

Биоинженерные импланты на основе мезенхимных стромальных клеток в восстановлении повреждений голосовых складок и барабанной перепонки (пилотные экспериментальные результаты)

М.В. Свистушкин[✉], svistushkin_m_v@staff.sechenov.ru, А.А. Бакулина, П.Ю. Бикмулина, А.В. Золотова, Л.В. Селезнева, Е.А. Шевчик, П.А. Кочетков, Н.Б. Сержникова, А.Н. Никифорова, И.А. Тычкина, А.И. Шпичка, В.М. Свистушкин, П.С. Тимашев

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Резюме

Введение. Одним из наиболее актуальных вопросов современной оториноларингологии является проблема формирования стойких дефектов голосовых связок и барабанной перепонки. Такое положение вещей связано с разнообразием причин, вызывающих развитие данных состояний, а также с тем, что лечение данных процессов, как правило, представляет собой технически сложную задачу и не всегда является эффективным.

Цель. Оценить возможности применения биоинженерных имплантов (БИ) на основе мезенхимных стромальных клеток (МСК), полиэтиленгликолевого фибринового геля (ПЭГ-фибринового геля) и коллагеновой матрицы для восстановления дефектов вибрирующих тканей лор-органов – голосовых складок и барабанной перепонки.

Материалы и методы. Для эксперимента по восстановлению голосовой складки были отобраны 6 кроликов, разделенных поровну на 2 группы. После формирования рубца голосовой складки производилось имплантирование биоэквивалента: сфероиды на основе МСК + ПЭГ-фибриновый гель (группа – сфероиды ГС, n = 3) в объеме 0,5 мл, для группы контроля роль биоэквивалента выполнял физиологический раствор (группа – контроль ГС, n = 3). Для эксперимента по восстановлению барабанной перепонки были отобраны 6 шиншил, разделенных поровну на 2 группы. Первым этапом создавалась стойкая перфорация, на которой либо не проводилось вмешательство (группа – контроль БП, n = 3), либо перфорация закрывалась с использованием биоэквивалента на основе сфероидов МСК, ПЭГ-фибринового геля и коллагеновой матрицы (группа – сфероиды БП, n = 3).

Результаты и обсуждение. При морфологическом исследовании определялось более полное восстановление структуры ткани в группах воздействия по сравнению с контрольными группами.

Выводы. Имплантация разработанных биоэквивалентов в места повреждения голосовых складок и барабанных перепонки приводит к формированию ткани, морфологически приближающейся к строению интактных структур.

Ключевые слова: перфорация барабанной перепонки, хронический средний отит, рубцы голосовых складок, клеточные технологии, сфероид

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда №21-15-00339.

Для цитирования: Свистушкин МВ, Бакулина АА, Бикмулина ПЮ, Золотова АВ, Селезнева ЛВ, Шевчик ЕА, Кочетков ПА, Сержникова НБ, Никифорова АН, Тычкина ИА, Шпичка АИ, Свистушкин ВМ, Тимашев ПС. Биоинженерные импланты на основе мезенхимных стромальных клеток в восстановлении повреждений голосовых складок и барабанной перепонки (пилотные экспериментальные результаты). *Медицинский совет.* 2024;18(7):110–121. <https://doi.org/10.21518/ms2024-088>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Mesenchymal stromal cells based bioengineered implants in vocal folds and tympanic membrane restoration (pilot experimental results)

Mikhail V. Svistushkin[✉], svistushkin_m_v@staff.sechenov.ru, Alesia A. Bakulina, Polina Y. Bikmulina, Anna V. Zolotova, Liliya V. Selezneva, Elena A. Shevchik, Petr A. Kochetkov, Natalia B. Sereznikova, Anna N. Nikiforova, Irina A. Tyckina, Anastasia I. Shpichka, Valery M. Svistushkin, Peter S. Timashev

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia

Abstract

Introduction. One of the most pressing issues of modern otorhinolaryngology is the problem of the formation of persistent defects of the vocal cords and tympanic membrane. This state of affairs is due to the variety of reasons that cause the development of these conditions, as well as the fact that the treatment of these processes, as a rule, is a technically complex task and is not always effective.

и существенно ограничен. Данная проблема связана с тем, что существующие методы уменьшают потерю воздуха и усталость при фонации, но не восстанавливают структуру собственной пластинки слизистой оболочки голосовой складки, которая обеспечивает необходимые для ее вибрации биомеханические свойства, голосовая складка остается жесткой и неподвижной [8, 36–38].

Клеточные технологии и биоинженерия, относящиеся к регенеративной медицине, открывают для клиницистов новые перспективы в разработке методов лечения и профилактики рубцовых повреждений голосовых складок и перфораций барабанной перепонки, и в последнее время интерес к ее достижениям в мировой оториноларингологии значительно возрос. Их идея заключается в восстановлении нормальной структуры и функции тканей на клеточном и молекулярном уровне за счет целенаправленной контролируемой активации пролиферации и дифференцировки клеток, нормализации синтеза компонентов межклеточного матрикса и ограничения интенсивности воспалительного процесса.

Важной чертой клеточных подходов для восстановления голосовых складок и барабанной перепонки становится активное исследование различных скаффолдов, используемых в качестве носителей для клеток. Их использование может улучшать конечный результат восстановления за счет изменения свойств клеток, уменьшения их потери при имплантации и увеличения продолжительности их жизни [38]. В работах на ГС для этой цели с положительными результатами использовались скаффолды на основе гиалуроновой кислоты и коллагена [39–42]. Также одним из перспективных клеточных носителей для клеточной терапии повреждений голосовых складок является фибрин. В *in vitro* исследовании Н. Park et al. показано, что среди гидрогелей, которые могут использоваться для имплантации клеток в голосовые складки в культурах жировых мезенхимных стромальных клеток (МСК) с фибрином и с комплексами фибрина с гиалуроновой кислотой и с коллагеном, было обнаружено в два раза большее количество общей ДНК, чем в культурах с коллагеном и ГК по отдельности; экспрессия эластина была значительно выше в клетках, выращенных в гелях на основе фибрина [43]. В работе J. Long et al. двухслойная тканеинженерная конструкция на основе фибрина и жировых МСК была способна поддерживать вибрации и обладала сходными вязко-упругими свойствами с тканью голосовых складок [44]. Кроме того, немаловажными являются и кровоостанавливающие свойства фибрина, в ларингологии препараты фибрина в качестве гемостатического средства широко применяются в клинической практике, но наблюдается большой разброс в величине и эффективности гемостаза [45].

К настоящему моменту с целью закрытия как острых, так и хронических перфораций барабанной перепонки также предприняты попытки использования большого количества каркасов (скаффолдов). Достаточно часто с этой целью применяются коллагенсодержащие материалы, отличающиеся друг от друга некоторыми физико-химическими свойствами. Наиболее распространено

в клинической практике использование в качестве каркаса коллагеновой или желатиновой губки, в т. ч. и в сочетании с различными факторами роста [46–50]. Коллаген обладает уникальными биологическими свойствами, губки на его основе продемонстрировали эффективность поглощения тканевого экссудата при контакте с раной, обеспечивая влажную среду и защиту от инфицирования и механических повреждений. Следует отметить, что пористость данного материала позволяет транспортировать клетки и питательные вещества [51].

Цель данной работы заключалась в экспериментальной оценке возможности применения биоинженерных имплантов на основе МСК, полиэтиленгликолевого фибринового геля (ПЭГ-фибринового геля) и коллагеновой матрицы для восстановления дефектов вибрирующих тканей лор-органов – голосовых складок и барабанной перепонки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка биоинженерных имплантов

Биоматериал для выделения клеток был предоставлен Биобанком Сеченовского университета и получен от пациентов после получения информированного согласия. В работе использовали первичные культуры мезенхимальных стромальных клеток (МСК), выделенных из альвеолярной слизистой оболочки свободной десны человека. Выделение первичных культур проводилось в соответствии со стандартными протоколами. Клетки культивировали в среде, содержащей DMEM/F12 (1:1, Gibco, США), гентамицин (50 мкг/мл, Sigma-Aldrich, Германия), FBS (10%, Thermo Fisher, США), инсулин-трансферрина-селенит (1:100, «БиолоТ», Россия) и bFGF (10 нг/мл, ProSpec, Израиль) при стандартных условиях (37 °C и 5% CO₂). Эксперименты проводились с использованием клеток на 3–5 пассажах.

Для формирования трехмерных сфероидов суспензию МСК объемом 140 мкл помещали в агарозные планшеты с 256 лунками. Количество клеток на один сфероид составляло 2000. Далее агарозные планшеты с МСК культивировали в течение 3 сут.

Гидрогелевая система состояла из желатина, фибриногена, ПЭГ-метакрилата и рибофлавина. Для получения гидрогеля бычий желатин (75 мг/мл, Sigma-Aldrich, Германия) смешивали с бычьим фибриногеном (25 мг/мл, Sigma-Aldrich, Германия) в фосфатно-солевом буфере (PBS). Затем в раствор добавляли гетеробифункциональный акрилат метилового эфира поли(этиленгликоля) (ПЭГ-метакрилат, 2,57 мг/мл, Sigma-Aldrich, Германия). Реакцию конъюгации проводили в течение 2 ч при 37 °C в темноте. После инкубации в гидрогель добавляли рибофлавин в качестве фотоинициатора (0,02%, Sigma-Aldrich, Германия). Для получения биочернил клеточные сфероиды смешивали с гидрогелем для получения концентрации 1000 сфероидов на мл и помещали в картридж биопринтера со светозащитой. Картридж охлаждали до температуры 22 °C для застывания биочернил.

Охарактеризованные коллагеновые мембраны подготавливали для 3D-биопечати с помощью хирургических

ножниц и дерматологических панчей в стерильных условиях. Полученные матрицы помещали в раствор стерильного фосфатного буфера на 10 мин и затем переносили в подготовленные 24-луночные планшеты. В работе использовали экструзионный биопринтер BIO X (CellInk, Швеция). Температуру биочернил внутри печатающей головки (BIO X temperature-controlled printhead, CellInk, Швеция) и после печати на столике-платформе также непрерывно поддерживали на уровне 22 °С. Для картриджей использовали одноразовые сопла (диаметр сопла 25 G, CellInk, Швеция).

Для оценки выживаемости сфероидов (рис. 1) и трехмерных биоэквивалентов (рис. 2) была использована комбинация методов определения жизнеспособности и пролиферации клеток. Метаболическую и пролиферативную активность клеток оценивали с помощью тестов AlamarBlue (ThermoFisher Scientific, США) и PicoGreen (Quant-iT PicoGreen, ThermoFisher Scientific, США). Жизнеспособность клеток визуализировали с использованием окрашивания Live/Dead (Sigma-Aldrich, Германия), а ядра клеток контрастировали с помощью Hoechst 33258. Образцы исследовали с помощью флуоресцентного микроскопа EVOS (ThermoFisher Scientific, США). Кроме того, для оценки морфологии клеток и сфероидов использовали световой микроскоп с фазово-контрастным модулем ZEISS Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Германия).

Хирургические методы

Исследования на животных были одобрены локальным этическим комитетом Сеченовского университета (протокол №11-23 от 15 июня 2023 г.). В экспериментах на голосовых складках использовалась модель, состоящая из имплантации клеточного продукта во вторичную рану голосовой

складки кролика после резекции рубца, развившегося на месте первичного дефекта [52]. При восстановлении барабанной перепонки использовалась экспериментальная модель стойкой перфорации на шиншиллах [53]. По дизайну данное исследование являлось контролируемым экспериментом с параллельными группами (рис. 3).

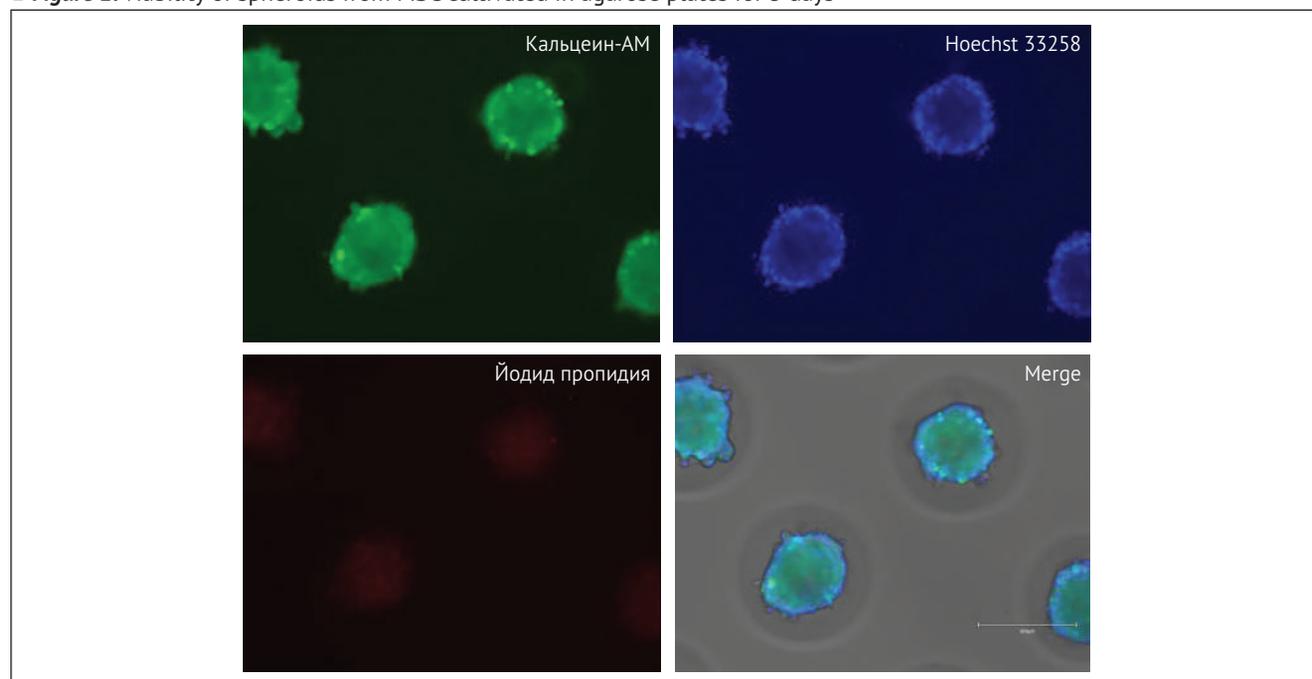
Создание модельного дефекта рубцового повреждения голосовых складок

Для обеспечения безболезненности манипуляций и миорелаксации использовалась анальгоседация путем внутримышечного введения тилетамина/золазепам из расчета 10–15 мг/кг и раствора ксилазина 1–2 мг/кг. Для прямой ларингоскопии гортани использовался неонатологический клинок для оротрахеальной интубации по С. Miller №1, визуализация осуществлялась с помощью ригидного эндоскопа KarlStorz – Hopkins 0° 4,0 мм. Во время 1-й операции (n = 6) создавался односторонний дефект левой голосовой складки – удалялась слизистая оболочка и собственная пластинка на протяжении 1/3 голосовой складки с отступом 3–4 мм от передней комиссуры с помощью чашеобразных щипцов длиной 18 см и диаметром захватывающей поверхности 2 мм. При необходимости осуществлялась санация кровяных сгустков и гемостаз путем прижатия ватного тампона на зонде с навивкой, смоченного раствором адреналина.

Имплантация клеточных продуктов

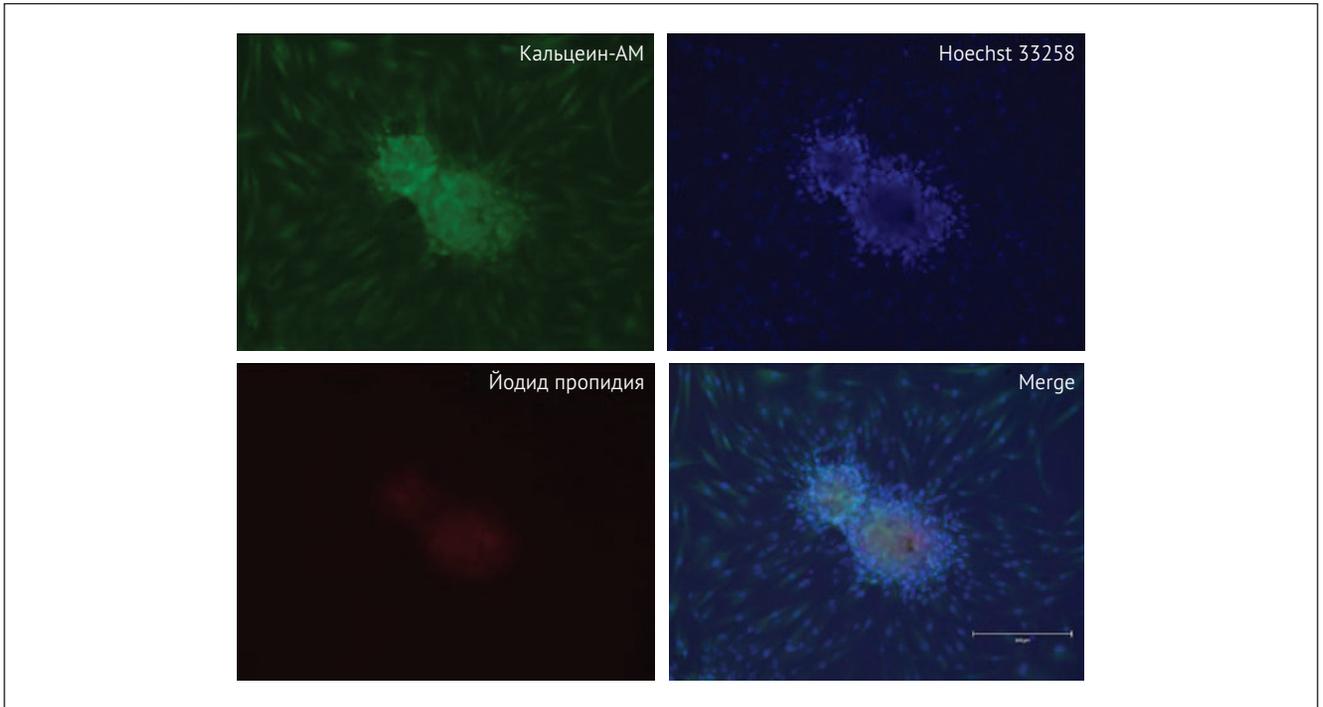
Через 3 мес. проводилась вторая операция, в ходе которой выполнялась идентификация рубца голосовой складки, затем рубец иссекался с помощью чашеобразных щипцов, границы рубца определялись визуально и тактильно. Непосредственно после этого выполнялась

- **Рисунок 1.** Жизнеспособность сфероидов из МСК, культивируемых в агарозных планшетах в течение 3 сут.
- **Figure 1.** Viability of spheroids from MSC cultivated in agarose plates for 3 days



Окрашивание Live/Dead (живые клетки окрашиваются кальцием-AM, мертвые – йодидом пропидия). Ядра контрастированы красителем Hoechst 33258. Флуоресцентная и световая фазово-контрастная (на merge) микроскопия, масштабный отрезок 300 мкм.

- **Рисунок 2.** Жизнеспособность напечатанных конструкторов через 3 сут. культивирования
- **Figure 2.** Viability of printed constructs after 3 days cultivation



Окрашивание Live/Dead (живые клетки окрашиваются кальцеином-AM, мертвые – йодидом пропидия). Ядра контрастированы красителем Hoechst 33258. Флуоресцентная микроскопия, масштабный отрезок 300 мкм.

- **Рисунок 3.** Дизайн исследования
- **Figure 3.** Research design



имплантация продуктов путем инъекции с помощью иглы для эндоскопической риносинусхирургии. Третьим животным был имплантирован биоэквивалент: сфероиды на основе МСК + ПЭГ-фибриновый гель (группа – сфероиды ГС) в объеме 0,5 мл (1×10^3 сфероидов) – и третьим животным – эквивалентный объем физиологического раствора (группа – контроль ГС). Подготовка имплантата проводилась непосредственно в операционной. Два компонента геля: фибриноген, содержащий сфероиды МСК, и тромбин – смешивались в шприце 1,0 мл в пропорциях 1:1 (по 0,25 мл), и через 60–90 с при визуальных признаках начала полимеризации гель через иглу имплантировался во вторичную рану голосовой складки. Ведение в послеоперационном периоде не отличалось от описанного для первой операции. Из всех оперированных животных ни в одном случае не отмечена гибель животного в результате развития каких-либо осложнений.

Экспериментальная модель хронической перфорации барабанной перепонки создавалась 3 шиншиллам с левой и правой стороны. Модель разработана и описана коллективом авторов Сеченовского университета [53]. Первым этапом в задненижнем квадранте формировалось миринготомическое отверстие с помощью микроиглы из стандартного отиатрического микрохирургического набора. После чего тем же инструментом по окружности перфорации выполняются четыре радиальных надреза на 12, 3, 6 и 9 ч, и образованные лоскуты треугольной формы подворачиваются внутрь к медиальной поверхности барабанной перепонки. Далее после подворачивания краев перфорации в дефект устанавливалась тимпаностомическая трубка на срок 30 дней. Через 30 дней шунт удалялся, в последующем в течение 21 дня за сформированной перфорацией барабанной перепонки проводилось динамическое наблюдение с целью контроля отсутствия тенденции к самостоятельному закрытию.

Вторым этапом у правосторонних хронических перфораций ($n = 3$) была выполнена диссекция эпидермального

края («освежение краев»), закрытие перфорации не проводилось, данные барабанные перепонки составили группу – контроль БП. Левосторонние дефекты ($n = 3$) после предварительного освежения краев закрыты с помощью биоэквивалента на основе сфероидов МСК, ПЭГ-фибринового геля и коллагеновой матрицы: группа – сфероиды БП. Имплант с помощью микрощипцов и микродиссекционной иглы устанавливался на поверхность барабанной перепонки в области перфорации таким образом, чтобы края перфорации были перекрыты на 1 мм (рис. 4). В послеоперационном периоде выполнялось динамическое наблюдение за животными, медикаментозная терапия не проводилась.

Для оценки результатов эксперимента проводился эндоскопический контроль *in vivo* и морфологическое исследование через 3 мес. после имплантации в голосовые складки и на 35-й день после установки импланта в область перфорации барабанной перепонки.

Морфологическое исследование

Голосовые складки. Животные контрольных и экспериментальных групп выводились из эксперимента через 3 мес. после 2-й операции путем внутримышечного введения летальной дозы раствора тилетамина и золазепама. Горланно-трахеальный комплекс иссекался, выделялись голосовые складки с подлежащим щитовидным хрящом. Препараты фиксировались в 10%-ном нейтральном забуференном формалине и заливались в апарфиновые блоки. **Барабанные перепонки.** Животные контрольных и экспериментальных групп выводились из эксперимента на 35-й день после деэпидермизации края стойкой перфорации путем внутримышечного введения летальной дозы раствора тилетамина и золазепама. Проводилась блок-резекция височной кости с находящимися в ней фиброзным кольцом и барабанной перепонкой, для сохранения целостности барабанная перепонка отправлялась на гистологическое исследование и оценку вибрационных свойств. Фиксированные

- **Рисунок 4.** Этапы эксперимента
- **Figure 4.** Stages of the experiment



в 10%-ном нейтральном забуференном формалине ткани декальцинировали в течение 1 нед., после чего заливали в парафиновые блоки.

Срезы препаратов голосовых складок и барабанных перепонок толщиной 4–5 микрон окрашивали гематоксилином и эозином, после чего исследовали с помощью универсального микроскопа LEICA DM4000 B, оснащенного видеокамерой LEICA DFC7000 T.

РЕЗУЛЬТАТЫ

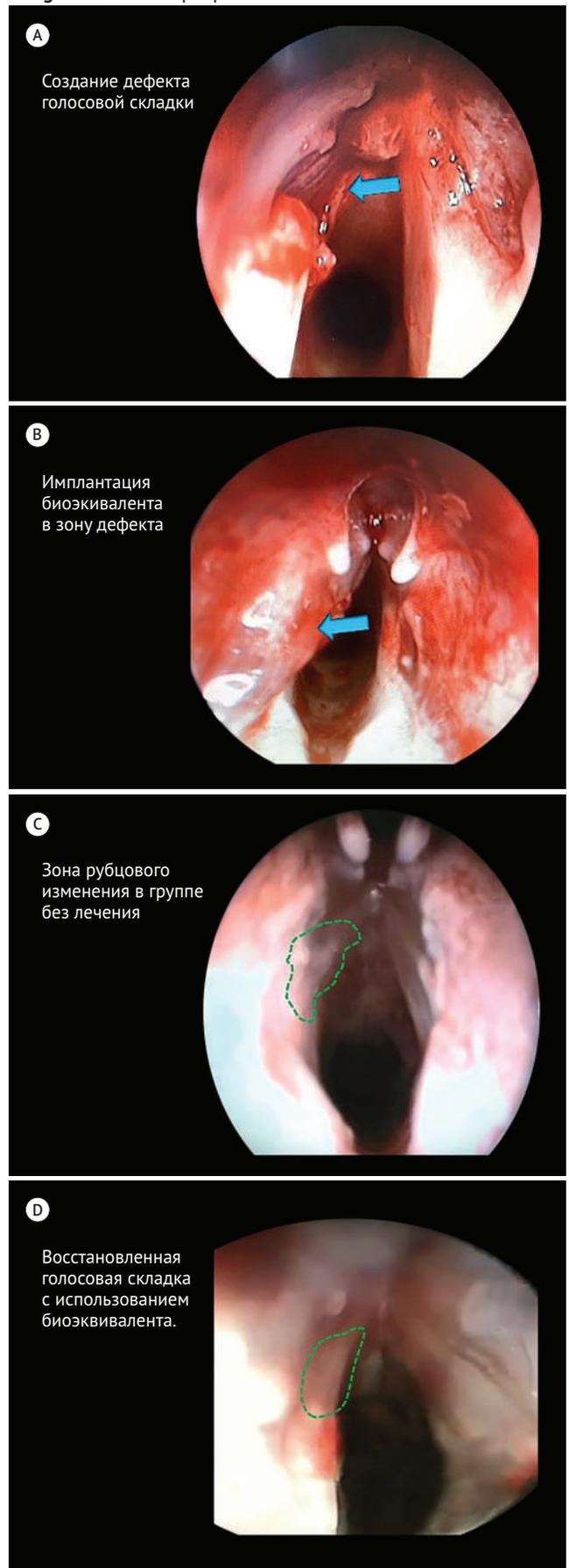
При эндоскопическом исследовании в группе рубцов голосовых складок без имплантации на месте послеоперационного дефекта визуально и тактильно определяется плотная рубцовая ткань. В группе имплантации биоэквивалента визуально ткань на месте дефекта малоотличима от противоположной правой интактной голосовой складки. Остатки импланта не определяются (рис. 5).

Морфологическое строение интактных голосовых складок в группе чистого контроля имело типичную структуру для голосовых складок кролика. В центральной части складка была выстлана неороговевающим многослойным плоским эпителием, сменяющимся на периферии многоядным мерцательным. Под эпителием находилась собственная пластинка слизистой оболочки, образованная рыхлой волокнистой соединительной тканью из продольно ориентированных пучков коллагеновых волокон и расположенных между ними фибробластов с незначительным содержанием макрофагов и лимфоцитов. Капиллярные сосуды были немногочисленны. Глубже располагался мышечный слой, в котором пучки поперечнополосатых скелетных мышечных волокон были разделены между собой тонкими соединительнотканнатыми прослойками.

В группе без имплантации площадь сформированных рубцов в области дефекта была достаточно обширна. Область дефекта голосовой складки была покрыта многослойным плоским эпителием, но с участками гипертрофии, атрофии и дистрофии. Под эпителием располагалась рубцовая ткань, состоящая из плотно и в основном продольно расположенных коллагеновых волокон, тогда как в более глубоком слое слизистой оболочки отмечалось их более рыхлое и беспорядочное расположение. Лимфо-макрофагальная инфильтрация и васкуляризация в этой группе были повышены по сравнению с нормой. Также выявлялся выраженный фиброз мышечных волокон.

В группе имплантации биоэквивалента на месте послеоперационного дефекта выявлялись незначительные рубцовые изменения слизистой оболочки. По сравнению с контрольными группами рубцы были относительно узкими и занимали не большую площадь, чем интактная слизистая оболочка. Рубец был покрыт многослойным плоским эпителием с четким расположением слоев и без признаков дистрофических изменений. Коллагеновые волокна и фибробласты в основном имеют продольную ориентацию. Васкуляризация и лимфо-макрофагальная инфильтрация были слабыми и сравнимыми с нормой. Фиброзирование мышечного слоя не выявлялось (рис. 6).

● **Рисунок 5.** Эндоскопическая картина голосовых складок
● **Figure 5.** Endoscopic picture of the vocal folds



- **Рисунок 6.** Микроскопическая картина интактной и восстановленных голосовых связок
- **Figure 6.** Microscopic picture of intact and restored vocal cords

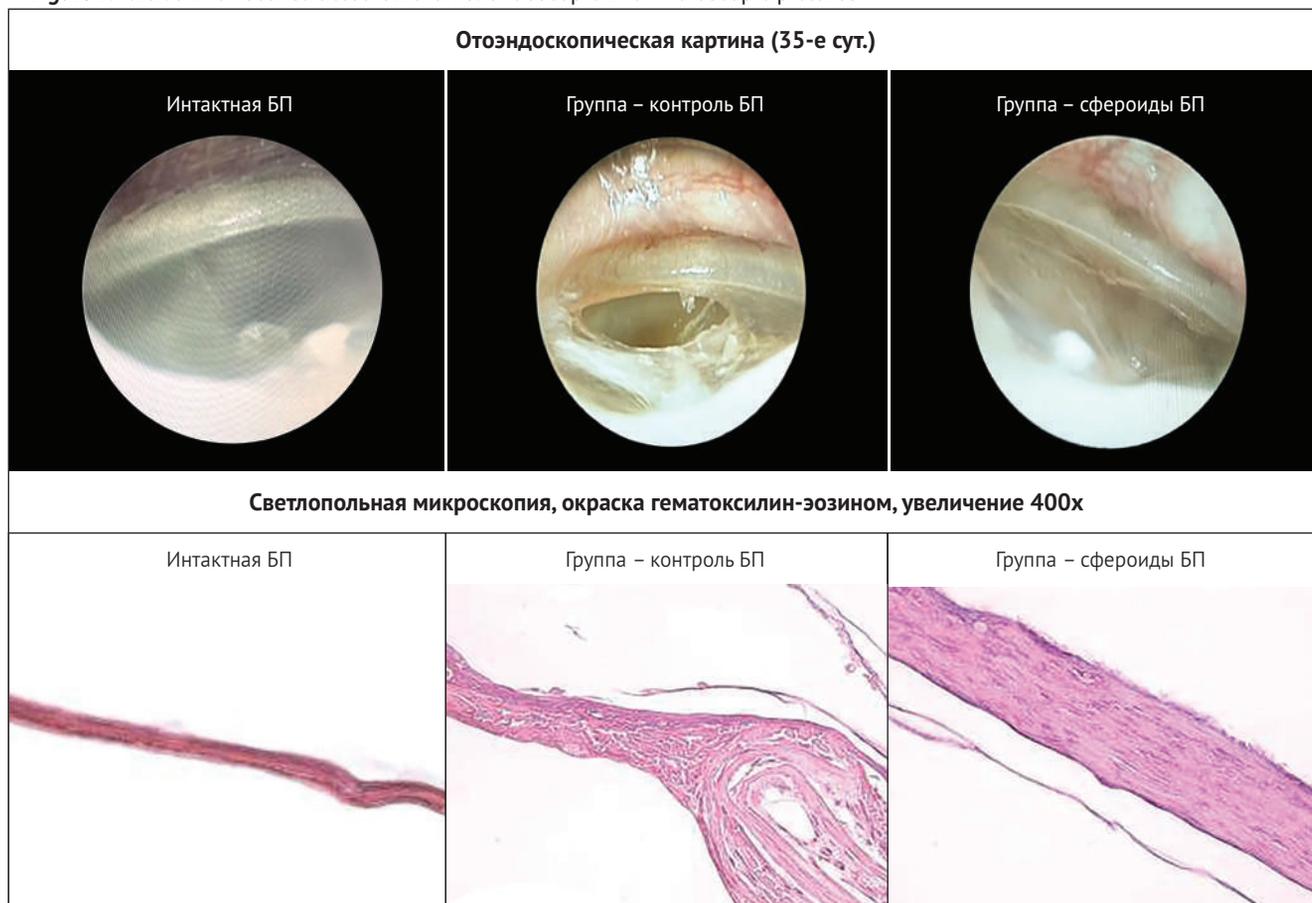


По результатам эндоскопического исследования закрытие правосторонних перфораций ($n = 3$) (БП, контрольная группа) не наблюдалось ни у одного животного, что говорит о том, что перфорация, созданная по описанному методу, является стойкой. На 35-е сут. у всех животных ($n = 3$ правосторонних БП) наблюдалась практически полная резорбция биоэквивалента, остатки материала удалены с помощью вакуумного отсоса. При эндоотоскопии визуализировали малозаметный рубец в зоне перфорации (рис. 7).

Морфология. Интактная БП

На всем протяжении барабанная перепонка была очень тонкой и немного утолщалась лишь в краевых участках, в местах прикрепления к кости. Ткань барабанной перепонки состояла из трех слоев: поверхностный слой на наружной стороне был представлен многослойным плоским эпителием, глубже был расположен слой рыхлой волокнистой соединительной ткани и с внутренней стороны находился однослойный кубический эпителий. В контрольной группе (стойкая перфорация)

- **Рисунок 7.** Нативная и восстановленные барабанные перепонки: отоэндоскопическая и микроскопическая картины
- **Figure 7.** Native and reconstructed eardrums: endoscopic and microscopic pictures



барабанная перепонка была резко утолщена по всей длине, особенно в области дефекта (рис. 4), и состояла из фиброзной ткани разной степени зрелости. В более зрелых участках фиброзная ткань утончалась, уплотнялась и состояла из продольно ориентированных и плотно расположенных коллагеновых волокон и многочисленных фибробластов, клеток воспаления и кровеносных сосудов. В рыхлых зонах утолщения часто наблюдалась гиперплазия многослойного плоского эпителия, отмечалось разволокнение компонентов барабанной перепонки в виде переплетающихся тяжей и тонких новообразованных коллагеновых волокон, выявлялись многочисленные сосуды и высокая лимфо-макрофагальная инфильтрация, что свидетельствовало о тимпаните – воспалении барабанной перепонки после нанесения перфорации. В экспериментальной группе (биоэквивалент) барабанная перепонка была незначительно утолщена по всей длине или в области дефекта. Большая часть барабанной перепонки была представлена плотными участками из фиброзной ткани, состоящей из плотно и продольно расположенных коллагеновых волокон и немногочисленных фибробластов между ними. В фиброзной ткани отсутствовала воспалительная инфильтрация и содержание сосудов было минимальным. Утолщение барабанной перепонки в области дефекта снаружи с обеих сторон было выстлано эпителием нормальной структуры, а внутри заполнено переплетающимися коллагеновыми пучками и фибробластами (рис. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время для восстановления целостности барабанной перепонки используются различные виды материалов [3, 4, 11–15], однако их применение во многом зависит от опыта хирурга, не обеспечивает полноценное восстановление функциональных особенностей ткани, а также сопряжено с риском развития реперфорации.

Аналогичной проблемой являются рубцовые изменения голосовых складок – существующие методы лечения не позволяют полностью восстановить анатомическую структуру голосовых складок, что ограничивает их функциональные возможности и не приводит к желаемым результатам [5, 20, 29–35].

В настоящее время проводятся исследования по разработке оптимального скаффолда для восстановления микроструктуры как барабанной перепонки, так и голосовых складок. Многие из них уже доказали свою эффективность [39–42].

В нашем исследовании в качестве скаффолда был выбран ПЭГ-фибриновый гидрогель, содержащий МСК, т. к. данная конструкция уже доказала свою эффективность в ходе экспериментов [44, 45]. С помощью 3D-биопечати на основе коллагеновой матрицы создавались трехмерные структуры клеток, в дальнейшем использующиеся в качестве биоэквивалента.

Для закрытия стойкой перфорации барабанной перепонки также использовались 3D-конструкты на основе коллагеновой матрицы и МСК человека.

Целью данных экспериментов было оценить возможность и эффективность применения трехмерных биоэквивалентов для восстановления дефектов вибрирующих тканей лор-органов – голосовых складок и барабанной перепонки.

3D-клеточные биоэквиваленты показали хорошую биодegradируемость (через 3 мес. в группе – сфероиды ГС визуально ткань малоотличима от интактной ГС, на 35-е сут. в группе – сфероиды БП – практически полная резорбция биоэквивалента).

Также многообещающими являются результаты гистологического исследования: в группе – сфероиды ГС наблюдается более полное восстановление структуры ГС по отношению к группе – контроль ГС (рубцы узкие, коллагеновые волокна и фибробласты имеют продольную ориентацию, наблюдается восстановление эпителия, по структуре практически не отличающегося от нативного). В группе – сфероиды БП восстановленная ткань имела структуру, более приближенную к нативной по сравнению с группой контроля (ткань БП состояла из плотно и продольно расположенных коллагеновых волокон и фибробластов). Кроме того, принципиальным отличием было отсутствие воспалительной инфильтрации в фиброзной ткани в группе – сфероиды БП, в то время как в группе – контроль БП наблюдалась высокая лимфо-макрофагальная инфильтрация.

Таким образом, результаты, полученные в ходе данного эксперимента, открывают перспективу для дальнейших исследований применения клеточных технологий для восстановления близкой к нативной структуры вибрирующих органов, что обеспечит не только анатомическое восполнение дефекта, но также позволит восстанавливать функциональную активность органов, сниженную вследствие патологического процесса.

ВЫВОДЫ

Имплантиция разработанных биоэквивалентов в места повреждения голосовых складок приводит к формированию ткани, морфологически приближающейся к структуре интактных голосовых складок. Уменьшается размер, толщина и плотность рубцов, происходит восстановление архитектуры и строения коллагеновых волокон. Тканеинженерные имплантаты также показали высокую эффективность в регенерации дефектов барабанной перепонки – полное закрытие острых и хронических перфораций в контрольных точках наблюдения. Следует отметить восстановление фиброзного слоя барабанной перепонки.

Дальнейшее развитие данного направления и разработка технологий лечения на основе биоинженерных имплантов позволят повысить эффективность лечения пациентов с рубцовыми повреждениями голосового отдела гортани и тугоухостью.



Список литературы / References

- Seonwoo H, Kim SW, Kim J, Chunjie T, Lim KT, Kim YJ et al. Regeneration of chronic tympanic membrane perforation using an EGF-releasing chitosan patch. *Tissue Eng Part A*. 2013;19(17-18):2097–2107. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEA.2012.0617>.
- Rana AK, Upadhyay D, Yadav A, Prasad S. Correlation of Tympanic Membrane Perforation with Hearing Loss and Its Parameters in Chronic Otitis Media: An Analytical Study. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2020;72(2):187–193. <https://doi.org/10.1007/s12070-019-01740-9>.
- Hussain Z, Pei R. Necessities, opportunities, and challenges for tympanic membrane perforation scaffolding-based bioengineering. *Biomed Mater*. 2021;16(3). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ABC5FD>.
- Aleemardani M, Bagher Z, Farhadi M, Chahsetareh H, Najafi R, Eftekhari B et al. Can Tissue Engineering Bring Hope to the Development of Human Tympanic Membrane? *Tissue Eng Part B Rev*. 2021;27(6):572–589. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2020.0176>.
- Нажмудинов ИИ, Вавин ВВ, Давудов ХШ, Гарашченко ТИ, Давудова БХ, Магомедова КМ, Хоранова МЮ. Варианты хирургического лечения рубцовых стенозов среднего (складкового) отдела гортани. *Медицинский совет*. 2019;(21):118–125. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-21-118-125>.
Nazhmudinov II, Vavin VV, Davudov KhSh, Garashchenko TI, Davudova BKh, Magomedova KM, Khoranova MYu. Options for surgical treatment of cicatricial stenoses of the middle (folded) larynx. *Meditsinskiy Sovet*. 2019;(21):118–125. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2019-21-118-125>.
- Гарашченко ТИ, Назарочкин ЮВ, Бойкова НЭ, Стройков МА, Аведисян ВЭ. Осложнения интубации трахеи и трахеотомии после длительной искусственной вентиляции легких у детей. *Вопросы практической педиатрии*. 2015;10(5):68–72. Режим доступа: <https://www.phdynasty.ru/katalog/zhurnaly/voprosy-prakticheskoy-pediatrii/2015/tom-10-nomer-5/26761>.
Garashchenko TI, Nazarochkin YuV, Boykova NE, Stroykov MA, Avedisyan VE. Complications of tracheal intubation and tracheostomy after long-term assisted lung ventilation in children. *Clinical Practice in Pediatrics*. Available at: <https://www.phdynasty.ru/katalog/zhurnaly/voprosy-prakticheskoy-pediatrii/2015/tom-10-nomer-5/26761>.
- Friedrich G, Dikkers FG, Arens C, Remacle M, Hess M, Giovanni A et al. Vocal fold scars: Current concepts and future directions. Consensus report of the phonosurgery committee of the European laryngological society. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2013;270(9):2491–2507. <https://doi.org/10.1007/S00405-013-2498-9>.
- Hantzakos A, Dikkers FG, Giovanni A, Benninger MS, Remacle M, Sjögren EV, Woo P. Vocal fold scars: a common classification proposal by the American Laryngological Association and European Laryngological Society. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2019;276(8):2289–2292. <https://doi.org/10.1007/s00405-019-05489-3>.
- Hirano S. Current treatment of vocal fold scarring. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2005;13(3):143–147. <https://doi.org/10.1097/01.mo.0000162261.49739.b7>.
- Ремакль М, Эккель ХЭ, Янова ЮК (ред.). *Хирургия гортани и трахеи*. М.: БИНОМ; 2014. 198 с. Режим доступа: <https://glavkniga.ru/filecont/50071.pdf>
- Maharajan N, Cho GW, Jang CH. Application of mesenchymal stem cell for tympanic membrane regeneration by tissue engineering approach. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2020;133. <https://doi.org/10.1016/j.ijporl.2020.109969>.
- Azimi B, Milazzo M, Danti S. Cellulose-Based Fibrous Materials From Bacteria to Repair Tympanic Membrane Perforations. *Front Bioeng Biotechnol*. 2021;9:669863. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.669863>.
- Fisch U, May JS, Linder T. Tympanoplasty, Mastoidectomy, and Stapes Surgery, 2nd edn. *Ann R Coll Surg Engl*. 2010;92(1):81. Available at: https://www.researchgate.net/publication/317058345_Tympanoplasty_Mastoidectomy_and_Stapes_Surgery_2nd_edn.
- Zahnert T, Bornitz M, Hüttenbrink KB. Acoustic and mechanical properties of tympanic membrane transplants. *Laryngorhinootologie*. 1997;76(12):717–723. <https://doi.org/10.1055/S-2007-997513>.
- Heermann H. Tympanoplasty with fascial tissue taken from the temporal muscle after straightening the anterior wall of the auditory meatus. *HNO*. 1961;9:136–137. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13712731/>.
- Villar-Fernandez MA, Lopez-Escamez JA. Outlook for Tissue Engineering of the Tympanic Membrane. *Audiol Res*. 2015;5(1):117. <https://doi.org/10.4081/AUDIORES.2015.117>.
- Крюков АИ, Гуров АВ, Кирасирова ЕА, Кулабухов ЕВ. Современные методы профилактики и терапии осложненной при реконструктивной хирургии у пациентов со стенозом гортани и трахеи. *Вестник оториноларингологии*. 2019;84(6):48–53. <https://doi.org/10.17116/otorino20198406148>.
Krukov AI, Gurov AV, Kirasirova EA, Kulabuhov EV. Modern methods of the prevention and treatment of complications in reconstructive surgery in patients with stenosis of the larynx and trachea. *Vestnik Oto-Rino-Laringologii*. 2019;84(6):48–53. (In Russ.) <https://doi.org/10.17116/otorino20198406148>.
- Benninger MS, Alessi D, Archer S, Bastian R, Ford C, Koufman J et al. Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1996;115(5):474–482. <https://doi.org/10.1177/019459989611500521>.
- Remacle M, Lawson G, Hedayat A, Trussart C, Jamart J. Medialization framework surgery for voice improvement after endoscopic cordectomy. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2001;258(6):267–271. <https://doi.org/10.1007/s004050100350>.
- Martinez Arias A, Remacle M, Lawson G. Treatment of vocal fold scar by carbon dioxide laser and collagen injection: retrospective study on 12 patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2010;267(9):1409–1414. <https://doi.org/10.1007/s12070-010-01740-9>.
- Finck CL, Harmegnies B, Remacle A, Lefebvre P. Implantation of esterified hyaluronic acid in microdissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: short- and long-term results. *J Voice*. 2010;24(5):626–635. <https://doi.org/10.1016/J.VOICE.2008.12.015>.
- Mortensen MM, Woo P, Ivey C, Thompson C, Carroll L, Altman K. The Use of the Pulse Dye Laser in the Treatment of Vocal Fold Scar: A Preliminary Study. *Laryngoscope*. 2008;118(10):1884–1888. <https://doi.org/10.1097/MLG.0b013e31817d7546>.
- Neuenschwander MC, Sataloff RT, Abaza MM, Hawkshaw MJ, Reiter D, Spiegel JR. Management of Vocal Fold Scar with Autologous Fat Implantation. *J Voice*. 2001;15(2):295–304. [https://doi.org/10.1016/S0892-1997\(01\)00031-5](https://doi.org/10.1016/S0892-1997(01)00031-5).
- Sataloff RT, Spiegel JR, Heuer RJ, Baroody MM, Emerich KA, Hawkshaw MJ, Rosen DC. Laryngeal mini-microflap: a new technique and reassessment of the microflap saga. *J Voice*. 1995;9(2):198–204. [https://doi.org/10.1016/S0892-1997\(05\)80253-X](https://doi.org/10.1016/S0892-1997(05)80253-X).
- Schneider B, Denk D, Bigenzahn W. Functional Results After External Vocal Fold Medialization Thyroplasty With the Titanium Vocal Fold Medialization Implant. *Laryngoscope*. 2003;113(4):628–634. <https://doi.org/10.1097/00005537-200304000-00008>.
- Sulica L, Rosen CA, Postma GN, Simpson B, Amin M, Courey M, Merati A. Current practice in injection augmentation of the vocal folds: indications, treatment principles, techniques, and complications. *Laryngoscope*. 2010;120(2):319–325. <https://doi.org/10.1002/LARY.20737>.
- Tsunoda K, Kondou K, Kaga K, Niimi S, Baer T, Nishiyama K, Hirose H. Autologous Transplantation of Fascia into the Vocal Fold: Long-Term Result of Type-1 Transplantation and the Future. *Laryngoscope*. 2005;115(S108):1–10. <https://doi.org/10.1097/01.mlg.0000183966.72921.31>.
- Вавин ВВ, Давудов ХШ, Гарашченко ТИ, Юнусов АС, Нажмудинов ИИ, Поляков ДП. Использование CO₂-лазера в эндоларингеальной хирургии постинтубационных стенозов гортани у детей. *Вопросы практической педиатрии*. 2019;14(5):34–38. <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2019-5-34-38>.
Vavin VV, Davudov KhSh, Garashchenko TI, Yunusov AS, Nazhmudinov II, Polyakov DP. Utility of CO₂ laser in endolaryngeal surgery for postintubation laryngeal stenosis in children. *Clinical Practice in Pediatrics*. 2019;14(5):34–38. (In Russ.) <https://doi.org/10.20953/1817-7646-2019-5-34-38>.
- Вавин ВВ, Нажмудинов ИИ, Давудов ХШ, Гарашченко ТИ, Давудова БХ, Магомедова КМ, Хоранова МЮ. Микрохирургия хронических постинтубационных стенозов гортани с использованием CO₂-лазера. *Медицинский совет*. 2020;(6):132–138. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-6-132-138>.
Vavin VV, Nazhmudinov II, Davudov KhSh, Garashchenko TI, Davudova BKh, Magomedova KM, Khoranova MYu. Microsurgery of chronic post-intubation laryngeal stenosis using a CO₂-laser. *Meditsinskiy Sovet*. 2020;(6):132–138. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-6-132-138>.
- Вавин ВВ, Нажмудинов ИИ, Давудов ХШ, Гарашченко ТИ, Давудова БХ, Магомедова КМ, Хоранова МЮ. Особенности применения CO₂-лазера при хирургическом лечении хронических рубцовых стенозов гортани. *Медицинский совет*. 2020;(6):108–113. <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-6-108-113>.
Vavin VV, Nazhmudinov II, Davudov KhSh, Garashchenko TI, Davudova BKh, Magomedova KM, Khoranova MYu. Features of CO₂-laser application in surgical treatment of chronic cicatricial stenoses of the larynx. *Meditsinskiy Sovet*. 2020;(6):108–113. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2020-6-108-113>.
- Нажмудинов ИИ, Гусейнов ИГ, Давудов ХШ, Магомедова КМ, Вавин ВВ, Давудова БХ и др. *Способ лечения рубцового стеноза голосового отдела гортани в области передней комиссуры*. Патент RU 2729354 C1, 05.12.2019. Режим доступа: https://i.moscow/patents/ru2729354c1_20200807.
- Захарова МЛ, Павлов ПВ. *Способ ларинготрахеопластики при сочетанных межголосовых и подголосовых стенозах гортани*. Патент RU 2665458 C1, 29.08.2018. Режим доступа: <https://patenton.ru/patent/RU2665458C1.pdf>.
- Крюков АИ, Кунельская НЛ, Кирасирова ЕА, Пиминиди ОК, Лафуткина НВ, Мамедов РФ. *Способ послеоперационного протезирования голосового отдела гортани после ларингопластики и стент для его осуществления*. Патент RU 2609777 C, 03.02.2017. Режим доступа: https://i.moscow/patents/ru2609777c1_20170203.
- Цветков ЭА, Павлов ПВ, Попов АВ. *Способ лечения мембран гортани и эндопротез для его осуществления*. Патент RU 2153300 C2, 27.07.2000. Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/RU2153300C2/ru>.

35. Graupp M, Bachna-Rotter S, Gerstenberger C, Friedrich G, Fröhlich-Sorger E, Kiesler K, Gugatschka M. The unsolved chapter of vocal fold scars and how tissue engineering could help us solve the problem. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016;273(9):2279–2284. <https://doi.org/10.1007/s00405-015-3668-8>.
36. Mattei A, Magalon J, Bertrand B, Philandrianos C, Veran J, Giovanni A. Cell therapy and vocal fold scarring. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2017;134(5):339–345. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2017.06.006>.
37. Свистушкин ВМ, Старостина СВ, Люндуп АВ, Дедова МГ, Будейкина ЛС, Свистушкин МВ и др. Возможности клеточных технологий в лечении рубцовых поражений голосовых складок. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016;71(3):190–199. <https://doi.org/10.15690/vramn586>.
38. Li L, Stiadle JM, Lau HK, Zerdoum AB, Jia X, Thibeault SL, Kiick KL. Tissue engineering-based therapeutic strategies for vocal fold repair and regeneration. *Biomaterials*. 2016;108:91–110. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2016.08.054>.
39. Ohno S, Hirano S, Kanemaru S, Kitani Y, Kojima T, Tateya I et al. Implantation of an atelocollagen sponge with autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for treatment of vocal fold scarring in a canine model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2011;120(6):401–408. <https://doi.org/10.1177/000348941112000610>.
40. Kanemaru S, Nakamura T, Omori K, Kojima H, Magruffov A, Hiratsuka Y et al. Regeneration of the vocal fold using autologous mesenchymal stem cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2003;112(11):915–920. <https://doi.org/10.1177/000348940311201101>.
41. Lee BJ, Wang SG, Lee JC, Jung JS, Bae YC, Jeong HJ et al. The prevention of vocal fold scarring using autologous adipose tissue-derived stromal cells. *Cells Tissues Organs*. 2006;184(3-4):198–204. <https://doi.org/10.1159/000099627>.
42. Hiwatashi N, Hirano S, Suzuki R, Kawai Y, Mizuta M, Kishimoto Y et al. Comparison of ASCs and BMSCs combined with atelocollagen for vocal fold scar regeneration. *Laryngoscope*. 2016;126(5):1143–1150. <https://doi.org/10.1002/LARY.25667>.
43. Park H, Karajanagi S, Wolak K, Aanstad J, Daheron L, Kobler JB et al. Three-dimensional hydrogel model using adipose-derived stem cells for vocal fold augmentation. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(2):535–543. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEA.2009.0029>.
44. Long JL, Neubauer J, Zhang Z, Zuk P, Berke GS, Chhetri DK. Functional testing of a tissue-engineered vocal fold cover replacement. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(3):438–440. <https://doi.org/10.1016/j.otohns.2009.11.020>.
45. Remacle M, Eckel HE (eds.). *Surgery of Larynx and Trachea*. Springer; 2010. 308 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-79136-2>.
46. Jang CH, Cho YB, Yeo M, Lee H, Min EJ, Lee BH, Kim GH. Regeneration of chronic tympanic membrane perforation using 3D collagen with topical umbilical cord serum. *Int J Biol Macromol*. 2013;62:232–240. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.08.049>.
47. Kanemaru SI, Kanai R, Omori K, Yamamoto N, Okano T, Kishimoto I et al. Multicenter phase III trial of regenerative treatment for chronic tympanic membrane perforation. *Auris Nasus Larynx*. 2021;48(6):1054–1060. <https://doi.org/10.1016/j.anl.2021.02.007>.
48. Kim SH, Jeong JY, Park HJ, Moon BM, Park YR, Lee OJ et al. Application of a Collagen Patch Derived from Duck Feet in Acute Tympanic Membrane Perforation. *Tissue Eng Regen Med*. 2017;14(3):233–241. <https://doi.org/10.1007/s13770-017-0039-0>.
49. Teh BM, Marano RJ, Shen Y, Friedland PL, Dilley RJ, Atlas MD. Tissue engineering of the tympanic membrane. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013;19(2):116–132. <https://doi.org/10.1089/TEN.TEB.2012.0389>.
50. Li X, Zhang H, Zhang Y. Repair of large traumatic tympanic membrane perforation using ofloxacin otic solution and gelatin sponge. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2022;88(1):9–14. <https://doi.org/10.1016/j.bjorl.2020.03.007>.
51. Rezvani Ghomi E, Nourbakhsh N, Akbari Kenari M, Zare M, Ramakrishna S. Collagen-based biomaterials for biomedical applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2021;109(12):1986–1999. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.34881>.
52. Svistushkin MV, Kotova S, Shpichka A, Starostina S, Shekhter A, Bikmulina P et al. Stem cell therapy for vocal fold regeneration after scarring: a review of experimental approaches. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13:176. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-02853-9>.
53. Mokoyan Z, Svistushkin V, Zolotova A, Svistushkin M. Chronic tympanic membrane perforation: Histopathological evidence of the experimental model. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2021;151:110964. <https://doi.org/10.1016/j.ijporel.2021.110964>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – В.М. Свистушкин, П.С. Тимашев

Концепция и дизайн исследования – М.В. Свистушкин, А.И. Шпичка

Написание текста – М.В. Свистушкин

Сбор и обработка материала – Н.Б. Сержникова, И.А. Тычкина

Обзор литературы – А.А. Бакулина, А.Н. Никифорова

Анализ материала – П.Ю. Бикмулина

Статистическая обработка – Е.А. Шевчик, П.А. Кочетков

Редактирование – А.В. Золотова, Л.В. Селезнева

Утверждение окончательного варианта статьи – В.М. Свистушкин, П.С. Тимашев

Contribution of authors:

Concept of the article – Valery M. Svistushkin, Peter S. Timashev

Study concept and design – Mikhail V. Svistushkin, Anastasia I. Shpichka

Text development – Mikhail V. Svistushkin

Collection and processing of material – Natalia B. Serejnikova, Irina A. Tyckina

Literature review – Alesia A. Bakulina, Anna N. Nikiforova

Material analysis – Polina Y. Bikmulina

Statistical processing – Elena A. Shevchik, Petr A. Kochetkov

Editing – Anna V. Zolotova, Liliya V. Selezneva

Approval of the final version of the article – Valery M. Svistushkin, Peter S. Timashev

Информация об авторах:

Свистушкин Михаил Валерьевич, к.м.н., ассистент кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-8552-1395>; svistushkin_m_v@staff.sechenov.ru

Бакулина Аlesia Алексеевна, аспирант, Научно-технологический парк биомедицины, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <https://orcid.org/0000-0001-9885-9160>; bakulina_a_a@staff.sechenov.ru

Бикмулина Полина Юрьевна, руководитель, Дизайн-центр «Биофабрика», Научно-технологический парк биомедицины, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <https://orcid.org/0000-0003-2761-5323>; bikmulina_p_yu@staff.sechenov.ru

Золотова Анна Владимировна, к.м.н., доцент кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-3700-7367>; zolotova.anna.vl@gmail.com

Селезнева Лилия Валерьевна, к.м.н., ассистент кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-5296-0463>; selezneva_l_v@staff.sechenov.ru

Шевчик Елена Александровна, к.м.н., доцент кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-0051-3792>; shevchik_e_a@staff.sechenov.ru

Кочетков Петр Александрович, д.м.н., профессор кафедры болезней уха, горла и носа, заведующий отделением оториноларингологии, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-5778-629X>; kochetkov_p_a@staff.sechenov.ru

Сережنيкова Наталия Борисовна, к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цифрового микроскопического анализа, Научно-технологический парк биомедицины Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <https://orcid.org/0000-0002-4097-1552>; serezhnikova_n_b@staff.sechenov.ru

Никифорова Анна Николаевна, ординатор первого года обучения кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени И.М. Сеченова (Сеченовский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0001-8850-004X>; James.ann@mail.ru

Тычкина Ирина Алексеевна, ординатор кафедры болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0003-2464-0742>; tychkina_i_a@student.sechenov.ru

Шпичка Анастасия Иосифовна, к.б.н., доцент, заведующая лабораторией, прикладной микрофлюидики, Научно-технологический парк биомедицины, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <https://orcid.org/0000-0002-9918-9979>; shpichka_a_i@staff.sechenov.ru

Свистушкин Валерий Михайлович, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой, директор клиники болезней уха, горла и носа, Институт клинической медицины имени Н.В. Склифосовского, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 6, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0001-7414-1293>; svistushkin_v_m@staff.sechenov.ru

Тимашев Петр Сергеевич, д.х.н., профессор, директор, Научно-технологический парк биомедицины, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119048, Россия, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; <https://orcid.org/0000-0001-7773-2435>; timashev_p_s@staff.sechenov.ru

Information about the authors:

Mikhail V. Svistushkin, Cand. Sci. (Med.), Assistant of the Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8552-1395>; svistushkin_m_v@staff.sechenov.ru

Alesia A. Bakulina, Postgraduate Student, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9885-9160>; bakulina_a_a@staff.sechenov.ru

Polina Y. Bikmulina, Head, Biofabrika Design Center, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2761-5323>; bikmulina_p_yu@staff.sechenov.ru

Anna V. Zolotova, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3700-7367>; zolotova.anna.vl@gmail.com

Liliya V. Selezneva, Cand. Sci. (Med.), Assistant of the Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5296-0463>; selezneva_l_v@staff.sechenov.ru

Elena A. Shevchik, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0051-3792>; shevchik_e_a@staff.sechenov.ru

Petr A. Kochetkov, Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Ear, Throat and Nose Diseases, the Head of the Department of Otorhinolaryngology, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5778-629X>; kochetkov_p_a@staff.sechenov.ru

Natalia B. Serezhnikova, Cand. Sci. (Bio.), Senior Researcher of the Laboratory of Digital Microscopic Analysis, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4097-1552>; serezhnikova_n_b@staff.sechenov.ru

Anna N. Nikiforova, Resident, Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8850-004X>; James.ann@mail.ru

Irina A. Tychkina, Resident at the Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2464-0742>; tychkina_i_a@student.sechenov.ru

Anastasia I. Shpichka, Cand. Sci. (Bio.), Head of the Laboratory of Applied Microfluidics, Associate Professor, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9918-9979>; shpichka_a_i@staff.sechenov.ru

Valery M. Svistushkin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Director of the Clinic, Department of the Ear, Throat and Nose Diseases, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 6, Bldg. 1, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7414-1293>; svistushkin_v_m@staff.sechenov.ru

Peter S. Timashev, Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head, Biomedical Science & Technology Park, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 8, Bldg. 2, Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7773-2435>; timashev_p_s@staff.sechenov.ru