

Гистологическая оценка влияния плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, на барабанную перепонку

А.И. Крюков^{1,2}, ORCID: 0000-0001-8483-2530

А.В. Гуров¹, ORCID: 0000-0001-9811-8397, e-mail: alex9999@inbox.ru

А.А. Бахтин³, ORCID: 0000-0003-0232-0545, e-mail: otolar@fmbamail.ru

З.В. Мурзаханова¹, ORCID: 0000-0001-7412-6448, e-mail: z-u-l-4-i-k@mail.ru

¹ Российский национальный исследовательский университет им. Н.И. Пирогова; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1

² Научный исследовательский клинический институт оториноларингологии им. Л.И. Свержевского; 117152, Россия, Москва, Загородное шоссе, д. 18а, стр. 2

³ Научный медицинский исследовательский центр оториноларингологии; 123182, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2

Резюме

Введение. Перспективным методом лечения острой посттравматической перфорации барабанной перепонки является применение плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста (ПКОТФР).

Цель исследования. Изучить микроскопическую картину тканей перфорированной барабанной перепонки после введения в область перфорации барабанной перепонки плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста в эксперименте.

Материалы и методы. Обследовали 36 крыс (72 барабанные перепонки). Животных поделили на 2 группы – основную и контрольную. При помощи стерильной иглы произвели перфорацию барабанной перепонки крысам обеих групп. Животным основной группы ввели однократно аппликационно аутоплазму крови, обогащенную тромбоцитарными факторами роста, в область перфорации барабанной перепонки. Животным контрольной группы произвели лишь динамическое наблюдение. Крыс вывели из эксперимента партиями по 6 особей на 5-, 10-, 15-е сут. после перфорации барабанной перепонки, затем произвели гистологическую оценку регенерации тканей барабанных перепонок.

Результаты. У животных основной группы на 5-е сут. достоверно реже регистрировали отек, дезорганизацию соединительной ткани, чем у животных контрольной группы ($p \leq 0,05$). Фибробластную инфильтрацию тканей барабанной перепонки достоверно чаще отмечали у крыс основной группы по сравнению с крысами контрольной группы ($p \leq 0,05$). У крыс основной группы на 10-е сут. отек и дезорганизацию соединительной ткани барабанных перепонки отмечали достоверно реже, чем у крыс контрольной группы ($p \leq 0,05$). Признаки фибробластной инфильтрации и неоангиогенеза в те же сроки у животных основной группы выявили достоверно чаще в отличие от крыс контрольной группы ($p \leq 0,05$). У животных основной группы на 15-е сут. фибробластную инфильтрацию и неоангиогенез выявили во всех случаях наблюдения, что достоверно превышало соответствующие показатели в контрольной группе, а лейкоцитарную инфильтрацию у крыс основной группы, в отличие от предыдущих этапов исследования, отмечали достоверно реже, чем у крыс контрольной группы ($p \leq 0,05$).

Заключение. Более раннюю и полную регенерацию поврежденных тканей барабанной перепонки в условиях ее травматической перфорации отметили у крыс основной группы под влиянием ПКОТФР. У крыс основной группы визуализировали более организованные коллагеновые волокна, наличие базофильных лейкоцитов, признаки неоангиогенеза и обширные поля фибробластов.

Ключевые слова: барабанная перепонка, травматическая перфорация, плазма крови, тромбоцитарные факторы роста, регенерация, крысы

Для цитирования: Крюков А.И., Гуров А.В., Бахтин А.А., Мурзаханова З.В. Гистологическая оценка влияния плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста, на барабанную перепонку. *Медицинский совет.* 2020;(16):56–61. doi: 10.21518/2079-701X-2020-16-56-61.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Histological evaluation of effect of PDGF-rich plasma on the tympanic membrane

Andrey I. Kriukov^{1,2}, ORCID: 0000-0001-8483-2530

Alexander V. Gurov¹, ORCID: 0000-0001-9811-8397, e-mail: alex9999@inbox.ru

Arthyr A. Bakhtin³, ORCID: 0000-0003-0232-0545, e-mail: otolar@fmbamail.ru

Zulfiya V. Murzakhanova¹, ORCID: 0000-0001-7412-6448, e-mail: z-u-l-4-i-k@mail.ru

¹ Pirogov Russian National Research Medical University; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia

² Sverzhovsky Scientific and Research Otolaryngology Clinical Institute; 18a, Bldg. 2, Zagorodnoe Shosse, Moscow, 117152, Russia

³ Scientific and Clinical Center of Otorhinolaryngology of the Federal Medico-Biological Agency; 30, Bldg. 2, Volokolamskoe Shosse, Moscow, 123182, Russia

Abstract

Introduction. To study the microscopic picture of the tissues of the perforated tympanic membrane after the introduction of blood plasma enriched with platelet growth factors into the perforated area of the tympanic membrane in the experiment.

Materials and methods. 36 rats (72 tympanic membranes) were examined. The animals were divided into 2 groups, the main and the control. The tympanic membrane was perforated in rats of both groups using sterile play. Animals of the main group were injected with a single application of autoplasm of blood enriched with platelet growth factors into the area of perforation of the tympanic membrane. The animals of the control group underwent only dynamic observation. The rats were withdrawn from the experiment in batches of 6 individuals on day 5, 10, 15 after the tympanic membrane perforation, then a histological assessment of the tissue regeneration of the tympanic membranes was performed.

Results. In animals of the main group on the 5th day after perforation of the tympanic membrane, edema and disorganization of connective tissue were significantly less frequently recorded than in animals of the control group ($p \leq 0.05$). Fibroblastic infiltration of tympanic membrane tissues was significantly more often observed in rats of the main group compared with rats in the control group ($p \leq 0.05$). In rats of the main group on the 10th day after perforation of the tympanic membrane, edema and disorganization of the connective tissue of the tympanic membranes were noted significantly less frequently than in rats of the control group ($p \leq 0.05$). Signs of fibroblastic infiltration and neoangiogenesis at the same time in animals of the main group were revealed significantly more often, in contrast to rats in the control group ($p \leq 0.05$). In animals of the main group, on the 15th day after perforation of the tympanic membrane, fibroblastic infiltration and neoangiogenesis were revealed in all cases of observation, which significantly exceeded the corresponding indicators in the control group, and leukocyte infiltration in rats of the main group, in contrast to the previous stages of the study, was noted significantly less frequently than in rats of the control group ($p \leq 0.05$).

Conclusion. Earlier and complete regeneration of damaged tissues of the tympanic membrane under conditions of its traumatic perforation was noted in rats of the main group under the influence of PCOTFR. In rats of the main group, more organized collagen fibers, the presence of basophilic leukocytes, signs of neoangiogenesis, and extensive fields of fibroblasts were visualized.

Keywords: tympanic membrane, traumatic perforation, blood plasma, platelet growth factors, regeneration, rats

For citation: Kriukov A.I., Gurov A.V., Bakhtin A.A., Murzakhanova Z.V. Histological evaluation of effect of PDGF-rich plasma on the tympanic membrane. *Meditinskiy sovet = Medical Council*. 2020;(16):56–61. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2020-16-56-61.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день проблеме лечения острой посттравматической перфорации барабанной перепонки (ПБП) посвящено большое количество работ. Это обусловлено частотой встречаемости ПБП, полиэтиологичностью и зачастую – неудовлетворительными результатами лечения пациентов [1–3]. Используемые хирургические методы в подобных случаях имеют как свои плюсы, так и существенные минусы: высокие финансовые затраты на лечение и на обучение оперирующих ЛОР-врачей, травматизация «донорского» участка, возможные послеоперационные осложнения [4–10]. В качестве альтернативы собственным тканям для закрытия ПБП активно внедряются синтетические материалы, однако они могут вызывать аллергические и воспалительные реакции, а их биомеханические и физические свойства отличаются от свойств барабанной перепонки человека, что может негативно влиять на качество слуха. Поэтому все большее количество исследований в области регенеративной медицины как альтернативы хирургической помощи направлено на поиск улучшения межклеточных коммуникаций [11, 12]. Перспективным методом является применение плазмы крови, обогащенной тромбоцитарными факторами роста (ПКОТФР), в основе которого лежит паракринное воздействие на различные типы клеток ростковых факторов, содержащихся в альфа-гранулах тромбоцитов [13–17]. Ростковые факторы способны ускорить процесс пролиферации, включающий в себя ангиогенез, эпителизацию, тканевой анаболизм, остеointеграцию и дифференцировку клеток, участвующих в регенерации тканей [18]. Данный метод прост и быстр в применении, не требует сложного оборудования, малотравматичен, безопасен с точки зрения переноса инфекции, не вызывает аллергии, т. к. ПКОТФР является

аутоканью [19]. В ПКОТФР содержится оптимальное соотношение факторов роста по составу.

На сегодняшний день опубликовано много работ, подтверждающих эффективность использования ПКОТФР в медицине, вместе с тем данных об опыте использования ПКОТФР в оториноларингологии во время оперативного вмешательства при закрытии травматической перфорации барабанной перепонки на крысах нет [20, 21].

Таким образом, можно полагать, что использование ПКОТФР при закрытии острой посттравматической перфорации барабанной перепонки приведет к ускорению регенерации тканей, способствуя тем самым более быстрому восстановлению нормального слуха больных и, соответственно, сокращению продолжительности посттравматического периода. Применение данного метода возможно даже в условиях стационара дневного пребывания и экономически выгодно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальную часть работы выполнили на крысах самцах, линии Wistar, возраст 3 мес., массой тела 230–250 г, в количестве 36 голов (оценивали 72 барабанные перепонки). Все работы с животными провели в соответствии с законодательством Российской Федерации, положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях (ст. 27).

В ходе исследования выделили 2 группы лабораторных животных: основную – 18 голов, 36 барабанных перепон и контрольную – 18 голов, 36 барабанных перепон. Рандомизацию животных проводили методом «конвертов». Масса тела составила 239 ± 6 г и 242 ± 5 г в основной и контрольной группах соответственно. Перед

началом эксперимента провели отоскопию на предмет наличия перфорации барабанной перепонки, признаков воспаления, инородных тел в наружном слуховом проходе. Травматическую перфорацию барабанной перепонки в ходе эксперимента крысам обеих групп выполняли в условиях общей анестезии стерильной иглой в задненижнем квадранте барабанной перепонки. Общую анестезию осуществляли препаратами «Золазепам» и «Ксилазин» из расчета 5 мг каждого препарата/1 кг массы тела животного в/м стерильной иглой.

Крысам основной группы произвели забор 1 мл аутокрови из хвостовой вены. Затем кровь помещали в стерильную вакуумную пробирку с цитратом натрия 3,8%. Этап центрифугирования крови с 3,8%-ным цитратом натрия проводили в режиме 230 грт 8 мин (центрифуга CM-12-0-6, фабрика «НК Групп», Россия). После центрифугирования осуществляли разделение крови на 3 части: плазма крови с тромбоцитами, лейкоцитами и эритроцитами. Часть плазмы крови, содержащую тромбоциты, отбирали с помощью стерильной пипетки Пастера, добавляли катализатор (1 капля 10%-ного раствора CaCl_2). Через 15 мин происходило образование сгустка, обогащенного тромбоцитарными факторами роста. Полученный тромбоцитарный сгусток вводили в наружный слуховой проход животным основной группы однократно, аппликационно с помощью стерильной пипетки Пастера, который на следующий день после введения резорбировался. Крысам контрольной группы проводили лишь динамическое наблюдение за регенерацией ПБП.

Для гистологического сравнения барабанных перепон в группах животных выводили из эксперимента, помещая их в камеру с CO_2^1 , по 6 крыс в каждой группе последовательно партиями (по 12 барабанных перепон в каждой группе) через 5 дней, через 10 и через 15 дней после ПБП. Затем вскрывали буллы височных костей и помещали их в 10%-ный забуференный раствор формальдегида («Merck», USA). Барабанные перепонки выделяли из височных костей тупым путем, образцы промывали в 1% фосфатно-солевом буфере (pH 7,4), (Invitrogen, Mulgrave, Australia). Затем ткани обрабатывали с использованием тканевого прессора Leica (модель TP 1020) с последующей дегидратацией в спиртах в возрастающей концентрации, проведением через ортоксил и заливкой в парафин. На ротационном микротоме готовили парафиновые срезы толщиной 5–6 мкм и фиксировали на адгезивных стеклах HistoBond (Marienfeld, Германия). Срезы депарафинировали с помощью ксилола и этилового спирта с последующей окраской обзорными гистологическими красителями: гематоксилином Майера и эозином. Далее, окрашенные срезы заключали в монтирующую среду Surgipath Sub-X Mounting Medium (Leica), покрывали покровными стеклами и оставляли для сушки на 24 ч, затем производили микроскопическую оценку исследуемых тканей.

Гистологическую оценку барабанных перепон у крыс обеих групп проводили по параметрам: дезорганизация соединительной ткани; отек соединительной ткани; фибробластная инфильтрация; лейкоцитарная инфильтрация; неоангиогенез. Учитывали наличие или отсутствие параметров в группах.

Статистическую обработку данных экспериментальной части исследования проводили в программе Statistica 7.0 методом ANOVA. Для оценки достоверности различий каждого гистологического параметра между группами использовали U-тест Манна – Уитни. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

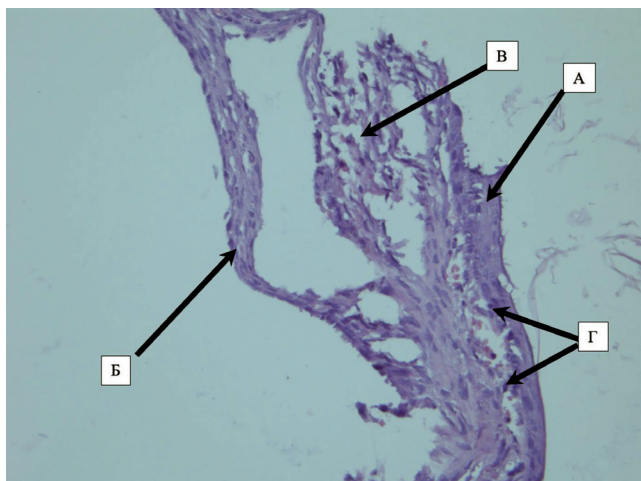
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Данные (примеры) микроскопии тканей крыс обеих групп на 10-е сут. после перфорации барабанной перепонки представлены на *рис. 1, 2*. Динамика ряда гистологических признаков у крыс основной и контрольной групп представлена на *рис. 3, 4, 5*.

Из представленных на *рис. 3* данных следует, что на 5-е сут. после перфорации барабанной перепонки у крыс основной группы достоверно реже регистрировали отек и дезорганизацию соединительной ткани (в 2 случаях из 12 барабанных перепон), чем в контрольной группе (во всех 12 случаях), ($p \leq 0,05$). Фибробластную инфильтрацию тканей барабанной перепонки, напротив, достоверно чаще отмечали в основной группе (во всех 12 случаях) по сравнению с контрольной группой (1 случай из 12 барабанных перепон) ($p \leq 0,05$).

● **Рисунок 1.** Гистологическая картина барабанной перепонки крысы контрольной группы на 10-е сут. после перфорации барабанной перепонки

● **Figure 1.** Histological picture of the control group rat's tympanic membrane on Day 10 after tympanic membrane perforation

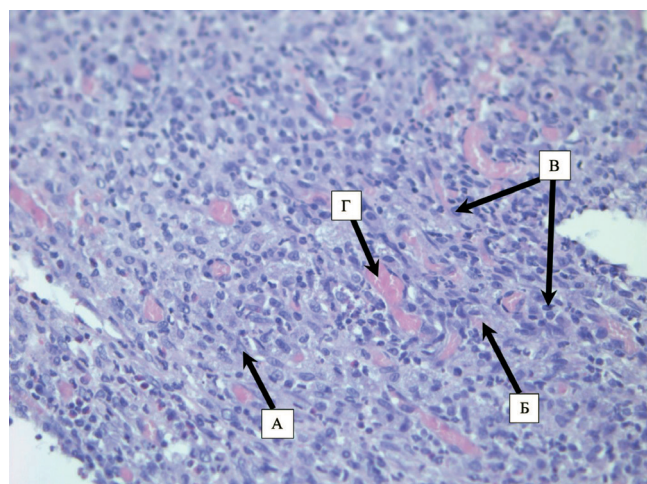


Фрагмент барабанной перепонки крысы. Контрольная группа, 10-е сут. после перфорации барабанной перепонки. Фрагмент барабанной перепонки с одной стороны покрыт многослойным плоским неороговевающим эпителием (стрелка А), с другой стороны покрыт однослойным кубическим эпителием (стрелка Б), свидетельствующими о начале процесса регенерации тканей барабанной перепонки, однако все еще сохраняется отек, дезорганизация соединительно-тканного матрикса (стрелка В), отсутствует структурированность тканей. Рыхлая воспалительная инфильтрация (стрелка Г). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x200

¹ Красильщикова М.С., Семушина С.Г. Руководство по работе с лабораторными животными для сотрудников ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, занятых проведением доклинических испытаний. М.: МЕД; 2015. 50 с. Режим доступа: http://rsmu.ru/fileadmin/templates/DOC/vivarium/Ruk_IACUC_RSMU.pdf.

● **Рисунок 2.** Гистологическая картина барабанной перепонки крысы основной группы на 10-е сутки после перфорации барабанной перепонки

● **Figure 2.** Histological picture of the treatment group rat's tympanic membrane on Day 10 after tympanic membrane perforation



Фрагмент барабанной перепонки крысы. Основная группа, 10-е сутки после перфорации барабанной перепонки. Видны обширные поля фибробластов (стрелка А), которые, как известно, продуцируют белки, формирующие волокна соединительной ткани при регенерации; участки неоангиогенеза (стрелка Б), свидетельствующие о формировании питательных сосудов для тканей; диффузная лимфоцитарно-лейкоцитарная инфильтрация (стрелка Г), характерная для тканей в процессе регенерации. Полнокровные (стрелка Г). Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x200

У крыс основной группы на 10-е сут. после перфорации барабанной перепонки отек, дезорганизацию соединительной ткани барабанных перепонки отмечали достоверно реже, чем у крыс контрольной группы (в 1-м случае наблюдения в основной группе и во всех случаях наблюдений в контрольной группе) ($p \leq 0,05$), а признаки фибробластной инфильтрации и неоангиогенеза в те же сроки у животных основной группы выявили достоверно чаще: во всех случаях наблюдений в основной группе по обоим параметрам и 4 случая фибробластной инфильтрации, ни одного случая неоангиогенеза из 12 барабанных перепонки в контрольной группе ($p \leq 0,05$) (рис. 4).

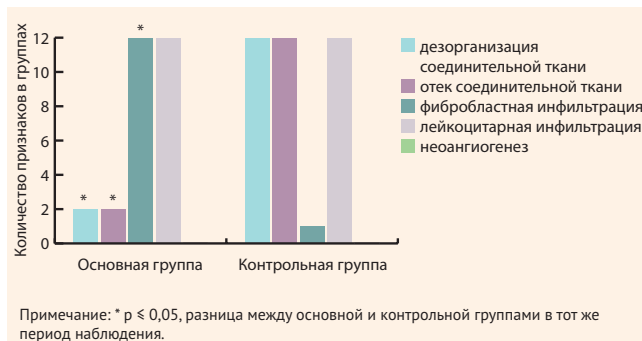
На 15-е сут. после перфорации барабанной перепонки фибробластную инфильтрацию и неоангиогенез выявили во всех 12 наблюдениях у животных основной группы, что достоверно превышало соответствующие показатели у крыс контрольной группы (7 случаев фибробластной инфильтрации, 1 случай неоангиогенеза из 12 барабанных перепонки у животных контрольной группы), а признаков лейкоцитарной инфильтрации у крыс основной группы, в отличие от предыдущих этапов исследования, отмечали достоверно реже, чем у крыс контрольной группы ($p \leq 0,05$), рис. 5.

Кроме того, у животных основной группы, в отличие от контрольной, уже на 5-е сут. после перфорации барабанной перепонки визуализировали более упорядоченные параллельно идущие коллагеновые волокна, фибробласты. Единичные макрофаги, базофильные лейкоциты на этом этапе эксперимента выявили только в препаратах крыс основной группы (в 11 из 12 препаратов). Базофильные лейкоциты, как известно, принимают актив-

ное участие в регуляции регенерации тканей и в восстановительных процессах [22]. Их активация в столь ранние сроки после аппликации ПКОТФР свидетельствует о быстром и очевидном стимулирующем влиянии тромбоцитарных факторов роста на регенеративные возможно-

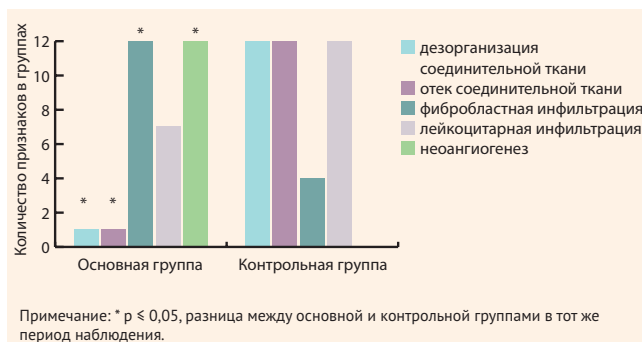
● **Рисунок 3.** Динамика ряда гистологических признаков у крыс основной ($n = 12$) и контрольной ($n = 12$) групп на 5-е сутки эксперимента

● **Figure 3.** Dynamics of certain histological features in treatment group rats ($n = 12$) and control group rats ($n = 12$) on Day 5 of the experiment



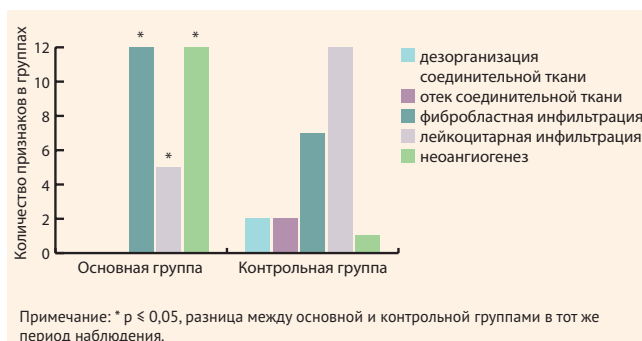
● **Рисунок 4.** Динамика ряда гистологических признаков у крыс основной ($n = 12$) и контрольной ($n = 12$) групп на 10-е сутки эксперимента

● **Figure 4.** Dynamics of certain histological features in treatment group rats ($n = 12$) and control group rats ($n = 12$) on Day 10 of the experiment



● **Рисунок 5.** Динамика ряда гистологических признаков у крыс основной ($n = 12$) и контрольной ($n = 12$) групп на 15-е сутки эксперимента

● **Figure 5.** Dynamics of certain histological features in treatment group rats ($n = 12$) and control group rats ($n = 12$) on Day 15 of the experiment



сти тканей перфорированной барабанной перепонки. На 10-е сут. во всех 12 препаратах крыс основной группы визуализировали участки неоваскуляризации, полнокровные сосуды и обширные поля фибробластов, в отличие от 12 препаратов крыс контрольной группы, где признаки фибробластной инфильтрации визуализировали лишь в 4 случаях, а участки неоваскуляризации – ни в одном наблюдении ($p \leq 0,05$). Как известно, фибробласты представляют собой динамичную и разнотипную популяцию клеток мезенхимального происхождения, участвующих в регенеративных процессах. Они отвечают за синтез и депонирование компонентов внеклеточного матрикса, таких как коллаген и эластин, формирующие волокна, а также протеоглики и гликопротеиды основного аморфного вещества. Благодаря фибробластам другие клетки способны оседать и мигрировать вдоль трехмерной опоры и тем самым создавать органо-специфичную архитектуру тканям. Кроме того, фибробласты производят биоактивные молекулы, которые участвуют в ангиогенезе и восстановлении тканей [23]. Образование новых

кровеносных сосудов необходимо для роста и питания тканей [24], поэтому признаки неоваскуляризации и фибробластной инфильтрации служат признаками начала регенерации тканей под влиянием ПКОТФР уже на 10-е сут. эксперимента.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, анализируя полученные результаты, можно уверенно говорить, что более раннюю и полную регенерацию поврежденных тканей барабанной перепонки в условиях ее травматической перфорации отметили у крыс основной группы под влиянием ПКОТФР. У крыс основной группы визуализировали более организованные коллагеновые волокна, наличие базофильных лейкоцитов, признаки неоваскуляризации и обширные поля фибробластов.



Поступила / Received 18.09.2020

Поступила после рецензирования / Revised 02.10.2020

Принята в печать / Accepted 07.10.2020

Список литературы

1. Гаров Е.В., Крюков А.И., Зеленкова В.Н., Сидорова Н.Г., Калошина А.С. Атипичное течение воспаления в среднем ухе. *Вестник оториноларингологии*. 2017;82(4):9–15. doi: 10.17116/otorino20178249-15.
2. Гуров А.В., Ельчанинов А.В., Мурзаханова З.В. Применение плазмы крови, обогащенной тромбоцитами факторами роста, при экспериментальной перфорации барабанной перепонки. *Медицинский совет*. 2019;(20):108–114. doi: 10.21518/2079-701X-2019-20-108-114.
3. Полякова С.Д., Батенева Н.Н., Попова Б.А. Комплексный подход к диагностике и лечению травматических отитов. *Российская оториноларингология*. 2009;(4):114–118. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=14617265>.
4. Feidt H., Federspil P. Personal studies on the current spectrum of pathogenic bacteria in otitis externa and chronic otitis media. *Laryngorhinotologie*. 1989;68(7):401–406. doi: 10.1055/s-2007-998363.
5. Амонов Ш.Э., Саидов С.Х., Амонов А.Ш. Комплексная диагностика экссудативного среднего отита у детей. *Российская оториноларингология*. 2012;(5):14–16. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18410624>.
6. Семенов Ф.В. Оториноскопическое обследование больных с патологией среднего уха. *Вестник оториноларингологии*. 2001;(4):48–50. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19730876>.
7. Крюков А.И., Гуров А.В., Ельчанинов А.В., Мурзаханова З.В., Муратов Д.Л. Применение плазмы крови, обогащенной тромбоцитами факторами роста, при экспериментальной перфорации барабанной перепонки. *Вестник оториноларингологии*. 2019;84(6):17–21. doi: 10.17116/otorino20198406117.
8. Gans H. Nachbehandlung und Nachsorge bei Operationen am Ohr. *HNO Praxis Heute*. 1994;36(5):41–62. doi: 10.1007/978-3-642-78791-1_3.
9. Кротов Ю.А. Мирингопластика при обширных перфорациях барабанной перепонки. *Вестник оториноларингологии*. 2001;(5):57–59. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29987753>.
10. Onal K., Kazikdas K.C., Uğuz M.Z., Gursoy S.T., Gokce H. A multivariate analysis of otological, surgical and patient-related factors in determining success in myringoplasty. *Clin Otolaryngol*. 2005;30(2):115–120. doi: 10.1111/j.1365-2273.2004.00947.x.
11. Xu Z. Analysis on characters of 220 cases of tympani membrane perforated. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2001;17(1):28–62. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12533889>.
12. Gilbert T.W., Freund J.M., Badyalak S.F. Quantification of DNA in biologic scaffold materials. *J Surg Res*. 2009;152(1):135–139. doi: 10.1016/j.jss.2008.02.013.
13. Гуров А.В., Михалева Л.М., Гордиенко М.В., Ермолаев А.Г., Мурзаханова З.В., Муратов Д.Л. Современные методы оценки морфофункционального состояния различных органов и тканей в оториноларингологии. *Медицинский совет*. 2019;(8):43–47. doi: 10.21518/2079-701X-2019-8-43-47.
14. Хелминская Н.М., Кравец В.И., Гончарова А.В., Краснов Н.М. Об эффективности и перспективах использования плазмы крови в комплексном замещении ограниченных костных дефектов челюстей. *Медицинский альманах*. 2015;(3):199–202. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24361078>.
15. Гончарова О.Г., Попова Л.П. Применение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы при операциях на среднем ухе. *Российская оториноларингология*. 2009;(1):67–70. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=14565095>.
16. Hajioannou J.K., Bizaki A., Fragiadakis G., Bourolas C., Spanakis I., Chlouverakis G. Optimal time for nasal packing removal after septoplasty. A comparative study. *Rhinology*. 2007;45(1):68–71. Available at: <https://www.pubfacts.com/detail/17432074/Optimal-time-for-nasal-packing-removal-after-septoplasty-A-comparative-study>.
17. Eppley B., Pietrzak W., Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(6):147e–159e. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17051095/>.
18. Yaşar M., Kaya A., Karaman H., Kavugudurmaz M., Polat H., Sağit M., Özcan İ. Potential Curative Role of Hypericum Perforatum in an Experimental Rat Model of Tympanic Membrane Perforation. *J Int Adv Otol*. 2016;12(3):252–256. doi: 10.5152/iao.2016.1612.
19. Weyrich A.S., Schwartz H., Kraiss L.W., Zimmerman G.A. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *J Thromb Haemost*. 2009;7(2):241–246. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03211.x.
20. Anitua E., Andia I., Sanchez M., Azofra J., del Mar Zaldueño M., de la Fuente M. et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res*. 2009;23(2):281–286. doi: 10.1016/j.orthres.2004.08.015.
21. Karataylı Özgürsoy S., Tunçkaşık M., Tunçkaşık F., Akıncioğlu E., Doğan H., Kocatürk S. Platelet-Rich Plasma Application for Acute Tympanic Membrane Perforations. *J Int Adv Otol*. 2017;13(2):195–199. doi: 10.5152/iao.2016.2533.
22. Ayala-Montes de Oca A., Alla S.N., López-Valdés J.C. Effectiveness of topical phenytoin therapy versus platelet-rich plasma for tympanic perforations closure: Comparative study. *Rev Med Hosp Gen Méx*. 2016;79(4):183–188. doi: 10.1016/j.hgm.2016.05.006.
23. Costa-Almeida R., Soares R., Granja P.L. Fibroblasts as maestros orchestrating tissue regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(1):240–251. doi: 10.1002/term.2405.
24. Hinck A.P., Mueller T.D., Springer T.A. Structural Biology and Evolution of the TGF-β Family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(12):a022103. doi: 10.1101/cshperspect.a022103.

References

- Garov E.V., Kryukov A.I., Zelenkova V.N., Sidorina N.G., Kaloshina A.S. Atypical inflammation of the middle ear. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2017;82(4):9–15. (In Russ.) doi: 10.17116/otorino20178249-15.
- Gurov A.V., El'chaninov A.V., Murzakhanova Z.V. Application of blood plasma enriched with platelet derived growth factors in experimental perforation of the tympanic membrane. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2019;(20):108–114. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2019-20-108-114.
- Polyakova S.D., Bateneva N.N., Popova E.A. Complex method for diagnostics and treatment of traumatic otitis. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*. 2009;(4):114–118. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=14617263>.
- Feidt H., Federspil P. Personal studies on the current spectrum of pathogenic bacteria in otitis externa and chronic otitis media. *Laryngorhinootologie*. 1989;68(7):401–406. doi: 10.1055/s-2007-998363.
- Amonov Sh.E., Saidov S.H., Amonov A.Sh. Comprehensive diagnosis of exudative otitis media in children. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*. 2012;(5):14–16. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18410624>.
- Semenov F.V. Otomicoscopic examination of patients with middle ear pathology. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2001;(4):48–50. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=19730876>.
- Kryukov A.I., Gurov A.V., El'chaninov A.V., Murzakhanova Z.V., Muratov D.L. The use of blood plasma enriched with platelet growth factors during experimental perforation of the tympanic membrane. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2019;84(6):17–21. (In Russ.) doi: 10.17116/otorino20198406117.
- Gans H. Nachbehandlung und Nachsorge bei Operationen am Ohr. *HNO Praxis Heute*. 1994;36(5):41–62. doi: 10.1007/978-3-642-78791-1_3.
- Krotov Yu.A. Myringoplasty with extensive perforations of the tympanic membrane. *Vestnik otorinolaringologii = Bulletin of Otorhinolaryngology*. 2001;(5):57–59. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29987753>.
- Onal K., Kazikdas K.C., Uğuz M.Z., Gursay S.T., Gokce H. A multivariate analysis of otological, surgical and patient-related factors in determining success in myringoplasty. *Clin Otolaryngol*. 2005;30(2):115–120. doi: 10.1111/j.1365-2273.2004.00947.x.
- Xu Z. Analysis on characters of 220 cases of tympani membrane perforated. *Fa Yi Xue Za Zhi*. 2001;17(1):28–62. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12533889>.
- Gilbert T.W., Freund J.M., Badyak S.F. Quantification of DNA in biologic scaffold materials. *J Surg Res*. 2009;152(1):135–139. doi: 10.1016/j.jss.2008.02.013.
- Gurov A.V., Mikhaleva L.M., Gordienko M.V., Ermolaev A.G., Murzakhanova Z.V., Muratov D.L. Modern methods of assessment of morphofunctional state of various organs and tissues in otolaryngology. *Meditsinskiy sovet = Medical Council*. 2019;(8):43–47. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2019-8-43-47.
- Khelminskaya N.M., Kravets V.I., Goncharova A.V., Krasnov N.M. On efficiency and prospects of use of blood plasma in complex substitution and limitation of bone defects of jaws. *Meditsinskiy almanakh = Medical Almanac*. 2015;(3):199–202. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=24361078>.
- Goncharova O.G., Popova L.P. The use of platelet-rich autoplasm in middle ear surgery. *Rossiyskaya otorinolaringologiya = Russian Otorhinolaryngology*. 2009;(1):67–70. (In Russ.) Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=14565095>.
- Hajioannou J.K., Bizaki A., Fragiadakis G., Bourolas C., Spanakis I., Chlouverakis G. Optimal time for nasal packing removal after septoplasty. A comparative study. *Rhinology*. 2007;45(1):68–71. Available at: <https://www.pubfacts.com/detail/17432074/Optimal-time-for-nasal-packing-removal-after-septoplasty-A-comparative-study>.
- Eppley B., Pietrzak W., Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2006;118(6):147e–159e. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17051095/>.
- Yaşar M., Kaya A., Karaman H., Kavugudurmaz M., Polat H., Sağıt M., Özcan İ. Potential Curative Role of Hypericum Perforatum in an Experimental Rat Model of Tympanic Membrane Perforation. *J Int Adv Otol*. 2016;12(3):252–256. doi: 10.5152/iao.2016.1612.
- Weyrich A.S., Schwartz H., Kraiss L.W., Zimmerman G.A. Protein synthesis by platelets: historical and new perspectives. *J Thromb Haemost*. 2009;7(2):241–246. doi: 10.1111/j.1538-7836.2008.03211.x.
- Anitua E., Andia I., Sanchez M., Azofra J., del Mar Zaldueño M., de la Fuente M. et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res*. 2009;23(2):281–286. doi: 10.1016/j.jorthres.2004.08.015.
- Karataylı Özgürsoy S., Tunçkaşık M., Tunçkaşık F., Akıncioğlu E., Doğan H., Kocatürk S. Platelet-Rich Plasma Application for Acute Tympanic Membrane Perforations. *J Int Adv Otol*. 2017;13(2):195–199. doi: 10.5152/iao.2016.2533.
- Ayala-Montes de Oca A., Alla S.N., López-Valdés J.C. Effectiveness of topical phenytoin therapy versus platelet-rich plasma for tympanic perforations closure: Comparative study. *Rev Med Hosp Gen Méx*. 2016;79(4):183–188. doi: 10.1016/j.hgmx.2016.05.006.
- Costa-Almeida R., Soares R., Granja P.L. Fibroblasts as maestros orchestrating tissue regeneration. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018;12(1):240–251. doi: 10.1002/term.2405.
- Hinck A.P., Mueller T.D., Springer T.A. Structural Biology and Evolution of the TGF- β Family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(12):a022103. doi: 10.1101/cshperspect.a022103.

Информация об авторах:

Крюков Андрей Иванович, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор, Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Научно-исследовательский клинический институт оториноларингологии имени Л.И. Свержевского» Департамента здравоохранения города Москвы; 117152, Россия, Москва, Загородное шоссе, д. 18а, стр. 2; заведующий кафедрой оториноларингологии лечебного факультета, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1

Гуров Александр Владимирович, д.м.н., профессор, профессор кафедры оториноларингологии лечебного факультета, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; e-mail: alex9999@inbox.ru

Бахтин Артур Александрович, к.м.н., руководитель отдела, заведующий отделением патологической анатомии, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный медицинский исследовательский центр оториноларингологии медико-биологического агентства»; 123182, Россия, Москва, Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2; e-mail: otolar@fmbamail.ru

Мурзаханова Зульфия Ваизовна, аспирант кафедры оториноларингологии лечебного факультета, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; 117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, д. 1; e-mail: z-u-l-4-i-k@mail.ru

Information about the authors:

Andrey I. Kriukov, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Honoured Worker of Science of RF, Director, State Budgetary Healthcare Institution "Sverzhovsky Scientific and Research Otolaryngology Clinical Institute" Department of Health Care of the City of Moscow; 18a, Bldg. 2, Zagorodnoe Shosse, Moscow, 117152, Russia; Head of the Department of Otorhinolaryngology, Faculty of Medicine, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Pirogov Russian National Research Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia

Alexander V. Gurov, Dr. of Sci. (Med.), Professor, Professor of Department of Otorhinolaryngology, Faculty of General Medicine, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Pirogov Russian National Research Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; e-mail: alex9999@inbox.ru

Arthyr A. Bakhtin, Cand. of Sci. (Med.), Head of Division, Head of Department of Pathological Anatomy, Federal State Budgetary Institution "Scientific and Clinical Center of Otorhinolaryngology of the Federal Medico-Biological Agency"; 30, Bldg. 2, Volokolamskoe Shosse, Moscow, 123182, Russia; e-mail: otolar@fmbamail.ru

Zulfiya V. Murzakhanova, postgraduate student, Department of Otorhinolaryngology, Faculty of General Medicine, Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Pirogov Russian National Research Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation; 1, Ostrovityanov St., Moscow, 117997, Russia; e-mail: z-u-l-4-i-k@mail.ru