen kann mit DBM erfolgen [51].

Eine interessante Fallbeschreibung gibt es von Pirsig et al. Sie konnten erfolgreich bei einem 6- jährigem Kind mit Septumperforation nach Nasenverletzung im Alter von 3 Jahren ein composite graft aus DBM und Ohrchondrozyten zum Septumverschluss implantieren. Sie setzten zunächst DBM zwischen Perichondrium und Knorpel der Concha des rechten Ohres ein und explantierten 6 Wochen später das Scaffold mit einer Größe von 1,5 cm wieder um es zwischen die die neu gebildeteten Schleimhautlappen des Nasenseptums zu setzen und die Perforation zu verschließen. [52].

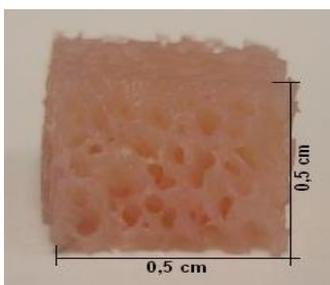


Abb. 4 DBM Würfel (Abbildung aus Liese et al., 2013 [53])

Poly α Hydroxycarbonsäuren sind intensiv als Biomaterial für das Tissue Engineering untersucht worden [54]. Sie haben gute mechanische Eigenschaften. In der Familie der Poly α Hydroxycarbonsäuren hat sich die Poly-L-Milchsäure (PLLA) als am besten geeignet gezeigt (Abb. 5). Sie degradiert in natürliche Abbauprodukte, kann einfach hergestellt werden und ihre mechanischen Eigenschaften und Abbaueigenschaften können auf spezielle Ansprüche angepasst werden. Verschiedene Techniken werden zur Produktion der porösen PLLA Scaffolds mit verschiedener Mikrostruktur genutzt, wie z.B. Teilextraktion [55], Phasentrennung [55-57], Electrospinning [58, 59] and 3D Micro-printing [60, 61].

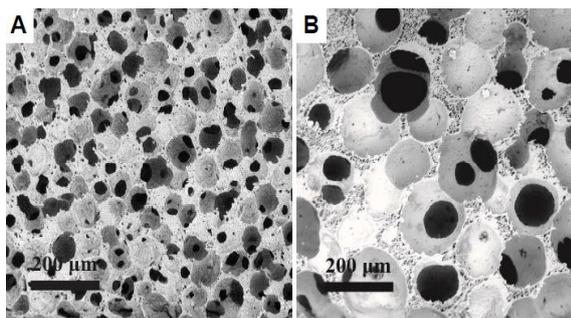


Abb. 5 PLLA Konstrukt unter dem Rasterelektronenmikroskop
A Porengröße 100 μm , B Porengröße 200 μm (Abbildungen aus Conoscenti et al. 2017, [62])

Das PGA/PLLA (Polyglycolsäure/Polymilchsäure) Konstrukt ist ein Glykolat/Laktat Copolymer mit punktuellen Polydioxanon-Verklebungen und eignet sich aufgrund der Offenporigkeit mit interkonnektierenden Poren ($d = 100\text{-}200 \mu\text{m}$) als Biomaterial zur Chondrozyteninduktion (Abb. 6). Die gute Verfügbarkeit und das fehlende Infektionsrisiko in früheren Beobachtungen [63] und der weitgehende Abbau nach 8 Wochen sprechen neben der Induktion der Chondrogenese für dieses Biomaterial [64-66].



Abb. 6 PGA/PLLA Konstrukt (Abbildung aus Stölzel et al. 2015, [67])

Das Alginat ist ein Biomaterial, welches aufgrund seiner Unterstützung der Chondrogenese und der Erhaltung des chondrogenen Phänotyps *in vitro* und *in vivo* bereits häufig angewandt wurde

(Abb. 7) [68, 69]. Untersuchungen der Stammzellendifferenzierung in Zellen des Stützgewebes wiesen einen fördernden Einfluss auf die Induktion der Chondrogenese nach [70, 71].



Abb. 7 Alginatkugel (Abbildung aus Stölzel et al. 2015, [67])

Bioaktives Glas ist ein Material, welches *in vitro* und *in vivo* eine Hydroxylapatitschicht ausbildet und so in der Lage ist, weiches und hartes Gewebe zu binden (Abb. 8). Es baut sich kontinuierlich ab und kann vitalen Knochen und Knorpel binden [72]. Vor allem im Tissue Engineering von Osteozyten wurden hier bereits viele Erfahrungen gesammelt. Die Inkorporation von Bioglas in Biomaterialien für die Chondrogenese hat ebenfalls bereits in einigen Studien die Verbesserung der Hydrophilie und der mechanischen Eigenschaften der Konstrukte gezeigt [73, 74]. Bisher wurden hier vor allem verschiedene Polymere wie durch Elektrospinning hergestellte PDLA Fasern [75], Schaumstoffe [76] oder das PLLA [77] untersucht. Mit der Herstellung der Konstrukte mittels PLLA und TIPS (Thermoinduzierte Phasenseparation)-Technik konnte auch in unserer Arbeitsgruppe gezeigt werden, dass Bioglas eine zellkompatible Basis für zukünftige Konstruktzusammensetzungen ist [74].

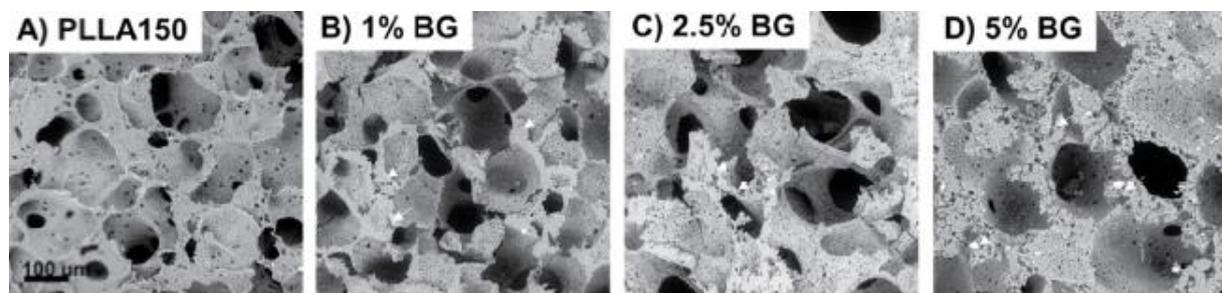


Abb. 8 Morphologie der Oberfläche der Kombination von PLLA und Bioglas (BG) im Rasterelektronenmikroskop. A: PLLA mit 150μm Porengröße. B: mit 1% BG. C: mit 2.5% BG

(Abbildungen aus Conoscenti et al. 2019, [74])

1.5.3 Mesenchymale Stammzellen in der Chondrozytenkultur

Mesenchymale Stammzellen sind in verschiedenen Geweben zu finden, haben die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und sind in der Lage zu proliferieren [78, 79]. Sie zeigen Plastizität [80]

und die Differenzierung in Chondrozyten, Osteoblasten, Adipozyten aber auch Kardiomyozyten, Pneumozyten und neurale Zellen ist möglich [81-83]. Das „Mesenchymal and Stem cell committee“ der Internationalen Gesellschaft für zelluläre Therapie hat Standards für die Charakterisierung der mesenchymalen Stammzellen definiert. So sollen sie eine Plastikadhärenz zeigen, positiv für die Zellcluster (CD) 105, 73 90 und negativ für 45, 34, 14 oder 11b, 79a oder 19 und HLA Klasse II sein und müssen in Osteozyten und Adipozyten und Chondroblasten differenzieren können [84]. Meist werden sie aus dem Knochenmark oder aber aus dem Fettgewebe gewonnen [85, 86]. Aufgrund der leichteren Entnahme und hohen Proliferationsfähigkeit hat sich die Gewinnung von adipösen Stammzellen aus der stromalen Gefäßfraktion des Fettgewebes für die Differenzierung in Knorpelzellen etabliert [87, 88]. Zur chondrogenen Differenzierung können sie mittels Kulturmedium, welchem TGF β ₁ zugesetzt wird und durch verschiedene Biomaterialien angeregt werden. Auch Ko- Kulturen aus Chondrozyten und Stammzellen sind zur Bildung eines 3D Konstrukts möglich [89].

1.6 Zielstellung

Aufgrund des großen Einflusses der respiratorischen Funktionseinschränkung der Nase auf die anderen Aufgaben der Nase und aufgrund der Auswirkungen auf Erkrankungen der Atemwege und des kardiovaskulären Systems und damit auch auf gesundheitsökonomisch wichtige Erkrankungen war es Ziel der folgenden Arbeiten ausgewählte Diagnostik- und Therapieverfahren bei respiratorischer Funktionseinschränkung zu evaluieren. Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

1. Ist die allergische Rhinitis symptomatisch effektiv und sicher mit einem thixotropen nicht pharmakologischen Nasenspray zu behandeln?
2. Sind liposomale und thixotropische nicht pharmakologisches Nasenspray in der Anwendung bei freiliegendem nasoseptalen Knorpel sicher?
3. Ist die NBI-Nasenendoskopie zur Darstellung und Beschreibung der Nasenschleimhaut aufgrund der besseren Darstellung von Gefäßen zur Rhinoskopie eher geeignet als die Weißlicht-Endoskopie?
4. Sind die drei vorgestellten operativen Techniken zur der Nasenmuschelverkleinerung hinsichtlich der objektiven und der subjektiven Parameter der respiratorischen Funktion der Nase als gleichwertig zu betrachten?
5. Ist das DBM als Biomaterial für Chondrozytenmakroaggregate geeignet?
6. Können die SV40 large T-Antigen-immortalisierten humanen Stammzelllinien L84 / 7 und V 54-2 chondrogen differenzieren?

2. Eigene Arbeiten

Die allergische Rhinitis ist eine der häufigsten Ursache für die respiratorische Funktionsstörung der Nase. Die Lebenszeitprävalenz der allergischen Rhinitis mit den Symptomen Obstruktion, Rhinorrhoe, Niesreiz und Hyposmie liegt bei 25 bis 30% [18]. Die symptomatische Behandlung mit Antiallergika und/oder Kortisonpräparaten ist etabliert. Frage der folgenden Arbeit war es, ob auch mit lokalen mechanisch wirksamen Präparaten die Symptomatik bei allergischer Rhinitis ausreichend und sicher behandelt werden kann.

2.1 “Safety and efficacy of Nasya/Prevalin in reducing symptoms of allergic rhinitis”

Nasya ist ein natürliches, medikamentenfreies Nasenspray zur symptomatischen Therapie und Prävention bei allergischer Rhinitis. Aufgrund seines thixotropen Charakters bildet es eine Barriere auf der Nasenschleimhaut, die den Kontakt von Allergenen verhindert. Die folgende Studie bewertete die klinische Wirksamkeit und Sicherheit von Nasya durch nasale Provokation mit Hausstaubmilben-Allergenen. In der randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Studie erhielten 20 Probanden, die an allergischer Rhinitis aufgrund einer Hausstaubmilbenallergie litten, vor der Allergenbelastung eine einzelne Dosis Nasya oder als Placebo Salzspray. Neben dem Rhinoskopie-Score mit Beurteilung der Schleimhaut hinsichtlich Schwellung, Rötung und Sekretion, wurden der Total Nasal-Symptom-Score und der Total Ocular-Symptom-Score vor und nach der Provokation bewertet. Dabei zeigte sich, dass eine einmalige Behandlung mit Nasya im Vergleich zum Placebo zu einer signifikanten Reduktion des TNSS und einer signifikanten Änderung im Rhinoskopie Score nach Hausstaubmilbenallergenexposition führt.

Somit kann man mit diesem Medizinprodukt auf ein Arzneimittel zur Verhinderung der respiratorischen Funktionseinschränkung verzichten.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <https://doi.org/10.1111/crj.12080>

Nicht pharmakologische Nasensprays sind frei verkäuflich und können ohne vorherige Untersuchung der Nase durch den HNO Arzt angewandt werden. Bei einer Lebenszeitprävalenz der allergischen Rhinitis von 25-30% [20] ist das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen aufgrund vorbestehender und meist unbekannter Schleimhautläsionen möglich. Bei Patienten mit einer allergischen Rhinitis kann durch wiederholte inflammatorische Prozesse und unabhängigen Ursachen wie Zustand nach Septumplastik, Kokainmissbrauch oder digitale Manipulation der Knorpel am Septum freiliegen. Eine Untersuchung des Einflusses der nicht pharmakologischen Nasensprays auf freiliegenden Nasenseptumknorpel bei geschädigter Mukosa ist nach unseren Recherchen noch nicht erfolgt.

2.2 “Effect of nasal sprays on an in vitro survival and morphology of nasoseptal cartilage“

Zur Behandlung der allergischen Rhinitis wurden vor einigen Jahren nicht pharmakologische Nasensprays auf den Markt gebracht. Bei direkter Exposition des nasoseptalen Knorpels sind Nebenwirkungen nicht auszuschließen. Es sollte der Einfluss von thixotropen und liposomalen Nasensprays auf die Vitalität von nasoseptalen Chondrozyten verglichen werden. Dazu wurden humane Chondrozyten aus chirurgisch präparierten Geweben isoliert. Alternativ wurden Gewebeexplantatchips (porciner und humaner Herkunft) aus Nasensepten verwendet. Den Zell – bzw. Explantatkulturen wurde über 24 Stunden ein Nasenspray zugesetzt. Parameter waren die Zellvitalität und das Gen- und Proteinexpressionsprofil (Kollagen Typ I und II, SOX9 und Matrix-Metalloproteinase [MMP] -1) mittels RTD-PCR und Immunmarkierung.

Die Supplementierung des liposomalen Nasensprays führte in der Explantat- oder Chondrozyten-*In-vitro*-Kultur im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen zu einem vermehrten Zelltod. Die Protein-Expressionsanalyse zeigte im Vergleich zu den Kontrollen einen Trend zur Inhibition von Kollagen Typ II und SOX9. Bei Supplementierung des thixotropen Nasensprays zeigten sich keine Änderungen im Gen- und Proteinexpressionsprofil gegenüber der Kontrolle. Die Pathogenese, die durch das liposomale Nasenspray zum vermehrten Zelltod der nasoseptalen Chondrozyten führt, muss weiter untersucht werden. Patienten mit allergischer Rhinitis, die zusätzlich ein freiliegendes Nasenseptum haben, sollten kein liposomales Nasenspray nutzen.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <https://doi.org/10.1007/s00405-014-3165-5>

Die chronische Hypertrophie der *Conchae nasales inferiores* ist eine sehr häufige Ursache für die respiratorische Funktionseinschränkung der Nase. Ihrer Inspektion wird eine besondere Bedeutung zugeordnet. Eine neue Diagnostik der Nasenmuscheln soll in der folgenden Arbeit im Fokus stehen.

2.3 “Narrow Band Imaging Endoscopy- Novel diagnostic method in the hypertrophy of inferiore turbinates”

Einige der häufigsten Krankheitsbilder bei persistierender respiratorischer Funktionseinschränkung ist die Hypertrophie der *Mucosa nasalis*. Aufgrund ihres hohen Oberflächenanteils an der Mukosa, der Schwellkörper und der Lage im laminaren Luftstrom sind die *Conchae nasales inferiores* dabei im Hauptfokus. Neben den in der Einleitung beschriebenen und etablierten Diagnosemöglichkeiten wird in der Arbeit eine neue Methode der Diagnostik vorgestellt. Die Narrow Band Imaging Endoskopie (NBI) ist bereits in der Routine für die Untersuchung von Gefäßen in Mundhöhle, Rachen und Kehlkopf zu finden. Die Fragestellung war, ob die NBI auch in der Diagnostik der Nase zu etablieren ist. Dafür wurden die Gefäße der *Conchae nasales inferiores* mittels NBI und Weißlicht-Endoskopie analysiert und verglichen. Einhundertneun Patienten mit Hypertrophie der *Conchae nasales inferiores* wurden rekrutiert. Dann verglich man die Sichtbarkeit der Gefäße und die respiratorische Funktionseinschränkung durch die anteriore Rhinomanometrie vor und zu verschiedenen Zeitpunkten nach chirurgischer Intervention. Mittels NBI wurden signifikant mehr Gefäße als mittels Weißlicht-Endoskopie identifiziert. Die Abnahme der Gefäße nach chirurgischer Intervention konnte jedoch nicht mit der Abnahme des Atemwegwiderstands korreliert werden. Zur Erweiterung des Rhinoskopie-Scores ist die NBI Endoskopie aufgrund ihrer besseren Darstellung der Gefäße jedoch geeignet.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <http://www.clinicsinsurgery.com/full-text/cis-v1-id1163.php>

Wenn die Zahl der Nasenmuschelreduktionen an 21. Stelle der 50 häufigsten Operationen in Deutschland liegt [27] ist eine gute Therapie von gesundheitsökonomischer Bedeutung. Deshalb hat sich die nächste Arbeit mit dem Ausmaß der Verbesserung der respiratorischen Funktionseinschränkung und der Verbesserung der Lebensqualität durch verschiedene Operationstechniken zur Nasenmuschelverkleinerung beschäftigt.

2.4 “Effekt of surgical treatment of hypertrophic turbinates on the nasal obstruction and the quality of life”

Es gibt verschiedene chirurgische Techniken zur Verkleinerung der *Conchae nasales inferiores*. Aufgrund der divergenten Aussagen in der Literatur war es Ziel der folgenden Studie subjektive und objektive Parameter für den Vergleich drei etablierter Verfahren der chirurgischen Nasenmuschelreduktion zu bestimmen. Das sind die submuköse Turbinoplastik mit Lateralisation, die submuköse Elektrokaustik und die Laserkaustik: Der Praxis und der Studie von Balcerzak [90] folgend wurden diese Eingriffe mit einer Septumplastik kombiniert um ein hohes Outcome hinsichtlich der Zufriedenheit der Patienten zu erreichen. Die Probanden wurden zufällig einer der drei Interventionsgruppen zugeordnet und bis zu 6 Monate nach dem chirurgischen Eingriff nachbeobachtet. Während der vier Visiten wurden die subjektiven Parameter mit der modifizierten deutschen Version des Fragebogens „Sino-Nasal Outcome Test 20“ gemessen. Zusätzlich wurden die Nasenatmungswiderstände, die absoluten Nasenströmungsraten und die jeweilige Schleimhautkomponente des Atemwegswiderstandes durch die anteriore Rhinomanometrie bestimmt. Nach der Operation nahmen die subjektive und objektive Nasenobstruktion sowie der Anteil der Schleimhautschwellung des Atemwegswiderstandes in allen drei Gruppen signifikant ab. Darüber hinaus verbesserten sich die subjektiven Symptome, die mit dem modifizierten Sinus-Outcome-Test 20 gemessen wurden ebenfalls signifikant, wobei es zwischen den Gruppen hinsichtlich der subjektiven Nasenatmungsbehinderung, des Ohrdrucks, des Nasenschmerzes, der Tagesmüdigkeit, des Hustens und des trockenen Mundes Unterschiede in den einzelnen Visiten gab. Alle chirurgischen Techniken zur Reduzierung der Hypertrophie der Nasenmuscheln führten zu einer signifikanten Verbesserung der objektiven und subjektiven respiratorischen Funktionseinschränkung der Nase und der Lebensqualität. Die Septumplastik erwies sich als zusätzlicher Nutzen.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2017.08.009>

Nasenseptumperforationen führen zu einer respiratorischen Funktionseinschränkung durch Untergang von nasoseptalem Knorpel und Veränderungen im Gleichgewicht zwischen turbulenter und laminarer Luftströmung. Die Rekonstruktion mit Hilfe von Biomaterialien aus dem Bereich der regenerativen Therapien wird seit langem verfolgt. Ziele sind das optimale Biomaterial und die besten Kultivierungsmethoden von autologen Chondrozyten und mesenchymalen Stammzellen zu finden. Im Gegensatz zu verschiedenen gelartigen Biomaterialien garantiert humane demineralisierte Knochenmatrix (DBM) eine gewisse biomechanische Stabilität für die Anwendung in biomechanisch belasteten Regionen. In der folgenden Studie wurde zum ersten Mal die Methode der Besiedelung von nasoseptalen Chondrozyten-Makroaggregaten mit DBM durchgeführt.

2.5. “Cartilage tissue engineering of nasal septal chondrocyte-macroaggregates in human demineralized bone matrix“

Nach der Isolierung humaner nasoseptaler Chondrozyten und der Bildung einer dreidimensionalen Makroaggregatanordnung wurde DBM 14 Tage lang *in vitro* mit den Makroaggregaten kultiviert. Die Interaktionen der Zellen innerhalb des DBM sind im Hinblick auf die Zelldifferenzierung und die Wirkung auf die Chondrozytenproliferation analysiert worden.

In den Zell-DBM-Konstrukten dominierte im Gegensatz zu den Makroaggregaten ohne DBM bei den morphologisch veränderten Zellen die Expression von Kollagen Typ I. Die Redifferenzierung der Chondrozyten, die durch die Wiederaufnahme der Expression von Kollagen Typ II gekennzeichnet ist, wurde nur in geringen Mengen in den Zell-DBM-Konstrukten gefunden. Darüber hinaus wurde in einigen Zellen der Chondrozyten-DBM-Konstrukte Caspase III, ein Marker für Apoptose, nachgewiesen. Die Freisetzung toxischer Agenzien aus der DBM als Ursache für die Apoptose konnte nicht nachgewiesen werden. In einem anderen experimentellen Umfeld wurde die Vitalität von Chondrozyten in Abhängigkeit von Kulturzeit und DBM Konzentration durch den Proliferationstest (BrdU-Assay) unter Bezugnahme auf eine Kontrollgruppe analysiert. Höhere Mengen an DBM tendierten im Vergleich zu der Kontrollgruppe innerhalb der ersten 48 Stunden zu signifikant höheren Proliferationsraten und einer besseren Vitalität der Zellen. Nach 96 Stunden sank die Vitalität allerdings signifikant unter die der Kontrollgruppe.

Zusammenfassend liefert diese Studie den Nachweis, dass das Konzept von Chondrozyten-Makroaggregaten mit DBM als interessante Methode für das Tissue-Engineering von Knorpel betrachtet werden kann. Die derzeit unzureichende Redifferenzierung der Chondrozyten und der sporadische Beginn der Apoptose machen jedoch weitere Untersuchungen erforderlich.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <https://doi.org/10.1007/s10561-012-9322-4>

Andere gut untersuchte und etablierte Biomaterialien sind das Alginat und das Polyglycolsäure/Poly-L-Milchsäure (PGA/PLLA) (90/10) Copolymergerüst. Sie wurden in der letzten hier vorgestellten Arbeit genutzt, um immortalisierte mesenchymale Stammzelllinien auf ihre Differenzierungsfähigkeit in Chondrozyten zu untersuchen.

2.6 “Immortalised human mesenchymal stem cells undergo chondrogenic differentiation in alginate and PGA/PLLA scaffolds“

Adulte mesenchymale Stammzellen (MSCs) sind aufgrund ihrer guten Verfügbarkeit, ihrer leichten Isolation und ihrer hohen Proliferationsaktivität eine vielversprechende Quelle für das Tissue Engineering. Die Studie wurde durchgeführt, um zu untersuchen, ob immortalisierte humane MSCs eine chondrogene Differenzierung durchlaufen können, wenn sie in Alginat oder in resorbierbaren Gerüsten kultiviert werden. Die Chondrogenese von MSCs wurde direkt mit denen von humanen nasoseptalen Chondrozyten verglichen. Dazu sind zwei etablierte humane Stammzelllinien L87/4 und V54-2, die mit dem SV40 large T- Antigen immortalisiert wurden entweder in Alginat oder in PGA/PLLA (90/10) Copolymergerüsten kultiviert worden. TGF- β 1 wurde zur Induktion der Chondrogenese appliziert. Humane nasoseptale Chondrozyten und humane Fibroblasten dienten als Kontrollen. Die Kulturen wurden auf sulfatierte Glycosaminoglykane mittels der Alcian-Blau-Färbung und auf das Vorhandensein von Kollagen Typ I, II und X in der Immunhistochemie untersucht. Es zeigte sich, dass SV40 large T-Antigen-immortalisierte humane MSCs chondrogen differenziert werden können. Nach 21 Tagen war knorpelspezifisches Kollagen Typ II im Alginat- und in den PGA/PLLA-Gerüsten unabhängig von der Zugabe von TGF- β 1 vorhanden. Kollagen Typ X war als Marker für hypertrophen Knorpel in den Monolayer-Kulturen, im Alginat- und in den PGA/PLLA-Gerüsten zu detektieren. Kollagen Typ I wurde in nur geringen Mengen produziert.

(Text teilweise aus dem Abstrakt oder der oben genannten Publikation übernommen, Übersetzung durch die Autorin)

Quelle: <https://doi.org/10.1007/s10561-014-9457-6>

3 Diskussion

Die ungestörte respiratorische Funktion der Nase als Atmungsorgan ist für die Lebensqualität unabdingbar. Ist der einzig physiologische Atemweg über die Nase gestört, so sind Diagnostik und Therapie unentbehrlich. In dieser Arbeit wurden ausgewählte klinische und experimentelle Diagnostik- und Therapieverfahren evaluiert. Dabei zeigte sich, dass:

1. Die allergische Rhinitis symptomatisch effektiv und sicher mit einem thixotropen nicht pharmakologischen Nasenspray behandelt werden kann
2. Das liposomale nicht pharmakologische Nasenspray in der in vitro Chondrozytenkultur verglichen mit der Kontrolle und dem thixotropen Nasenspray zu einem vermehrten Zelltod führt
3. Die NBI-Nasenendoskopie zur Darstellung der Gefäße an der Nasenschleimhaut signifikant besser geeignet ist als die Weißlicht-Endoskopie
4. Die drei vorgestellten und weit verbreiteten Methoden der Nasenmuschelverkleinerung hinsichtlich der objektiven und der subjektiven Parameter als gleichwertig zu betrachten sind
5. Das DBM als Biomaterial für Chondrozytenmakroaggregate geeignet ist, jedoch die derzeit unzureichende Redifferenzierung der Chondrozyten und der sporadische Beginn der Apoptose weitere Untersuchungen erforderlich machen
6. Die SV40 large T-Antigen-immortalisierten humanen Stammzelllinien L84 / 7 und V 54-2 chondrogen differenzieren können

3.1 “Safety and efficacy of Nasya/Prevalin in reducing symptoms of allergic rhinitis”

Die allergische Rhinitis hat in Deutschland eine Lebenszeitprävalenz von 25-30 % [18]. Hier ist neben der Karenz die medikamentöse Therapie angezeigt. Neben der kausalen Therapie mittels spezifischer Immuntherapie und der symptomatischen Therapie mit Antihistaminika und Glukokortikoiden sind seit einigen Jahren auch nicht pharmakologische Nasensprays zur Reduzierung der Symptomatik bei allergischer Rhinitis auf dem Markt der antiallergischen Medikamente zu finden. Sie gelten nicht als Arzneimittel sondern als Medizinprodukte, die auf physikalischem Weg wirken. Trotz Studien, wie die hier vorgestellte Arbeit zum thixotropischen Nasenspray konnten sie sich jedoch (noch) nicht auf diesem Markt durchsetzen [91]. Thixotropische Gele werden häufig zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Medikamenten, wie zum Beispiel für das Granisetron bei Übelkeit durch Chemotherapeutika in der Nase eingesetzt. In einer Studie von Ibrahim et al. konnte gezeigt werden, dass die intranasale Applikation des Granisetron als thixotropische Flüssigkeit in Gellan Gummi bzw. im Alginat Polymer eine bessere Bioverfügbarkeit hat [92]. Phospholipide werden ebenfalls häufig als Träger von Wirkstoffen genutzt werden [93, 94].

In einer Studie von Böhm et al. konnte die die Verringerung der Symptomatik bei Rhinokonjunktivitis durch liposomale Nasensprays nachgewiesen werden [95].

Die Toxizität von Arzneimitteln und Medizinprodukten wird regelmäßig vor Einführung auf den Markt geprüft. Im Manuskript zum Nasya Spray sind keine klinischen Nebenwirkungen beobachtet worden [91]. Wobei hier keine Langzeitbeobachtungen stattfanden.

3.2 “Effect of nasal sprays on an in vitro survival and morphology of nasoseptal cartilage“

Nachdem die Idee entstand die Sicherheit der nicht pharmakologischen Nasensprays bei freiliegendem Knorpel zu untersuchen, war die Frage nach der Durchführung zunächst schwierig. Zum einen stand die Frage der Dosisfindung in der *in vitro* Kultur und zum anderen die Frage, ob man zwischen einer Chondrozytenkultur und einem kompakten Knorpel unterscheiden muss. Deshalb wurden nasoseptale Chondrozyten und 2 mm große nasoseptale Knorpelchips kultiviert und 300 µl des jeweiligen Nasenspray 1:5 verdünnt in das Kulturmedium appliziert.

Es zeigte sich, dass die Supplementierung des liposomalen Nasensprays nach 24 Stunden zum Zelltod im Knorpelchip als auch in der Chondrozytenkultur führte. SOX9 war im Gegensatz zu

den Kontrollkulturen nicht im Zellkern darstellbar. Die sulfatierten Glycosaminoglykane stellten sich in der Alcianblaufärbung dar, sodass die EZM scheinbar nicht innerhalb der 24 Stunden beeinflusst wurde. Die Expression von Kollagen Typ I und II war allerdings gegenüber der Kontrollkultur geringer. Man kann postulieren, dass die 24 stündige Beobachtung für Effekte auf die EZM zu kurz war.

Überträgt man das Ergebnis auf die Klinik, so muss man kritisch anmerken, dass den Knorpelchips neben der mukonasalen Barriere auch das Perichondrium mit seinen Gefäßen fehlte. Hinzu kam die Beobachtung, dass sich auf den Knorpelchips kleine Inseln des Sprays angesammelt haben, die die Ernährung des Knorpels ebenfalls verhindert haben konnten. Wird das Nasenspray während einer akuten allergischen Rhinitis angewandt, kommt es zusätzlich zu einer höheren Sekretion aus der Mukosa und damit erreicht weniger Nasenspray den ggf. freiliegenden Knorpel [96].

Das thixotropische Nasenspray zeigte eine gute Zytokompatibilität mit den nasoseptalen Chondrozyten, was sich in einer hohen Zellebensfähigkeit, der ansteigenden Genexpression von SOX9 und dem deutlichen Abfall von Kollagen Typ I nach 6 Stunden zeigte.

Es ist nicht ganz klar, was die Toxizität des liposomalen Nasensprays verursacht hat. Entweder waren es die Phospholipide selbst oder aber Zusatzstoffe, wie das Phenoxyethanol. Es gibt einige Studien, die die hämatologische, reproduktive und neurogene Toxizität von Alkoholen gezeigt haben [97-99]. Arbeiten zur Schädigung des respiratorischen Epithels der Atemwege durch diese Stoffe sind ebenfalls bekannt [100, 101]. Eine aktuelle Studie untersuchte *in vitro* die Toxizität des Leukotrien-Rezeptor-Antagonisten Montelukast auf das respiratorische Epithel. Hier konnte keine Toxizität gezeigt werden, wobei hier auch keine Alkohole enthalten sind [102].

3.3 “Narrow Band Imaging Endoscopy- Novel diagnostic method in the hypertrophy of inferiore turbinates”

In dieser Studie wurde die Verwendung von NBI-Endoskopie in der Diagnostik und postoperativen Nachschau der vergrößerten inferioren Nasenmuschel untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Darstellung der Blutgefäße mit der NBI-Endoskopie verglichen mit der herkömmlichen Weißlicht-Endoskopie deutlich besser ist. Die Anteile der Mukosa und Submukosa in der Nasenhaupthöhle verändern sich durch neoplastische Prozesse. Besonders dominant sind diese neoplastischen Veränderungen an den *Conchae nasales inferiores*. Die

Kapillaren der *Lamina propria mucosae* und die venösen Sinusoide der *Lamina submucosa* tragen signifikant zur Muschelvergrößerung bei [103]. Berger et al. postulierten, dass die Zunahme der Kapillarenzahl der *Lamina propria* zur Vergrößerung der venösen Sinusoide der *Lamina submucosa* führen [104]. Auch Talaat et al. stellten die Hypothese auf, dass die Zahl der kleinen Gefäße in den *Laminae mucosae* und *submucosae* ursächlich mit der Gewebevergrößerung assoziiert ist [105]. Die Ergebnisse unterstützen diese Hypothese, da nach der erfolgreichen chirurgischen Intervention eine signifikante Abnahme der Blutgefäßanzahl dargestellt werden konnte. Die NBI Endoskopie wurde erstmals im Jahr 2004 von Yoshidi und Kollegen als diagnostisches Mittel für Ösophagus-Läsionen beschrieben [106]. Seitdem ist die NBI Endoskopie in vielen Studien als Teil der Magen-Darm-Trakt-Endoskopie [107] oder pulmonalen Endoskopie [108] anerkannt worden. Auch in der Otorhinolaryngology ist die NBI Endoskopie in der frühen Karzinom-Diagnostik (Mundhöhle und Oropharynx) etabliert [109, 110]. Ein Fallbericht zeigte den Nutzen der NBI Endoskopie in der Erkennung von Malignomen der Nasenschleimhaut. Hier wurde bei einem Patienten mit Zustand nach Lymphom nach 13 Monaten ein Rezidiv in der linken Nasenhaupthöhle in der Positronenemissionstomografie vermutet. Die Weißlicht-Endoskopie zeigte allerdings keine suspekten Läsionen. Mittels NBI Endoskopie konnte ein Gebiet mit alterierten Gefäßen ausgemacht werden. [111].

In unserer Studie wurden die diagnostischen Möglichkeiten einer Standard-Weißlicht-Endoskopie erweitert. Zusätzlich zur Beurteilung der Schleimhautschwellung, Rötung und Sekretion mit der Weißlicht-Endoskopie, bietet die NBI-Endoskopie eine wichtige Information über die Anzahl und Form der Blutgefäße der unteren Nasenmuschel. Diese zusätzliche Information kann verwendet werden, um den Vaskularisierungsindex in Nasengeweben abzuschätzen, was mit der Weißlicht-Endoskopie nicht möglich ist. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Visualisierung von Blutgefäßen während der ersten paar Monate nach chirurgischen Eingriffen beeinträchtigt ist, wenn nicht unmöglich, wenn die herkömmliche, Weißlicht-Endoskopie verwendet wird. Zur gleichen Zeit war es gut möglich die Blutgefäße mit der NBI-Endoskopie zu überwachen. Kritisch muss man den Mehrwert für den klinischen Alltag betrachten. Ob sich die NBI Endoskopie auch in der Nase etablieren kann, wird die Zukunft zeigen. In der Beurteilung der atrophischen Rhinitis oder aber bei Verdacht auf dysplastische oder maligne Veränderungen der Schleimhaut hat sie bereits ihren Platz gefunden.

3.4 “Effekt of surgical treatment of hypertrophic turbinates on the nasal obstruction and the quality of life”

Im Jahr 2017 lag die Zahl der Nasenmuschelreduktionen an 21. Stelle der 50 häufigsten Operationen in Deutschland und erreichte insgesamt 165.325 Fälle [27]. Angewandt wurden dabei verschiedene Operationsmethoden. Chirurgische Techniken, bei denen nur das Weichteilgewebe der unteren Nasenmuscheln reduziert wird stehen immer wieder in der Kritik. Die Nasenatmungsbehinderung würde nicht nachhaltig verbessert werden und es können Schleimhautnekrosen, Krusten und Blutungen auftreten [112, 113]. Trotzdem sind diese Techniken aufgrund ihrer leichten Durchführbarkeit und wenigen Komplikationen weit verbreitet [28, 114].

Ziel unserer Studie war es die objektiven und subjektiven Ergebnisse etablierter chirurgischer Techniken, die zur Behandlung der Nasenmuschelhypertrophie verwendet werden zu vergleichen. Nach Hofer et al. ist die schleimhauterhaltende Operation durch die submuköse Turbinoplastik die Methode der Wahl, da postoperative Symptome wie eine trockene Nase vermieden werden können [112]. Salzano et al. sehen auch die partielle submuköse Turbinoplastik als beste Methode nach Vergleich mit Hochfrequenzablation und Elektrokaustik. Leider haben die Autoren ihre Patienten nur zwei Monate nachbeobachtet [115]. In einer prospektiven randomisierten Langzeitstudie mit 382 Patienten haben Passalli et al. die submukosale Turbinoplastik mit und ohne Lateralisation, die Turbinektomie, die submukosale Elektrokaustik, die Laserkaustik und die Kryotherapie verglichen. Die Studie wurde über einen Zeitraum von 6 Jahren geführt. Die besten Langzeitergebnisse des chirurgischen Eingriffs, gemessen an akustischer und anteriorer Rhinomanometrie, mukoziliärem Transport und IgA-Sekretion wurden mit der submukösen Turbinoplastik mit Lateralisation erzielt [116]. In der Studie konnte die Beobachtung nicht reproduziert werden. Mit allen drei chirurgischen Techniken beobachtete man eine nachhaltige Verbesserung der Nasenatmung und eine niedrige Komplikationsrate, was frühere Ergebnisse von Kizilkaya et al. und Prokopakis et al. bestätigt [117, 118]. Kizilkaya et al. verglichen die Radiofrequenzablation und die submuköse Reduktion durch den Mikrobrider miteinander. Mittels subjektiver (visuelle Analogskala) und objektiver (akustische Rhinomanometrie) Messung konnten zwischen den Gruppen 6 Monate nach der Operation keine Unterschiede festgestellt werden. Prokopakis et al. haben an 2983 Patienten die Elektrokaustik, die Radiofrequenztherapie und die Laserkaustik verglichen und zeigten eine anhaltende signifikante Verbesserung der Nasenatmung bis zu einer Nachbeobachtungszeit von einem Jahr

[18]. Die Methoden der alleinigen Weichteilreduktion an den unteren Nasenmuscheln schienen gleichwertig zu sein.

Zur besseren Beurteilung des Anteils der Schwellung der Mukosa wurde die Schleimhautkomponente des nasalen Atemwegwiderstandes bestimmt. Die Differenz des Atemwegwiderstandes in der anterioren Rhinomanometrie vor und nach Abschwellung mit einem Dekongestivum zeigte eine signifikante Abnahme in allen drei Gruppen. Unsere Ergebnisse gleichen sich mit denen von Devresen et al., Grymer et al. und Hilberg et al. [119-121].

Es ist allgemein akzeptiert, dass die Septumplastik und die Nasenmuschelverkleinerung bei Nasenatmungsbehinderung zusammen durchgeführt werden [90, 120, 122]. Wissenschaftliche Daten, die die Septumplastik allein vs. Septumplastik/Nasenmuschelverkleinerung verglichen haben sind selten. Eine Studie aus Dänemark an der 80 Patienten teilnahmen, beschreibt, dass sich die Ergebnisse in der akustischen Rhinomanometrie und im Fragebogen hinsichtlich der Nasenatmungsbehinderung bei einer zusätzlichen Reduktion der unteren Nasenmuscheln verbesserten. Nach 5 Jahren zeigten sich jedoch keine statistischen Unterschiede zwischen den Gruppen mit und ohne Nasenmuschelverkleinerung [122].

Die modifizierte deutsche Version des Fragebogens „Sino-Nasal Outcome Test 20“ zur Messung der verschiedenen Aspekte der Gesundheit, des Wohlbefindens und der gesundheitsbezogenen Lebensqualität wurde zur Beurteilung der subjektiven Beschwerden eingesetzt. Es zeigte sich, dass die Patienten, die eine Laserkaustik erhielten, die geringsten postoperativen Beschwerden hatten. Die Laserkaustik ist auch die am wenigsten invasive Methode. Die Nachhaltigkeit der Ergebnisse nach Laserkaustik werden jedoch häufig in Frage gestellt [123]. Während der sechsmonatigen Nachbeobachtungszeit zeigte sich der beste Effekt drei Monate nach der Operation. Alle Patienten berichteten von einer kontinuierlichen Verbesserung der subjektiven Beschwerden nach der Operation. Limitierend für unsere Studie ist die Nachbeobachtungszeit von nur 6 Monaten.

3.5 “Cartilage tissue engineering of nasal septal chondrocyte-macroaggregates in human demineralized bone matrix“

Die Nasenseptumperforation als Ursache der respiratorischen Funktionsstörung der Nase ist in 2/3 der Fälle auf die Folgen einer Nasenseptumplastik zurückzuführen. Aufgrund unbefriedigender plastisch rekonstruktiver Ergebnisse wird seit Jahrzehnten nach

Gewebeersatz aus dem Tissue Engineering Labor gesucht. Humane demineralisierte Knochenmatrix (DBM) der Spongiosa, die nach Entnahme zur Sterilisation, Dekalzifizierung und Lyophilisierung mit Peressigsäure, Chloroform, Methanol und anderen Substanzen behandelt wurde, wurde als Biomaterial getestet. Die Behandlung mit den genannten Chemikalien kann sich auf die Kultivierung mit nasoseptalen Chondrozyten negativ ausgewirkt haben. Die Makroaggregate der Chondrozyten allein wurden den Makroaggregaten mit DBM gegenübergestellt und das Kulturmedium nach jedem Wechsel mittels Gaschromatografie, Kolorimetrie und pH Test auf toxische Rückstände untersucht. Hier konnten keine Rückstände nachgewiesen werden. Trotzdem kam es in den Makroaggregaten mit DBM zur Apoptose. Das kann an einer zu geringen Oxygenierung und einer unzureichenden Ernährung der Zellen gelegen haben [124]. Zusätzlich zeigte sich eine fehlende Redifferenzierung, welches sich auch in der Dominanz von Kollagen Typ I in der Immunhistochemie widerspiegelte. Das kann auf einen Mangel an Wachstumsfaktoren zurückzuführen sein [125]. Interessant war in diesem Zusammenhang, dass die gemessene Vitalität im Brom-2-desoxy-uridin (BrdU) Test abhängig von der DBM Konzentration und Kultivierungszeit stark schwankte. Während in der Kontrollgruppe ohne DBM die Vitalität der Zellen über 96 Stunden konstant blieb, stieg die Vitalität bei den höchsten DBM Konzentrationen nach 48 Stunden deutlich an und sank 96 Stunden später gegenüber der Kontrollgruppe deutlich ab. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass nicht ausreichend Wachstumsfaktoren im DBM vorhanden waren. Wachstumsfaktoren wie TGF- β , FGF- β , BMP und IGF sind im DBM nachgewiesen worden [126-128]. Dass die Wachstumsfaktoren für ein reines *in vitro* setting mit Chondrozyten nicht ausreichend sein könnten, zeigt auch ein Blick in die Literatur. Wei et al. beschrieben, dass die „*in vivo* microenvironment“ der wichtigste Faktor für die erfolgreiche Gewebekonstruktion ist [129]. Andere Studien beschrieben, dass die Konstrukte im Rahmen von Tierversuchen erfolgreich implantiert und explantiert wurden [130]. In der Literatur findet man aber meist die Nutzung von mesenchymalen Stammzellen zur Besiedlung von DBM. So zeigte eine Arbeit von Huang et al, dass ein Konstrukt mit DBM vom Schaf und Hydrogel die Proliferation und Chondrogenese von mesenchymalen Stammzellen unterstützt [131]. Allerdings wurde hier die DBM keinen Sterilisationsprozessen, wie es bei humaner Anwendung notwendig ist, unterzogen.

Die Großporigkeit des DBM könnte ein weiteres Problem gewesen sein. Wie in einer Arbeit von Rotter et al. beschrieben, sind Integrinrezeptoren der Zellmembran wichtig um mit der EZM Kontakt aufzunehmen. Wenn die Poren allerdings zu groß sind, können die Zell-Matrixkontakte nicht aufrechterhalten werden [132]. In einer unserer jüngeren Arbeiten konnte

am PLLA Konstrukt, welches mittels thermoinduzierter Phasentrennung (TIPS) hergestellt wurde, gezeigt werden, dass die Porengröße eine wichtige Rolle in der Differenzierung der Chondrozyten spielt. Die kleineren Poren mit 100 μm boten eine bessere Zellretention und Adhärenzoberfläche als die größeren Poren mit 200 μm [62].

3.6 “Immortalised human mesenchymal stem cells undergo chondrogenic differentiation in alginate and PGA/PLLA scaffolds“

CD34 negative adulte mesenchymale Stammzellen sind die frühesten Vorläufer der Hämatopoese [133, 134]. Dass sie ein erweitertes Differenzierungspotential gegenüber CD34 positiven Stammzellen besitzen, ist in mehreren Arbeiten beschrieben worden [133, 135]. Aufgrund dieser Eigenschaften war es Ziel der Studie an zwei etablierten humanen adulten mesenchymalen Stammzelllinien V54-2 und L87/4, die zu den fibroblastenähnlichen Vorläuferzellen zählen und CD34 negativ sind, die Differenzierung in Chondrozyten zu induzieren [136, 137]. Die Zelllinie L87/4 stammt aus humanem Knochenmark während die Zelllinie V54-2 aus peripherem Blut gewonnen wurde [138]. Mit Hilfe des SV40 large T-Antigens wurden die Stammzellen geklont und immortalisiert. Diese Zellen konnten dann in letal bestrahlten NOD/SCID-Mäusen erfolgreich hämatopoetisch rekonstituieren und fanden sich unter anderem im Knochenmark, im Gehirn, der Leber, dem Darm und dem Thymus [137]. Die Verwendung des SV40 large T-Antigens ist weit verbreitet um verschiedene Zelltypen in einen transformierten Phänotyp umzuwandeln oder progressive Tumoren in transgenen Tieren zu induzieren [139]. In der vorliegenden Arbeit hat sich gezeigt, dass beide Zelllinien trotz Immortalisation mit dem SV40 large T-Antigen in der Lage sind das knorpelspezifische Kollagen Typ II zu bilden. Die Fähigkeit wurde auch an immortalisierten Chondrozyten nachgewiesen [140, 141]. In unserer Studie wurden die Zelllinien in der 3D Kultur mit Alginat und das Glykolat/Laktat Copolymer kultiviert. Zusätzlich unterschied man zwischen dem Kulturmedium mit TGF β_1 und dem Medium ohne TGF β_1 . Es waren jedoch in der Auswertung keine Unterschiede in der Expression von Kollagen Typ II zu sehen. Zum einen könnte das an der Suppressionswirkung von Kortison im Stammzellmedium gelegen haben oder die Konstrukte selbst hatten einen chondroinduktiven Effekt. Zhang et al. und Manferdini et al. beschrieben eine chondroinduktive Wirkung bei Hydrogelen [142, 143]. Der größte Unterschied zwischen den Konstrukten zeigte sich in der Verteilung der Zellen. Während im Alginat die Zellen homogen verteilt waren, konnten im Glykolat/Laktat Copolymer Zellstränge

dargestellt werden. In beiden Konstrukten waren die Zellen aber vor allem an der Oberfläche angesiedelt. Das wurde auch bereits in anderen Studien an Chondrozyten beobachtet [144, 145]. Limitierend für diese Studie ist, dass hier nur Aussagen auf Ebene der Proteinexpression auf immunhistologischer Ebene gemacht werden konnten. Untersuchungen zur Genexpression fehlen.

3.7. Ausblick

Die nicht pharmakologischen Nasensprays sind frei verkäuflich. Die klinische Wirksamkeit und klinische Sicherheit konnten in der Studie zum thixotropischen Nasenspray nachgewiesen werden. Doch gerade Patienten mit einer Schädigung der nasalen Mukosa und freiliegendem nasoseptalem Knorpel können durch den Gebrauch von liposomalen Nasensprays den Knorpel weiter schädigen und eine Nekrose induzieren, wie die *in vitro* Studie zum Effekt der thixotropischen und liposomalen Nasensprays auf nasoseptale Chondrozyten und Knorpelchips zeigt. Ob der Marktanteil der nicht pharmakologischen Nasensprays steigt und damit Risiken sichtbar werden, ist auch von den Kosten der pharmakologischen Nasensprays abhängig. In einer doppelblind randomisierten Studie aus Italien konnte an 40 Patienten nach Septumplastik mit Muschelverkleinerung nach 3 Wochen eine signifikante Besserung der Lebensqualität (Visuelle Analogskala) und des Endoskopiebefundes (nach Lund und Kennedy) bei Nutzung eines liposomalen Nasensprays mit Vitamin A und E gezeigt werden [146]. Langzeitbeobachtungen sind nicht erfolgt.

Die neue Diagnostik der *Conchae nasales inferiores* mittels NBI Endoskopie hat das Potential den allgemeinen Rhinoskopiescore mittels Weißlicht-Endoskopie um die Gefäßbeschreibung zu erweitern und so eine genauere Beschreibung der Nasenschleimhaut zu ermöglichen. Unterstützt wird diese These auch durch eine aktuelle Arbeit von 2018. Hier wurde gezeigt, dass das Ödem der mittleren Muschel, welches zum Beispiel bei allergischer Rhinitis auftritt mit der NBI Endoskopie mit hoher Sensitivität und Spezifität dargestellt werden kann [147].

Ist bei Nasenmuschelhypertrophie die chirurgische Therapie indiziert, so hat man verschiedene Techniken zur Auswahl. In unserer Studie war die submuköse Turbinoplastik den weichteilreduzierenden Techniken nicht überlegen. Langzeitbeobachtungen müssen hier angeschlossen werden. Neuere Techniken wie die anteriomediale Maxillektomie müssen evaluiert werden um eine Überlegenheit gegenüber den etablierten Methoden zu beweisen [148].

In der fünften vorgestellten Studie wurde das Biomaterial Demineralisierte Knochenmatrix (DBM) untersucht. Die Studie brachte den Nachweis, dass das Konzept von Chondrozyten-Makroaggregaten mit DBM als interessante Methode für das Tissue-Engineering von Knorpel betrachtet werden kann. Aktuell gibt es Studien, die zeigen, dass mesenchymale Stammzellen, erfolgreich in der DBM in Chondrozyten differenzieren können [131]. Untersuchungen an humanem DBM sind in der aktuellen Literaturrecherche nicht zu finden, was auch auf die sehr aufwendigen Sterilisationsprozesse zurückzuführen ist.

In der letzten Studie wurden das Alginat und das Glykolat/Laktat Copolymer als Konstrukte herangezogen um mit TGF β_1 an mesenchymalen immortalisierten Stammzelllinien die Chondrogenese zu induzieren. Aktuelle Studien aus unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass das Copolymer zusammen mit Bioglas sehr gute Voraussetzungen für die chondrogene Differenzierung bietet [74].

4 Zusammenfassung

Die Atmung über die Nase ist der einzig physiologische Atemweg. Dabei ist die Nase Atmungsorgan und Sinnesorgan zugleich. Das Sinnesorgan Nase ist in seinem Riechvermögen von der respiratorischen Funktion abhängig. Die Duftstoffe müssen von ventral und von retronasal das Nasendach erreichen können. In 72 Prozent der Fälle sind sinunasale Erkrankungen für die Riechstörung ursächlich. Die Aufgaben der Nase hinsichtlich der Sprachbildung und der immunologischen Anpassung des Organismus können ebenfalls nur bei ungestörter respiratorischer Funktion wahrgenommen werden.

Die Balance zwischen turbulenter und laminarer Luftströmung in der Nase ist zur Aufrechterhaltung eines physiologischen Atemwegswiderstandes und der ausreichenden Erwärmung, Befeuchtung und Säuberung der Luft erforderlich. Wenn sie durch knöcherne und knorpelige Anomalitäten und/oder pathologische Schleimhautveränderungen der Nase gestört ist, führt es zu einer Einschränkung der respiratorischen Funktion der Nase. Für die chronische Rhinosinusitis, das Asthma bronchiale und das obstruktive Schlafapnoesyndrom ist in Übersichtsarbeiten und bevölkerungsbasierten Studien die Einschränkung der respiratorischen Funktion der Nase als bedeutende assoziierte Erkrankung nachgewiesen worden [6, 7, 12, 13]. Bei einer Prävalenz der chronischen Rhinosinusitis von 10,9%, einer Prävalenz des Asthma bronchiale von 6,3% und einer Prävalenz des obstruktiven Schlafapnoesyndroms von 2 bis 4 % der Erwachsenen im Alter von 30 bis 60 Jahren hat die eingeschränkte respiratorische Funktion der Nase eine große medizinische als auch gesundheitsökonomische Bedeutung. Die Analyse der klinischen und experimentellen Diagnostik- und Therapieverfahren bei eingeschränkter respiratorischer Funktion der Nase spielt damit eine vordringliche Rolle. In dieser Arbeit wurden ausgewählte klinische und experimentelle Diagnostik und Therapieverfahren der häufigsten Ursachen der eingeschränkten respiratorischen Funktion wie allergische Rhinitis, Hypertrophie der *Conchae nasales inferiores* und Nasenseptumperforation vorgestellt.

In der ersten Studie wurde die Therapie der allergischen Rhinitis mit einer Lebenszeitprävalenz von 25 bis 30 % als häufigste Ursache der nasalen Obstruktion mit nicht pharmakologischem Nasenspray in einer randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudie untersucht. 20 Probanden, die an allergischer Rhinitis aufgrund von Hausstaubmilbenallergie litten, erhielten vor der Allergenbelastung eine einzelne Dosis von Prevalin, einem thixotropisch wirksamen Nasenspray oder Kochsalz als Plazebo. Der Nasen-Symptom-Score (TNSS) und der Augen-Symptom-Score (TOSS) wurden 15, 30, 60, 75, 90, 120 und 240 Minuten nach der Belastung

bewertet. Zusätzlich ist der Rhinoskopie Score (Schwellung, Rötung, Sekretion) bestimmt worden. Die einmalige Behandlung mit Prevalin führte im Vergleich zum Placebo zu einer signifikanten Reduktion des TNSS Scores nach 60, 75 und 90 Minuten und einer geringeren Änderung des Rhinoskopie Scores nach Hausstaubmilbenallergenexposition. Nebenwirkungen wurden nicht beobachtet.

Die Sicherheit von nicht pharmakologischen Nasensprays wurde in der zweiten Studie untersucht. Neben dem thixotropischen Nasenspray wurde auch ein liposomales Nasenspray hinsichtlich seiner Toxizität bei freiliegendem Nasenknorpel getestet.

Die Sicherheit der nicht pharmakologischen Medikamente hinsichtlich einer Knorpelnekrose wurde *in vitro* getestet. Den humanen und porcinen Zell – bzw. Explantatkulturen wurden 300 µl Nasenspray in einer Verdünnung von 1:5 hinzugesetzt und mit den Kontrollgruppen verglichen. Es sind die Zellvitalität und das Gen- und Proteinexpressionsprofil der Proben mit unbehandelten Kontrollen mittels RTD-PCR und Immunmarkierung verglichen worden. Die Supplementierung des liposomalen Nasensprays führte in der Explantat- und Chondrozyten-*in vitro*-Kultur im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen zu einem vermehrten Zelltod. Die Protein-Expressionsanalyse zeigte im Vergleich zu den Kontrollen einen Trend zur Inhibition von Kollagen Typ II und SOX9 durch das liposomale Nasenspray. Bei Zugabe des thixotropen Nasensprays zeigten sich keine Änderungen im Gen- und Proteinexpressionsprofil gegenüber der Kontrolle.

In der dritten vorgestellten Studie wurde die Anwendung der Narrow Band Imaging Endoskopie zur Beurteilung der *Conchae nasales inferior* auf ihren Mehrwert gegenüber der Weißlichtendoskopie untersucht.

Im Rahmen einer randomisierten dreiarmligen prospektiven Studie wurden 109 Patienten mit vergrößerten Nasenmuscheln rekrutiert um die Anwendung von Narrow Band Imaging (NBI) in der Endoskopie zu evaluieren. Alle Probanden wurden vor der operativen Verkleinerung der Nasenmuscheln und mehrzeitig nach dem Eingriff untersucht. Während der Visiten wurden Weißlicht-Endoskopie, NBI-Endoskopie und die vordere Rhinomanometrie durchgeführt. Darüber hinaus berichteten alle Probanden über den Grad der subjektiven Nasenobstruktion. In der Weißlicht-Endoskopie und in der NBI wurden weniger Blutgefäße auf der Mukosa der

Conchae nasales inferior dargestellt. Die NBI-Endoskopie identifizierte signifikant mehr Blutgefäße als die Weißlicht-Endoskopie.

In der vierten vorgestellten Studie wurden operative Möglichkeiten der Verkleinerung der *Conchae nasales inferior* bei medikamentös nicht behandelbarer Hypertrophie evaluiert.

Die Zahl von deutschlandweit mehr als 16000 operativen Verkleinerungen der *Conchae nasales inferior* bei Hypertrophie der *Conchae nasales inferior* zeigt ihre gesundheitsökonomische Bedeutung. Der Vergleich der OP Techniken zur Verkleinerung der *Conchae nasales inferiores* bei Nasenmuschelhypertrophie hinsichtlich der objektiven Befundänderung und subjektiven Beschwerden erfolgte ebenfalls im Rahmen der randomisierten dreiarmligen prospektiven Studie. Die Probanden wurden zufällig einer von drei Interventionsgruppen zugeordnet: 1) Submuköse Turbinoplastik mit Lateralisation, 2) Submuköse Elektrokaustik, 3) Laserkaustik. Alle Gruppen sind bis zu 6 Monate nach dem chirurgischen Eingriff nachbeobachtet worden. Während der vier Visiten wurden die Ergebnisse mit der modifizierten deutschen Version des Fragebogens „Sino-Nasal Outcome Test 20“ gemessen. Zusätzlich wurden die Nasenatemwegswiderstände, die absoluten Nasenströmungsraten und die jeweilige Schleimhautkomponente des Atemwegswiderstandes durch die anteriore Rhinomanometrie bestimmt. Nach der Operation nahmen die subjektive und objektive Nasenobstruktion sowie der Anteil der Schleimhautschwellung des Atemwegswiderstandes in allen drei Gruppen signifikant ab. Darüber hinaus verbesserten sich die subjektiven Symptome, die mit dem modifizierten SNOT 20 gemessen wurden ebenfalls signifikant, wobei es zwischen den Gruppen hinsichtlich der subjektiven Nasenatmungsbehinderung, des Ohrdrucks, des Nasenschmerzes, der Tagesmüdigkeit, des Hustens und des trockenen Mundes Unterschiede in den einzelnen Visiten gab.

Neben den physiologisch arbeitenden *Conchae nasales inferior* spielt auch das unversehrte und kaum deviierte Nasenseptum eine wichtige Rolle für die physiologische Nasenatmung. Die Folgen einer Septumperforation, die in 2/3 der Fälle durch eine vorausgegangene Septumplastik entstanden ist, sind neben der gestörten Nasenatmung auch Formveränderungen der äußeren Nase.

Verletzter Knorpel weist eine äußerst geringe Heilungsfähigkeit auf, da die enthaltenen Chondrozyten ihre Teilungsfähigkeit im ausgereiften Gewebe verloren haben. Aufgrund der unbefriedigenden Ergebnisse in der plastisch- rekonstruktiven Therapie wird seit Jahrzehnten der Wiederaufbau des Knorpel- und Knochengerüsts durch regenerative Therapien angestrebt. Die fünfte Studie untersuchte dazu die humane demineralisierte Knochenmatrix (DBM) als Biomaterial für den Knorpelersatz.

Das DBM ist aufgrund ihrer biomechanischen Stabilität für die Anwendung in biomechanisch belasteten Regionen attraktiv. In der vorliegenden Studie wurde zum ersten Mal die Methode der Besiedelung von Chondrozyten-Makroaggregaten in DBM zum Zwecke des Knorpelgewebesystems kombiniert. Nach Isolierung humaner nasoseptaler Chondrozyten und der Bildung einer dreidimensionalen Makroaggregatanordnung wurde DBM 14 Tage lang *in vitro* mit den Makroaggregaten kultiviert. Die Interaktion der Zellen innerhalb des DBM wurde im Hinblick auf die Zelldifferenzierung und die Wirkungen auf die Chondrozytenproliferation analysiert. In den Zell-DBM-Konstrukten dominierte bei den morphologisch veränderten Zellen die Expression von Kollagen Typ I im Vergleich zu den Makroaggregaten ohne DBM. Expression von Kollagen Typ II konnte nur in geringen Mengen in den Zell-DBM-Konstrukten dargestellt werden. Darüber hinaus konnte in einigen Zellen der Chondrozyten-DBM-Konstrukte Caspase III, ein Marker für Apoptose, nachgewiesen werden. Die Freisetzung toxischer Agenzien aus der DBM als Ursache für die Apoptose wurde nicht beobachtet. Zusammenfassend liefert diese Studie den Nachweis, dass das Konzept von Chondrozyten-Makroaggregaten mit DBM als interessante Methode für das Tissue-Engineering von Knorpel betrachtet werden kann. Die derzeit unzureichende Redifferenzierung der Chondrozyten und der sporadische Beginn der Apoptose machen jedoch weitere Untersuchungen mit humaner DBM erforderlich.

Die Nutzung von Stammzellen hat die Möglichkeiten der regenerativen Medizin deutlich erweitert. Mesenchymale Stammzellen (MSCs) sind in verschiedenen Geweben zu finden, haben die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und sind in der Lage zu proliferieren. Somit sind sie in der Lage sich in Chondrozyten zu differenzieren und können zur Herstellung eines Knorpelersatzes herangezogen werden. Das wurde auch in unserer letzten vorgestellten Studie getan.

Mesenchymale Stammzellen können mittels Kulturmedium, welchem TGF β ₁ zugesetzt wird und durch verschiedene Biomaterialien zur chondrogenen Differenzierung angeregt werden.

Die Fragestellung der Studie war es, ob die zwei etablierte humane Stammzelllinien L87/4 und V54-2, die mit dem SV40 large T- Antigen immortalisiert wurden eine chondrogene Differenzierung durchlaufen können, wenn sie in Alginat oder in Polyglycolsäure/Poly-L-Milchsäure (PGA/PLLA) (90/10) Copolymergerüsten kultiviert werden. Als Kontrolle dienten humane nasoseptale Chondrozyten und humane Fibroblasten. Die Kulturen sind nach 21 Tagen auf sulfatierte Glycosaminoglykane und auf Expression von Kollagen Typ I, II und X geprüft worden. Es zeigte sich, dass SV40 large T-Antigen-immortalisierte humane MSCs chondrogen differenziert werden können. Nach 21 Tagen war knorpelspezifisches Kollagen Typ II in Alginat- und PGA / PLLA-Gerüsten nachweisbar.

Die Nasenatmungsbehinderung hat Auswirkungen auf das Riech- und Reflexorgan Nase und die signifikante Assoziation mit Erkrankungen der Atemwege und des Herz- Kreislaufsystems zeigt, dass ihre Diagnostik und Therapie erforderlich sind. Diagnostikmöglichkeiten und Therapien sind mannigfaltig aber noch nicht zufriedenstellend. Sie unterliegen der ständigen Weiterentwicklung, Evaluierung und evidenzbasierte Kontrollen der klinischen und experimentellen Methoden sind dabei unentbehrlich.

5 Literaturübersicht

- 1 Becker W, Naumann HH, Pfaltz CR. *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kurzgefaßtes Lehrbuch mit Atlasteil, Differentialdiagnostische Tabellen - Prüfungsfragen - GK-Schlüssel* Stuttgart: Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York; 1983.
- 2 Hummel T, Huttenbrink KB. [Olfactory dysfunction due to nasal sinus disease. Causes, consequences, epidemiology, and therapy]. *HNO* 2005;53 Suppl 1:S26-32.
- 3 Mlynski G, Grutzenmacher S, Plontke S, Mlynski B, Lang C. Correlation of nasal morphology and respiratory function. *Rhinology* 2001;39(4):197-201.
- 4 Denecke H-J, Ey W. *Die Operationen an der Nase und im Nasopharynx*. BerlinHeidelbergNew YorkTokyo Springer-Verlag; 1984.
- 5 Mlynski G, Beule A. [Diagnostic methods of nasal respiratory function]. *HNO* 2008;56(1):81-99.
- 6 Han JK, Stringer SP, Rosenfeld RM, et al. Clinical Consensus Statement: Septoplasty with or without Inferior Turbinate Reduction. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2015;153(5):708-20.
- 7 Orlandi RR. A systematic analysis of septal deviation associated with rhinosinusitis. *Laryngoscope* 2010;120(8):1687-95.
- 8 Jarvis D, Newson R, Lotvall J, et al. Asthma in adults and its association with chronic rhinosinusitis: the GA2LEN survey in Europe. *Allergy* 2012;67(1):91-8.
- 9 DeConde AS, Soler ZM. Chronic rhinosinusitis: Epidemiology and burden of disease. *American journal of rhinology & allergy* 2016;30(2):134-9.
- 10 Bayiz U, Dursun E, Islam A, et al. Is septoplasty alone adequate for the treatment of chronic rhinosinusitis with septal deviation? *Am J Rhinol* 2005;19(6):612-6.
- 11 Buhl R, Bals R, Baur X, et al. [Guideline for the Diagnosis and Treatment of Asthma - Guideline of the German Respiratory Society and the German Atemwegsliga in Cooperation with the Paediatric Respiratory Society and the Austrian Society of Pneumology]. *Pneumologie* 2017;71(12):e3.
- 12 Ahn JC, Lee WH, We J, Rhee CS, Lee C, Kim JW. Nasal septal deviation with obstructive symptoms: Association found with asthma but not with other general health problems. *American journal of rhinology & allergy* 2016;30(2):e17-20.
- 13 El-Anwar MW, Amer HS, Askar SM, Elsobki A, Awad A. Could Nasal Surgery Affect Multilevel Surgery Results for Obstructive Sleep Apnea? *J. Craniofac. Surg.* 2018;29(7):1897-9.
- 14 Gerlach M, Sanner B. [Guidelines in Practice: The New S3 Guideline "Sleeping Disorders - Sleep-Related Abnormal Breathing"]. *Pneumologie* 2017;71(8):508-13.
- 15 Rudmik L, Smith TL. Quality of life in patients with chronic rhinosinusitis. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2011;11(3):247-52.
- 16 Alt JA, Smith TL. Chronic rhinosinusitis and sleep: a contemporary review. *Int Forum Allergy Rhinol* 2013;3(11):941-9.
- 17 Tsang CLN, Nguyen T, Sivesind T, Cervin A. Long-term patient-related outcome measures of septoplasty: a systematic review. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies* 2018;275(5):1039-48.

- 18 Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, et al. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy* 2008;63 Suppl 86:8-160.
- 19 Shedden A. Impact of nasal congestion on quality of life and work productivity in allergic rhinitis: findings from a large online survey. *Treat. Respir. Med.* 2005;4(6):439-46.
- 20 Pfaar O, Bachert C, Bufe A, et al. Guideline on allergen-specific immunotherapy in IgE-mediated allergic diseases: S2k Guideline of the German Society for Allergology and Clinical Immunology (DGAKI), the Society for Pediatric Allergy and Environmental Medicine (GPA), the Medical Association of German Allergologists (AeDA), the Austrian Society for Allergy and Immunology (OGAI), the Swiss Society for Allergy and Immunology (SGAI), the German Society of Dermatology (DDG), the German Society of Oto- Rhino-Laryngology, Head and Neck Surgery (DGHNO-KHC), the German Society of Pediatrics and Adolescent Medicine (DGKJ), the Society for Pediatric Pneumology (GPP), the German Respiratory Society (DGP), the German Association of ENT Surgeons (BV-HNO), the Professional Federation of Paediatricians and Youth Doctors (BVKJ), the Federal Association of Pulmonologists (BDP) and the German Dermatologists Association (BVDD). *Allergo J Int* 2014;23(8):282-319.
- 21 Didier A, Malling HJ, Worm M, et al. Optimal dose, efficacy, and safety of once-daily sublingual immunotherapy with a 5-grass pollen tablet for seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120(6):1338-45.
- 22 Drachenberg KJ, Wheeler AW, Stuebner P, Horak F. A well-tolerated grass pollen-specific allergy vaccine containing a novel adjuvant, monophosphoryl lipid A, reduces allergic symptoms after only four preseasonal injections. *Allergy* 2001;56(6):498-505.
- 23 Klimek L, Uhlig J, Mosges R, Rettig K, Pfaar O. A high polymerized grass pollen extract is efficacious and safe in a randomized double-blind, placebo-controlled study using a novel up-dosing cluster-protocol. *Allergy* 2014;69(12):1629-38.
- 24 Blaiss M, Maloney J, Nolte H, Gawchik S, Yao R, Skoner DP. Efficacy and safety of timothy grass allergy immunotherapy tablets in North American children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 2011;127(1):64-71, e1-4.
- 25 Meltzer E, Ratner P, Bachert C, et al. Clinically relevant effect of a new intranasal therapy (MP29-02) in allergic rhinitis assessed by responder analysis. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2013;161(4):369-77.
- 26 Boenninghaus H-G, Lenarz T. *Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde für Studierende der Medizin*. Berlin Heidelberg New York Springer-Verlag; 2000.
- 27 http://www.gbe-bund.de/oowa921-install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=3&p_aid=52370721&nummer=666&p_sprache=D&p_indsp=-&p_aid=65952157.
abgelesen am 21.02.2019. In; 2017.
- 28 Rohrich RJ, Krueger JK, Adams WP, Jr., Marple BF. Rationale for submucous resection of hypertrophied inferior turbinates in rhinoplasty: an evolution. *Plast Reconstr Surg* 2001;108(2):536-44; discussion 45-6.
- 29 Batra PS. The role of endoscopy in the allergist's office. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2006;6(3):228-31.
- 30 Min YG, Jung HW, Kim CS. Prevalence study of nasal septal deformities in Korea: results of a nation-wide survey. *Rhinology* 1995;33(2):61-5.
- 31 Graf P, Juto JE. Sustained use of xylometazoline nasal spray shortens the decongestive response and induces rebound swelling. *Rhinology* 1995;33(1):14-7.

- 32 Rotter N. Evidence and evidence gaps in therapies of nasal obstruction and rhinosinusitis. *GMS Curr Top Otorhinolaryngol Head Neck Surg* 2016;15:Doc06.
- 33 Archer CW, Francis-West P. The chondrocyte. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2003;35(4):401-4.
- 34 Lin Z, Willers C, Xu J, Zheng MH. The chondrocyte: biology and clinical application. *Tissue Eng.* 2006;12(7):1971-84.
- 35 Takahashi R. The evolution of the nasal septum and the formation of septal deformity. *Rhinol. Suppl.* 1988;6:1-23.
- 36 van Egmond M, Rovers MM, Tillema AHJ, van Neerbeek N. Septoplasty for nasal obstruction due to a deviated nasal septum in adults: a systematic review. *Rhinology* 2018;56(3):195-208.
- 37 Oberg D, Akerlund A, Johansson L, Bende M. Prevalence of nasal septal perforation: the Skovde population-based study. *Rhinology* 2003;41(2):72-5.
- 38 Pereira C, Santamaria A, Langdon C, Lopez-Chacon M, Hernandez-Rodriguez J, Alobid I. Nasoseptal Perforation: from Etiology to Treatment. *Curr. Allergy Asthma Rep.* 2018;18(1):5.
- 39 Stange T, Schultz-Coulon HJ. [Closure of nasoseptal defects in Germany: the current state of the art]. *Laryngorhinootologie* 2010;89(3):157-61.
- 40 Taylor RJ, Sherris DA. Prosthetics for nasal perforations: a systematic review and meta-analysis. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2015;152(5):803-10.
- 41 Henry SP, Liang S, Akdemir KC, de Crombrughe B. The postnatal role of Sox9 in cartilage. *J. Bone Miner. Res.* 2012;27(12):2511-25.
- 42 Martinek V, Ueblacker P, Imhoff AB. Current concepts of gene therapy and cartilage repair. *J. Bone Joint Surg. Br.* 2003;85(6):782-8.
- 43 Zaucke F, Dinser R, Maurer P, Paulsson M. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) and collagen IX are sensitive markers for the differentiation state of articular primary chondrocytes. *Biochem. J.* 2001;358(Pt 1):17-24.
- 44 Studer D, Millan C, Ozturk E, Maniura-Weber K, Zenobi-Wong M. Molecular and biophysical mechanisms regulating hypertrophic differentiation in chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Eur Cell Mater* 2012;24:118-35; discussion 35.
- 45 Schulze-Tanzil G. Activation and dedifferentiation of chondrocytes: implications in cartilage injury and repair. *Ann Anat* 2009;191(4):325-38.
- 46 Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965;150(3698):893-9.
- 47 Tilkeridis K, Touzopoulos P, Ververidis A, Christodoulou S, Kazakos K, Drosos GI. Use of demineralized bone matrix in spinal fusion. *World J Orthop* 2014;5(1):30-7.
- 48 Rajaei SS, Bae HW, Kanim LE, Delamarter RB. Spinal fusion in the United States: analysis of trends from 1998 to 2008. *Spine (Phila Pa 1976)* 2012;37(1):67-76.
- 49 Roberts TT, Rosenbaum AJ. Bone grafts, bone substitutes and orthobiologics: the bridge between basic science and clinical advancements in fracture healing. *Organogenesis* 2012;8(4):114-24.
- 50 Hanes PJ. Bone replacement grafts for the treatment of periodontal intrabony defects. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. North Am.* 2007;19(4):499-512, vi.
- 51 Jang YS, Choi CH, Cho YB, Kang MK, Jang CH. Recombinant human BMP-2 enhances osteogenesis of demineralized bone matrix in experimental mastoid obliteration. *Acta otolaryngologica* 2014;134(8):785-90.

- 52 Pirsig W, Bean JK, Lenders H, Verwoerd CD, Verwoerd-Verhoef HL. Cartilage transformation in a composite graft of demineralized bovine bone matrix and ear perichondrium used in a child for the reconstruction of the nasal septum. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 1995;32(2):171-81.
- 53 Liese J, Marzahn U, El Sayed K, Pruss A, Haisch A, Stoelzel K. Cartilage tissue engineering of nasal septal chondrocyte-macroaggregates in human demineralized bone matrix. *Cell Tissue Bank* 2013;14(2):255-66.
- 54 Hutmacher DW, Goh JC, Teoh SH. An introduction to biodegradable materials for tissue engineering applications. *Ann. Acad. Med. Singapore* 2001;30(2):183-91.
- 55 Barroca N, Daniel-da-Silva AL, Vilarinho PM, Fernandes MH. Tailoring the morphology of high molecular weight PLLA scaffolds through bioglass addition. *Acta biomaterialia* 2010;6(9):3611-20.
- 56 Chen S, He Z, Xu G, Xiao X. Fabrication and characterization of modified nanofibrous poly(L-lactic acid) scaffolds by thermally induced phase separation technique and aminolysis for promoting cytocompatibility. *Journal of biomaterials science. Polymer edition* 2016:1-21.
- 57 Ma H, Xue L. Carbon nanotubes reinforced poly(L-lactide) scaffolds fabricated by thermally induced phase separation. *Nanotechnology* 2015;26(2):025701.
- 58 Li Z, Liu P, Yang T, et al. Composite poly(l-lactic-acid)/silk fibroin scaffold prepared by electrospinning promotes chondrogenesis for cartilage tissue engineering. *Journal of biomaterials applications* 2016;30(10):1552-65.
- 59 Torricelli P, Gioffre M, Fiorani A, et al. Co-electrospun gelatin-poly(L-lactic acid) scaffolds: modulation of mechanical properties and chondrocyte response as a function of composition. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications* 2014;36:130-8.
- 60 Park JE, Todo M. Development and characterization of reinforced poly(L-lactide) scaffolds for bone tissue engineering. *Journal of materials science. Materials in medicine* 2011;22(5):1171-82.
- 61 Wu G, Wu W, Zheng Q, Li J, Zhou J, Hu Z. Experimental study of PLLA/INH slow release implant fabricated by three dimensional printing technique and drug release characteristics in vitro. *Biomedical engineering online* 2014;13:97.
- 62 Conoscenti G, Schneider T, Stoelzel K, et al. PLLA scaffolds produced by thermally induced phase separation (TIPS) allow human chondrocyte growth and extracellular matrix formation dependent on pore size. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2017;80:449-59.
- 63 Schaefer DJ, Klemt C, Zhang XH, Stark GB. [Tissue engineering with mesenchymal stem cells for cartilage and bone regeneration]. *Chirurg* 2000;71(9):1001-8.
- 64 Sittering M, Bujia J, Minuth WW, Hammer C, Burmester GR. Engineering of cartilage tissue using bioresorbable polymer carriers in perfusion culture. *Biomaterials* 1994;15(6):451-6.
- 65 Sittering M, Reitzel D, Dauner M, et al. Resorbable polyesters in cartilage engineering: affinity and biocompatibility of polymer fiber structures to chondrocytes. *J. Biomed. Mater. Res.* 1996;33(2):57-63.
- 66 Rotter N, Aigner J, Naumann A, et al. Cartilage reconstruction in head and neck surgery: comparison of resorbable polymer scaffolds for tissue engineering of human septal cartilage. *J. Biomed. Mater. Res.* 1998;42(3):347-56.

- 67 Stolzel K, Schulze-Tanzil G, Olze H, Schwarz S, Feldmann EM, Rotter N. Immortalised human mesenchymal stem cells undergo chondrogenic differentiation in alginate and PGA/PLLA scaffolds. *Cell Tissue Bank* 2015;16(1):159-70.
- 68 Domm C, Schunke M, Christesen K, Kurz B. Redifferentiation of dedifferentiated bovine articular chondrocytes in alginate culture under low oxygen tension. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10(1):13-22.
- 69 Marijnissen WJ, van Osch GJ, Aigner J, Verwoerd-Verhoef HL, Verhaar JA. Tissue-engineered cartilage using serially passaged articular chondrocytes. Chondrocytes in alginate, combined in vivo with a synthetic (E210) or biologic biodegradable carrier (DBM). *Biomaterials* 2000;21(6):571-80.
- 70 Awad HA, Wickham MQ, Leddy HA, Gimble JM, Guilak F. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate, and gelatin scaffolds. *Biomaterials* 2004;25(16):3211-22.
- 71 Steinert A, Weber M, Dimmler A, et al. Chondrogenic differentiation of mesenchymal progenitor cells encapsulated in ultrahigh-viscosity alginate. *J. Orthop. Res.* 2003;21(6):1090-7.
- 72 Gabbai-Armelin PR, Souza MT, Kido HW, et al. Characterization and biocompatibility of a fibrous glassy scaffold. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2017;11(4):1141-51.
- 73 Zhou M, Yu D. Cartilage tissue engineering using PHBV and PHBV/Bioglass scaffolds. *Mol Med Rep* 2014;10(1):508-14.
- 74 Conoscenti G, Carfi Pavia F, Ongaro A, et al. Human nasoseptal chondrocytes maintain their differentiated phenotype on PLLA scaffolds produced by thermally induced phase separation and supplemented with bioactive glass 1393. *Connect. Tissue Res.* 2019;60(4):344-57.
- 75 Yunos DM, Ahmad Z, Salih V, Boccaccini AR. Stratified scaffolds for osteochondral tissue engineering applications: electrospun PDLLA nanofibre coated Bioglass(R)-derived foams. *J. Biomater. Appl.* 2013;27(5):537-51.
- 76 Helen W, Gough JE. Cell viability, proliferation and extracellular matrix production of human annulus fibrosus cells cultured within PDLLA/Bioglass composite foam scaffolds in vitro. *Acta Biomater* 2008;4(2):230-43.
- 77 Boccaccini AR, Notingher I, Maquet V, Jerome R. Bioresorbable and bioactive composite materials based on polylactide foams filled with and coated by Bioglass particles for tissue engineering applications. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2003;14(5):443-50.
- 78 Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J. Orthop. Res.* 1991;9(5):641-50.
- 79 Yu DA, Han J, Kim BS. Stimulation of chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Int J Stem Cells* 2012;5(1):16-22.
- 80 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284(5411):143-7.
- 81 Suva D, Garavaglia G, Menetrey J, et al. Non-hematopoietic human bone marrow contains long-lasting, pluripotential mesenchymal stem cells. *J. Cell. Physiol.* 2004;198(1):110-8.
- 82 Verfaillie CM. Adult stem cells: assessing the case for pluripotency. *Trends Cell Biol.* 2002;12(11):502-8.
- 83 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418(6893):41-9.

- 84 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8(4):315-7.
- 85 Orbay H, Tobita M, Mizuno H. Mesenchymal stem cells isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications. *Stem Cells Int* 2012;2012:461718.
- 86 Via AG, Frizziero A, Oliva F. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources. *Muscles Ligaments Tendons J* 2012;2(3):154-62.
- 87 Pak J, Lee JH, Kartolo WA, Lee SH. Cartilage Regeneration in Human with Adipose Tissue-Derived Stem Cells: Current Status in Clinical Implications. *Biomed Res Int* 2016;2016:4702674.
- 88 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng.* 2001;7(2):211-28.
- 89 Zhang Y, Guo W, Wang M, et al. Co-culture systems-based strategies for articular cartilage tissue engineering. *J. Cell. Physiol.* 2018;233(3):1940-51.
- 90 Balcerzak J, Lukawska I, Grzanka A, Niemczyk K. [Comparative analysis of the treatment results of the nasal obstruction using septoplasty and septokonchoplasty]. *Otolaryngol Pol* 2014;68(3):129-34.
- 91 Stoelzel K, Bothe G, Chong PW, Lenarz M. Safety and efficacy of Nasya/Prevalin in reducing symptoms of allergic rhinitis. *Clin. Respir. J.* 2013.
- 92 Ibrahim HK, Abdel Malak NS, Abdel Halim SA. Formulation of Convenient, Easily Scalable, and Efficient Granisetron HCl Intranasal Droppable Gels. *Mol. Pharm.* 2015;12(6):2019-25.
- 93 Chaisri U, Tungtrongchitr A, Indrawattana N, et al. Immunotherapeutic efficacy of liposome-encapsulated refined allergen vaccines against *Dermatophagoides pteronyssinus* allergy. *PLoS One* 2017;12(11):e0188627.
- 94 Mura P, Mennini N, Nativi C, Richichi B. In situ mucoadhesive-thermosensitive liposomal gel as a novel vehicle for nasal extended delivery of opiorphin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2018;122:54-61.
- 95 Bohm M, Avgitidou G, El Hassan E, Mosges R. Liposomes: a new non-pharmacological therapy concept for seasonal-allergic-rhinoconjunctivitis. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies* 2012;269(2):495-502.
- 96 Uzzaman A, Story R. Chapter 5: Allergic rhinitis. *Allergy Asthma Proc.* 2012;33 Suppl 1:S15-8.
- 97 Gold EB, Eskenazi B, Hammond SK, et al. Prospectively assessed menstrual cycle characteristics in female wafer-fabrication and nonfabrication semiconductor employees. *Am. J. Ind. Med.* 1995;28(6):799-815.
- 98 Loh CH, Shih TS, Liou SH, et al. Haematological effects among silk screening workers exposed to 2-ethoxy ethyl acetate. *Occup. Environ. Med.* 2003;60(9):E7.
- 99 Regulska M, Pomierny B, Basta-Kaim A, et al. Effects of ethylene glycol ethers on cell viability in the human neuroblastoma SH-SY5Y cell line. *Pharmacol. Rep.* 2010;62(6):1243-9.
- 100 Vllasaliu D, Shubber S, Fowler R, Garnett M, Alexander C, Stolnik S. Epithelial toxicity of alkylglycoside surfactants. *J. Pharm. Sci.* 2013;102(1):114-25.
- 101 Ho CY, Wu MC, Lan MY, Tan CT, Yang AH. In vitro effects of preservatives in nasal sprays on human nasal epithelial cells. *Am J Rhinol* 2008;22(2):125-9.

- 102 Jullaphant T, Nakpeng T, Srichana T. Montelukast nasal spray: formulation development and in vitro evaluation. *Pharm. Dev. Technol.* 2018;1-10.
- 103 Farmer SE, Eccles R. Chronic inferior turbinate enlargement and the implications for surgical intervention. *Rhinology* 2006;44(4):234-8.
- 104 Berger G, Gass S, Ophir D. The histopathology of the hypertrophic inferior turbinate. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 2006;132(6):588-94.
- 105 Talaat M, el-Sabawy E, Baky FA, Raheem AA. Submucous diathermy of the inferior turbinates in chronic hypertrophic rhinitis. *The Journal of laryngology and otology* 1987;101(5):452-60.
- 106 Yoshida T, Inoue H, Usui S, Satodate H, Fukami N, Kudo SE. Narrow-band imaging system with magnifying endoscopy for superficial esophageal lesions. *Gastrointest Endosc* 2004;59(2):288-95.
- 107 Louie JS, Richards-Kortum R, Anandasabapathy S. Applications and Advancements in the Use of High-resolution Microendoscopy for Detection of Gastrointestinal Neoplasia. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2014;12(11):1789-92.
- 108 Hanna WC, Yasufuku K. Bronchoscopic staging of lung cancer. *Ther Adv Respir Dis* 2013;7(2):111-8.
- 109 Vu AN, Farah CS. Efficacy of narrow band imaging for detection and surveillance of potentially malignant and malignant lesions in the oral cavity and oropharynx: a systematic review. *Oral Oncol* 2014;50(5):413-20.
- 110 Vergez S, Moriniere S, Dubrulle F, et al. Initial staging of squamous cell carcinoma of the oral cavity, larynx and pharynx (excluding nasopharynx). Part I: Locoregional extension assessment: 2012 SFORL guidelines. *Eur. Ann. Otorhinolaryngol. Head Neck Dis.* 2013;130(1):39-45.
- 111 Petersen KB, Kjaergaard T. Role of narrow band imaging in the diagnostics of sinonasal pathology. *BMJ Case Rep.* 2017;2017.
- 112 Hofer M, Dacho A, Dietz A. [Surgery of the nose and paranasal sinuses]. *Laryngorhinootologie* 2016;95(1):51-65; quiz 6-7.
- 113 Mlynski G. [Impaired function of the upper respiratory tract. Restorative procedures for upper airway dysfunction, nasal breathing]. *Laryngorhinootologie* 2005;84 Suppl 1:S101-17.
- 114 Egeli E, Demirci L, Yazycy B, Harputluoglu U. Evaluation of the inferior turbinate in patients with deviated nasal septum by using computed tomography. *Laryngoscope* 2004;114(1):113-7.
- 115 Salzano FA, Mora R, Dellepiane M, et al. Radiofrequency, high-frequency, and electrocautery treatments vs partial inferior turbinotomy: microscopic and macroscopic effects on nasal mucosa. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 2009;135(8):752-8.
- 116 Passali D, Passali FM, Damiani V, Passali GC, Bellussi L. Treatment of inferior turbinate hypertrophy: a randomized clinical trial. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2003;112(8):683-8.
- 117 Kizilkaya Z, Ceylan K, Emir H, et al. Comparison of radiofrequency tissue volume reduction and submucosal resection with microdebrider in inferior turbinate hypertrophy. *Otolaryngology--head and neck surgery : official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery* 2008;138(2):176-81.
- 118 Prokopakis EP, Koudounarakis EI, Velegrakis GA. Efficacy of inferior turbinoplasty with the use of CO(2) laser, radiofrequency, and electrocautery. *American journal of rhinology & allergy* 2014;28(3):269-72.

- 119 Devseren NO, Ecevit MC, Erdag TK, Ceryan K. A randomized clinical study: outcome of submucous resection of compensatory inferior turbinate during septoplasty. *Rhinology* 2011;49(1):53-7.
- 120 Grymer LF, Illum P, Hilberg O. Septoplasty and compensatory inferior turbinate hypertrophy: a randomized study evaluated by acoustic rhinometry. *The Journal of laryngology and otology* 1993;107(5):413-7.
- 121 Hilberg O, Grymer LF, Pedersen OF, Elbrond O. Turbinate hypertrophy. Evaluation of the nasal cavity by acoustic rhinometry. *Archives of otolaryngology--head & neck surgery* 1990;116(3):283-9.
- 122 Illum P. Septoplasty and compensatory inferior turbinate hypertrophy: long-term results after randomized turbinoplasty. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies* 1997;254 Suppl 1:S89-92.
- 123 Sapci T, Sahin B, Karavus A, Akbulut UG. Comparison of the effects of radiofrequency tissue ablation, CO2 laser ablation, and partial turbinectomy applications on nasal mucociliary functions. *Laryngoscope* 2003;113(3):514-9.
- 124 Jackel MC. [Genetic control of programmed cell death (apoptosis). Prospects for biological tumor staging?]. *HNO* 1998;46(6):614-25.
- 125 Martin I, Suetterlin R, Baschong W, Heberer M, Vunjak-Novakovic G, Freed LE. Enhanced cartilage tissue engineering by sequential exposure of chondrocytes to FGF-2 during 2D expansion and BMP-2 during 3D cultivation. *J. Cell. Biochem.* 2001;83(1):121-8.
- 126 Zhou S, Yates KE, Eid K, Glowacki J. Demineralized bone promotes chondrocyte or osteoblast differentiation of human marrow stromal cells cultured in collagen sponges. *Cell Tissue Bank* 2005;6(1):33-44.
- 127 Urist MR, Mikulski AJ. A soluble bone morphogenetic protein extracted from bone matrix with a mixed aqueous and nonaqueous solvent. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1979;162(1):48-53.
- 128 Urist MR, Raskin K, Goltz D, Merickel K. Endogenous bone morphogenetic protein: immunohistochemical localization in repair of a punch hole in the rabbit's ear. *Plast Reconstr Surg* 1997;99(5):1382-9.
- 129 Wei J, Herrler T, Liu K, et al. The Role of Cell Seeding, Bioscaffolds, and the In Vivo Microenvironment in the Guided Generation of Osteochondral Composite Tissue. *Tissue Eng Part A* 2016;22(23-24):1337-47.
- 130 Wang X, Li Y, Han R, et al. Demineralized bone matrix combined bone marrow mesenchymal stem cells, bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-beta3 gene promoted pig cartilage defect repair. *PLoS One* 2014;9(12):e116061.
- 131 Huang H, Zhang X, Hu X, et al. Directing chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells with a solid-supported chitosan thermogel for cartilage tissue engineering. *Biomed Mater* 2014;9(3):035008.
- 132 Rotter N, Bucheler M, Haisch A, Wollenberg B, Lang S. Cartilage tissue engineering using resorbable scaffolds. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2007;1(6):411-6.
- 133 Mayer H. Properties of human trabecular bone cells from elderly women: implications for cell-based bone engraftment. *Cells Tissues Organs* 2004;177(2):57-67.
- 134 Richter W. Mesenchymal stem cells and cartilage in situ regeneration. *J. Intern. Med.* 2009;266(4):390-405.
- 135 Kuci S, Wessels JT, Buhning HJ, et al. Identification of a novel class of human adherent CD34- stem cells that give rise to SCID-repopulating cells. *Blood* 2003;101(3):869-76.

- 136 Thalmeier K, Huss R. Highly efficient retroviral gene transfer into immortalized CD34(-) cells and organ distribution after transplantation into NOD/SCID mice. *Cytherapy* 2001;3(4):245-51.
- 137 Thalmeier K, Meissner P, Moosmann S, Sagebiel S, Wiest I, Huss R. Mesenchymal differentiation and organ distribution of established human stromal cell lines in NOD/SCID mice. *Acta Haematol.* 2001;105(3):159-65.
- 138 Conrad C, Gottgens B, Kinston S, Ellwart J, Huss R. GATA transcription in a small rhodamine 123(low)CD34(+) subpopulation of a peripheral blood-derived CD34(-)CD105(+) mesenchymal cell line. *Exp. Hematol.* 2002;30(8):887-95.
- 139 Kirchhoff C, Araki Y, Huhtaniemi I, et al. Immortalization by large T-antigen of the adult epididymal duct epithelium. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2004;216(1-2):83-94.
- 140 Kitaoka E, Satomura K, Hayashi E, et al. Establishment and characterization of chondrocyte cell lines from the costal cartilage of SV40 large T antigen transgenic mice. *J. Cell. Biochem.* 2001;81(4):571-82.
- 141 van Beuningen HM, Stoop R, Buma P, Takahashi N, van der Kraan PM, van den Berg WB. Phenotypic differences in murine chondrocyte cell lines derived from mature articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10(12):977-86.
- 142 Zhang L, Yuan T, Guo L, Zhang X. An in vitro study of collagen hydrogel to induce the chondrogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *J Biomed Mater Res A* 2012;100(10):2717-25.
- 143 Manferdini C, Maumus M, Gabusi E, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells exert antiinflammatory effects on chondrocytes and synoviocytes from osteoarthritis patients through prostaglandin E2. *Arthritis Rheum.* 2013;65(5):1271-81.
- 144 El Sayed K, Marzahn U, John T, et al. PGA-associated heterotopic chondrocyte cocultures: implications of nasoseptal and auricular chondrocytes in articular cartilage repair. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 2013;7(1):61-72.
- 145 Andrade LR, Arcanjo KD, Martins HS, et al. Fine structure and molecular content of human chondrocytes encapsulated in alginate beads. *Cell Biol. Int.* 2011;35(3):293-7.
- 146 Ricciardiello F, Cantone E, Abate T, et al. Effect of liposomes, vitamins A and E nasal spray in reducing the healing time after septoplasty with concurrent turbinate surgery in adolescents. *Minerva Pediatr.* 2017;69(1):15-21.
- 147 Wong E, Hamizan AW, Alvarado R, et al. Utility of narrow band imaging in the diagnosis of middle turbinate head edema. *Am J Otolaryngol* 2018;39(5):570-4.
- 148 Weber RK, Giotakis EI, Kuhnel T, Hosemann WG. [Anteromedial maxillectomy for improvement of nasal breathing : Advanced procedure in surgery of the lateral nasal wall]. *HNO* 2019;67(2):83-9.

6 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Heidi Olze für Ihre großzügige Unterstützung, die Betreuung dieser Habilitationsarbeit und damit die Möglichkeit im Fach *Hals-, Nasen-, Ohrenheilkunde* habilitieren zu können.

Gleichzeitig richtet sich mein Dank an Frau Prof. Dr. Gundula Schulze- Tanzil. Zunächst im Forschungslabor der Unfallchirurgie des CBF der Charité und später mit ihrem Forschungsteam der Anatomie an der Paracelsus Universität in Nürnberg, welchem ich hiermit auch herzlich danken möchte. Unsere enge Kooperation war und ist immer wieder spannend.

Frau Prof. Dr. Nicole Rotter hat mich als „Ärztin im Praktikum“ in München an das Gebiet des Tissue Engineering herangeführt und mich bei meinen ersten Gehversuchen im Labor unterstützt. Dafür vielen Dank.

Danken möchte ich auch Herrn PD Dr. Haisch, welcher mir nach meiner Ankunft in Berlin die Möglichkeit gegeben hat im Tissue Engineering Labor der HNO am CBF mitzuwirken.

Mit Rat und Tat stand und steht mir Frau Prof. Dr. Agnieszka Szczepek zur Seite, wenn es um wissenschaftliche Fragestellungen geht und ich ihre Expertise brauche. Herzlichen Dank.

Dank geht auch an folgende Doktoranden und Kollegen, die maßgeblich zu den Studien beigetragen haben: Linda- Josephine Voss, Marie Bandelier, Judith Droste, Juliane Liese, Caroline Vogt, Samira Zabaneh

Mein größter Dank geht an meine Familie. Ich erhielt von meinen Eltern stetigen Zuspruch und die Möglichkeit einer sorgenfreien Ausbildungszeit. Mein Mann hat mich über all die Jahre in jeglicher Hinsicht unterstützt und es mir so ermöglicht zugleich meine Rollen als Ärztin an der Universität und als Mutter zu leben.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....
Datum

.....
Unterschrift