

富血小板浓缩物在鼓膜穿孔中的疗效及研究进展

黄钧涛^{1,2} 袁喆晨^{1,2} 胡时雨^{1,2} 吕翠婷^{1,2} 胡益^{1,2} 沈毅^{1,2*}

(¹宁波大学附属李惠利医院(宁波市医疗中心李惠利医院)耳鼻咽喉头颈外科, 宁波 315040;

²宁波大学医学院, 宁波 315211)

摘要 鼓膜穿孔(tympanic membrane perforation, TMP)是耳鼻咽喉科常见的疾病。急性TMP多数能自愈,而慢性TMP现主要使用手术治疗,然而现有手术治疗方法均存在缺陷,例如需要全麻、费用较高、技巧复杂等,故探究更佳的治疗方法显得尤为重要。富血小板浓缩物主要包括富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)和富血小板纤维(platelet-rich fibrin, PRF),其富含生长因子和白细胞,故可有效促进组织再生,并降低感染发生率。以往作为新型修复材料,PRP和PRF已被应用于耳科治疗TMP,并被证实在TMP愈合中具有良好的疗效。因此,该文将对近年来血小板浓缩物用于TMP修复的文献进行回顾与总结分析。

关键词 富血小板血浆;富血小板纤维;鼓膜穿孔;愈合

The Effectiveness and Research Progress of Platelet-Rich Concentrate Products in Tympanic Membrane Perforation

HUANG Juntao^{1,2}, YUAN Zhechen^{1,2}, HU Shiyu^{1,2}, LÜ Cuiting^{1,2}, HU Yi^{1,2}, SHEN Yi^{1,2*}

(¹Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Lihuli Hospital of Ningbo University (Ningbo Medical Center of Lihuli Hospital), Ningbo 315040, China; ²School of Medicine, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract TMP (tympanic membrane perforation) represents a common problem in otorhinolaryngology. Acute TMP can heal spontaneously but the chronic TMP require surgical interventions. Due to the limitation of conventional surgery including the requirements of general anesthesia, high costs and complicated surgical technologies, it is important to explore alternatives to solve these limitations. Platelet-rich concentrate products, including PRP (platelet-rich plasma) and PRF (platelet-rich fibrin). It is full of growth factors and white blood cell, which can effectively promote tissue regeneration and reduce the incidence of infection. As new materials in ontology, PRP and PRF have been applied in TM repair during the decades. This study will review and summarize the effectiveness of platelet concentrate products in the treatment of TM perforation according to previous studies.

Keywords platelet-rich plasma; platelet-rich fibrin; tympanic membrane perforation; wound healing

鼓膜穿孔(tympanic membrane perforation, TMP)均普遍存在,在一些特定人群中其发病率甚至可达是耳鼻咽喉科的常见疾病,在各国和各人种中28%~43%^[1-2]。鼓膜组织具备一定再生能力,在无感

收稿日期: 2021-02-23 接受日期: 2021-05-17

国家自然科学基金(批准号: 81670920)、浙江省医药卫生科技计划项目(批准号: 2020RC107、2020KY274)、浙江省自然科学基金(批准号: LY15H130003)、宁波市自然科学基金(批准号: 2018A610363)和宁波市惠民技术研发项目(批准号: 2015C50026)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0574-55836285, E-mail: tyzdhs@163.com

Received: February 23, 2021 Accepted: May 17, 2021

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81670920), the Zhejiang Provincial Medical and Health Science Research Foundation (Grant No.2020RC107, 2020KY274), the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (Grant No.LY15H130003), the Ningbo Natural Science Foundation (Grant No.2018A610363), and the Ningbo Huimin Technology Research and Development Project (Grant No.2015C50026)

*Corresponding author. Tel: +86-574-55836285, E-mail: tyzdhs@163.com

染或炎症情况下, 小的急性TMP通常能自愈^[3]。大的穿孔或者伴发感染可迁延不愈而成为慢性TMP, 可致中耳腔反复感染、流脓和听力下降, 并可导致耳源性颅内外并发症, 影响患者生活质量, 甚至危及生命^[2]。慢性TMP现需行手术治疗以清除中耳病灶并修复穿孔^[4], 而采用自体移植物的鼓室成形术是目前临床治疗TMP的金标准, 具有较高的穿孔愈合率^[1,4]。常见自体移植材料包括颞肌筋膜、软骨、脂肪组织等, 但此类自体移植均存在一定缺陷^[1,5]。对于边缘性穿孔或完全穿孔患者, 因移植周围缺乏足够的残余鼓膜组织, 细胞增殖移行缓慢, 在完全上皮化前移植可能发生挛缩或坏死, 导致手术效果不理想、失败率较高^[4,6]。此外, 术后感染也是影响鼓膜愈合的重要因素, 持续感染导致移植坏死, 致使鼓膜再次穿孔, 患者需行二次手术治疗, 增加了相应风险与经济负担。故目前仍需探究更佳的鼓膜再生修复方法来促进鼓膜细胞再生, 加快鼓膜上皮增殖与迁移, 并减少感染几率, 从而提高鼓膜移植存活率, 为TMP治疗提供新的策略^[1,4,5]。

血小板浓缩物是血液离心分层后的中间层产物, 常见的浓缩产物包括富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)和富血小板纤维(platelet-rich fibrin, PRF)^[7-8]。以往研究表明, 血小板浓缩物能有效促进创伤愈合, 并可降低创面感染发生率^[7]。近年来, 此类材料被应用于耳科, 主要用于治疗急慢性TMP, 并取得一定疗效^[5,7-8]。然而, 此类生物活性材料在耳科领域的应用时间较短, 各类对血小板浓缩物的使用方法的报道并不完全一致, 目前尚无统一的临床治疗方案。因此, 本文将回顾以往国内外公开发表的文献, 以对血小板浓缩物治疗TMP的研究进展进行归纳总结。

1 PRP及PRF修复穿孔的作用机制

鼓膜具有一定的组织再生能力, 其鳞状上皮层及黏膜上皮层在无感染和炎症情况下, 通常能够自愈^[1,5,9], 但其中间纤维层因最后愈合而时常不愈, 使自愈鼓膜组织较正常鼓膜薄弱, 故易发生再次穿孔^[3,10]。对于较大TMP, 因细胞移行时缺乏足够支架组织引导而常常不能完全自愈。据文献报道, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)或碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等生长因子药物可有效促进TMP愈合, 尤其可促进鼓膜纤

维层的细胞再生, 使愈合的鼓膜组织结构完整, 并与正常鼓膜相一致^[1,3]。人体血液中富含生长因子及胶原纤维, 故浓缩物对于鼓膜组织再生具有类似的促进作用^[4,7]。PRP与PRF中所含的生长因子主要包括血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、转化生长因子 α 、转化生长因子 β 、表皮生长因子、成纤维细胞生长因子、胰岛素样生长因子和血小板衍生血管生成因子, 可促进细胞增殖和迁移、以及血管再生^[4,7-8]。此外, PRP和PRF也可防止鼓膜穿孔边缘组织脱水, 而局部湿润微环境有助于鼓膜创面愈合, 并可减少瘢痕组织形成^[11-12]。作为自体生物活性材料, 除含有诸多生长因子外, 血小板浓缩物中还含有大量的纤维蛋白和纤维连接蛋白, 故在穿孔愈合过程中可引导细胞移行与增殖, 对大的TMP具有重要临床意义^[13]。

2 动物实验应用

ERKILET等^[14]研究了富血小板血浆在大鼠鼓膜穿孔中的治疗效果, 在44例双侧鼓膜穿孔大鼠模型中, 每只大鼠右耳使用PRP治疗, 左耳作为对照而不作处理, 结果显示, 右耳平均愈合时间(10.2 \pm 2.1)天较左耳(13.0 \pm 2.9)天缩短2.8天, 具有统计学意义, 双侧鼓膜的形态组织在愈合过程的各时间点也均相似。ENSARI等^[15]使用PRF进行了类似研究, 在双侧TMP大鼠模型自身配对研究中, PRF组穿孔愈合时间短于空白对照组, 并且使用PRF的鼓膜纤维组织再生和血管新生效果更佳。AKSOY等^[16]将大鼠腹部脂肪浸泡于0.5 mL PRP中修复TMP, 结果发现使用PRP后脂肪组织抗吸收能力增强、排异反应减少, 表明PRP可防止脂肪组织吸收。

3 临床治疗效果

上述动物研究表明, PRP和PRF可促进TMP愈合, 减缓脂肪移植物的吸收, 还可提高移植存活率, 具有良好的应用前景。在动物实验中得到证实后, PRP与PRF开始应用于临床TMP治疗。

3.1 穿孔愈合率

穿孔愈合率是评价TMP治疗方法的最主要指标^[1,3]。既往研究表明, PRF可有效促进急性TMP愈合, 与自愈组或安慰剂相比较, 其穿孔愈合率更高。研究报道, 急性TMP使用PRF后穿孔愈合率可达93%^[8]。对于慢性TMP, 现有研究报道, 术中加用PRP

的实验组,其穿孔愈合率(85.7%~100%)较仅手术修复的对照组(77.1%~92%)高,且具有统计学差异,提示使用血小板浓缩物可进一步提高手术成功率、增加自体移植物成活率^[4,11,17-20]。该结果具有较高临床应用价值,对于大的穿孔或合并患有糖尿病的患者,移植物成活率通常较正常患者差,容易发生手术失败或术后再次穿孔,而使用PRP或PRF则可以改善病人的预后情况,减少了二次手术风险及相应医疗费用的支出。该结论在后续研究中得到证实,GOKCE等^[21]和NAIR等^[22]先后证实,对于穿孔面积大于50%的患者,常规颞肌筋膜手术修补的成功率(分别为75%和81%)较低,而PRF联合颞肌筋膜鼓室成形术的手术成功率则可提高至94%和98%。

尽管有研究报道,将PRP直接用作修补材料其手术成功率较低,11名入组患者中仅有2名患者穿孔获得修复,并在术后随访中出现再次穿孔^[23]。但该研究入组病人数量较少,并且修补方法与现有文献中的常用治疗方法不一致,其实验结果存在一定偶然性。因此,根据现有研究结果,对于急性或慢性TMP,使用PRP或PRF均可显著提高穿孔愈合率。

3.2 穿孔愈合时间

对于急性TMP而言,除穿孔愈合率外,愈合时间也是评价治疗方法有效性的重要指标。愈合时间越短,其发生感染并演变为慢性穿孔的概率也会越低。尽管目前尚无直接比较富血小板产物和常规疗法对急性穿孔愈合时间的相关研究,但HABESOGLU等^[24]报道,穿孔面积相近的两组患者,实验组使用PRF治疗1月后,其穿孔面积平均缩小至 (1.35 ± 2.53) mm²,平均愈合面积为 (9.57 ± 3.93) mm²,自然愈合组1月后平均剩余穿孔面积为 (4.44 ± 3.34) mm²,平均愈合面积为 (5.61 ± 3.74) mm²。由此可见,PRF组较自然愈合组的愈合速度更快,间接显示使用PRF可加快TMP愈合并缩短愈合时间,对于避免继发中耳感染具有重要意义。患者无需长时间保持耳道干燥,可尽早恢复体育锻炼,恢复日常生活^[1]。

3.3 听力功能康复

除愈合率和愈合时间外,听力功能评估也是评估TMP治疗效果的重要指标之一。急性TMP通常不伴有其他中耳病变,故气骨导差(air-bone gap, ABG)数值不大,当穿孔闭合后,患者听力一般较穿孔前无明显差异^[1]。而慢性穿孔因病程时间长,除中耳感染外,亦伴有听骨链中断、中耳胆脂瘤等中耳病变,对

于复杂慢性穿孔患者,手术目的为彻底清除患耳病灶,使之干耳,其次为重建听力。现有研究表明,联用PRP或PRF的实验组与手术对照组均能明显改善患耳听力,但实验组平均ABG较对照组无显著统计学差异,提示使用血小板浓缩物对于TMP听力重建并无明显作用^[3]。YADAV等^[18]研究显示,联用PRP的鼓室成形术较单独鼓室成形术,其术后听力改善更佳,具有统计学差异,且PRP组术后听力改善超10分贝的患者数量更多,较单独使用鼓室成形术改善效果更佳。然而也有研究表明,富血小板浓缩物中的纤维结构会影响愈合鼓膜的厚度,并对鼓膜震动情况产生影响,部分频率的听力数值会逊于常规手术组^[21]。由于影响听力的因素较多,除所选用的自体移植物不同之外,研究入组的患者数量较少,大多无复杂的中耳合并症,术中无需开放乳突或植入人工听骨,且血小板浓缩物主要用于移植物近外耳道一侧,对于中耳的影响有限,故其对于术后听力的影响有待后续探究。尤其对伴有胆脂瘤需开放乳突的患者,血小板浓缩物对听力的影响仍需大样本、多中心临床研究进行明确。

3.4 并发症

感染是TMP最常见的并发症,易导致急性穿孔迁延不愈演变成慢性穿孔,亦是慢性TMP患者术后移植物愈合欠佳或坏死,从而导致手术失败的主要原因。以往使用EGF、bFGF等生长因子治疗TMP的经验表明,生长因子浓度过高可导致中耳炎症,患者可出现持续性耳漏^[1,3]。虽然有研究报道此类因生长因子浓度过高引起的炎症对于穿孔最后的愈合率并无影响,仅引起鼓膜愈合时间延长,但持续性耳漏亦可影响患者生活^[25]。血小板浓缩物修复穿孔的机制主要为提取物含有大量生长因子能够促进细胞增殖和分化,但由于PRP与PRF取自血液离心物的中层,该提取物富含白细胞等抗炎因子,并对炎症细胞具有趋化作用,故对穿孔感染具有预防及治疗作用^[4,7]。现有研究表明,加用PRP的实验组患者其术后感染发生率低于对照组,PRP具有良好的抗炎、抗感染疗效。对于术后并发症的总体发生率,PRP组亦低于对照组^[4]。总之,使用血小板浓缩物可有效降低TMP感染发生率。

3.5 治疗方案的选择

由于此类材料应用于耳科时间较短,目前尚无公认、统一的治疗方案。对于急性TMP,目前主要

治疗方案与既往生长因子疗法类似, 取制备后的浓缩物直接作用于穿孔表面, 亦可负载于明胶海绵等载体后, 将负载浓缩物的材料贴附于穿孔鼓膜表面, 以修复穿孔^[24]。对于慢性穿孔, 目前主要采用两种治疗方案: 一种采用颞肌筋膜等自体移植物行鼓室成形术或鼓膜修补术, 再将PRP或PRF置于移植物的外侧, 以促进鼓膜愈合; 另一种直接将PRP或PRF作为修复材料, 在清理病灶并在鼓膜穿孔缘制作新鲜创面后, 用PRP或PRF修复穿孔, 类似于使用脂肪组织的鼓膜修补术^[4]。以上两种方法, 第二种方法虽有报道, 但其成功率较低, 与第一种方法相比, 直接将PRP或PRF作为修补材料缺乏一定的刚性及稳定性, 故移植物易在修补后发生移位或者脱落, 尤其对于伴有咽鼓管功能障碍的患者, 仅以浓缩物中的纤维结构作为修复材料对中耳负压的抵抗力较差, 修复后易发生再次穿孔。相比之下, 第一种方法是目前较为常用方法, 在鼓室成形术基础上联用PRP或PRF可进一步提高移植物成活率、降低术后并发症发生率^[4]。对于移植物的选择目前尚无定论, 已有的研究表明, 颞肌筋膜、软骨、脂肪组织联用血小板浓缩物修复鼓膜穿孔均有较高的成功率^[4]。对于以上三种移植物而言, 选择颞肌筋膜和软骨行鼓室成形术时创伤相对较大, 需延长切口获取移植物并制作鼓外耳道皮瓣。脂肪组织含有脂肪干细胞, 并可产生大量促炎症和促血管生成蛋白, 促进血管重建^[26]。使用脂肪组织行鼓膜修补术对中耳创伤相对较小, 但适应症较窄, 仅对较小面积的TMP有效, 而对于较大面积的TMP、甚至完全穿孔, 修补失败率较高^[6]。但使用PRP或PRF之后, 对于较大面积的TMP, 使用脂肪组织亦可获得较高成功率。FOUND等^[19]报道, PRP联合脂肪组织的鼓膜修补术成功率为85.7%, 与透明质酸联合脂肪的鼓膜修补术成功率(87.0%)相当。该手术方式与传统颞肌筋膜或软骨鼓室成形术的成功率也相似。故考虑手术的成功率和局部创伤, 脂肪组织联用PRP或PRF是较为适合的手术方式。

4 血小板浓缩物的优势及展望

除可提高穿孔愈合率、减少中耳感染外, 较其他生物活性分子, 富血小板浓缩物还具有其他优势。用于鼓膜再生的常见生物活性分子(例如透明质酸、EGF和bFGF)价格相对较贵, 并且储存要求高^[27]。外源性材料在治疗过程中存在发生排异反应可能, 过

高浓度的生长因子易导致中耳炎症^[3,28]。PRP和PRF取自患者的自体静脉血, 为自身生物活性材料, 具有较好生物相容性, 故不易发生排异反应, 此外制备方便、价格低廉, 因而具有广泛适用性^[21-22,24]。与第一代浓缩物PRP相比, 第二代浓缩物PRF在制备时无需加入氯化钙、凝血酶等对血液进行化学修饰药物, 故制备过程更简便, 并可避免抗V因子、XI因子和凝血酶的抗体产生, 可降低凝血疾病发生率^[29]。

尽管富血小板浓缩物在鼓膜再生过程中展现出良好的应用前景, 但目前此类生物活性材料应用于耳科治疗的时间短, 治疗方案尚待完善, 在复杂性TMP中的疗效仍需进一步评估。此外, 富血小板浓缩物的制备方法、制备浓度、治疗使用频率等也有待进一步明确。PRP与PRF间的疗效比较也需后续设计良好的随机对照实验进行研究。今后研究除比较PRP和PRF与现有治疗方法联用的疗效, 以及制定精准、详细治疗方案外, 应更侧重于富血小板浓缩物与其他生物活性材料的联用, 使用其他材料以弥补富血小板浓缩物缺乏固性、刚性及支撑力的缺陷, 从而替代自体移植物, 在获得相近或更好治疗效果同时, 减少手术相应创伤。

综上所述, 血小板浓缩物可显著促进急性TMP愈合, 缩短穿孔愈合时间, 同时也可提高自体移植物成活率, 增加慢性TMP的手术成功率。应用PRP和PRF也可降低中耳感染发生率。故现有研究表明, 该生物活性材料在TMP治疗过程中具有良好的应用前景。

参考文献 (References)

- [1] HUANG J T, TEH B M, EIKELBOOM R H, et al. The effectiveness of bFGF in the treatment of tympanic membrane perforations: a systematic review and meta-analysis [J]. *Otol Neurotol*, 2020, 41(6): 782-90.
- [2] DUBEY SP, LARAWIN V. Complications of chronic suppurative otitis media and their management [J]. *Laryngoscope*, 2007, 117(2): 264-7.
- [3] 黄钧涛, 吴淋蓉, 黎欢, 等. 表皮生长因子在鼓膜穿孔修复中的作用[J]. *国际耳鼻咽喉头颈外科杂志*(HUANG J T, WU L R, LI H, et al. Application of epidermal growth factor for the regeneration of tympanic membrane perforation [J]. *Int J Otolaryngol Head Neck Surg*), 2020, 44(3): 141-5.
- [4] HUANG J T, SHI Y B, WU L R, et al. Comparative efficacy of platelet-rich plasma applied in myringoplasty: a systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2021, 16(1): e0245968.
- [5] SHEN Y, REDMOND S L, TEH B M, et al. Tympanic membrane repair using silk fibroin and acellular collagen scaffolds [J]. *Laryngoscope*, 2013, 123(8): 1976-82.

- [6] LEE D Y, KIM Y H. Can fat-plug myringoplasty be a good alternative to formal myringoplasty? A systematic review and meta-analysis [J]. *Otol Neurotol*, 2018, 39(4): 403-9.
- [7] STAVRAKAS M, KARKOS P D, MARKOU K, et al. Platelet-rich plasma in otolaryngology [J]. *J Laryngol Otol*, 2016, 130: 1098-102.
- [8] GÜR Ö E, ENSARI N, ÖZTÜRK M T, et al. Use of a platelet-rich fibrin membrane to repair traumatic tympanic membrane perforations: a comparative study [J]. *Acta Otolaryngol*, 2016, 136(10): 1017-23.
- [9] TEH B M, MARANO R J, SHEN Y, et al. Tissue engineering of the tympanic membrane [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2013, 19(2): 116-32.
- [10] MA Y, ZHAO H, ZHOU X. Topical treatment with growth factors for tympanic membrane perforations: progress towards clinical application [J]. *Acta Otolaryngol*, 2002, 122(6): 586-99.
- [11] MANDOOR M F, ELSHEIKH M N, KHALIL M F. Platelet-rich plasma fat graft versus cartilage perichondrium for repair of medium-size tympanic membrane perforations [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2019, 160(1): 116-21.
- [12] LOU Z C, LOU Z H. A moist edge environment aids the regeneration of traumatic tympanic membrane perforations [J]. *J Laryngol Otol*, 2017, 131(7): 564-71.
- [13] NIKOLIDAKIS D, JANSEN J A. The biology of platelet-rich plasma and its application in oral surgery: literature review [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2008, 14(2): 249-58.
- [14] ERKILET E, KOYUNCU M, ATMACA S, et al. Platelet-rich plasma improves healing of tympanic membrane perforations: experimental study [J]. *J Laryngol Otol*, 2009, 123(5): 482-7.
- [15] ENSARI N, GÜR Ö E, ÖZTÜRK M T et al. The effect of platelet-rich fibrin membrane on the repair of perforated tympanic membrane: an experimental study [J]. *Acta Otolaryngol*, 2017, 137(7): 695-9.
- [16] AKSOY M A, AÇIKALIN M F, GÜRBÜZ M K, et al. Efficacy of platelet-rich plasma on fat grafts in the repair of tympanic membrane perforations: an experimental study [J]. *J Int Adv Otol*, 2018, 14(1): 58-62.
- [17] ERSOZLU T, GULTEKIN E. A Comparison of the autologous platelet-rich plasma gel fat graft myringoplasty and the fat graft myringoplasty for the closure of different sizes of tympanic membrane perforations [J]. *Ear Nose Throat J*, 2020, 99(5): 331-6.
- [18] YADAV S P S, MALIK J S, MALIK P, et al. Studying the result of underlay myringoplasty using platelet-rich plasma [J]. *J Laryngol Otol*, 2018, 132(11): 990-4.
- [19] FOUAD Y A, ABDELHADY M, EL-ANWAR M, et al. Topical platelet rich plasma versus hyaluronic acid during fat graft myringoplasty [J]. *Am J Otolaryngol*, 2018, 39(6): 741-5.
- [20] EL-ANWAR M W, EL-AHL M A S, ZIDAN A A, et al. Topical use of autologous platelet rich plasma in myringoplasty [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2015, 42(5): 365-8.
- [21] GÖKÇE K S, ÖZDAŞ T. Impact of platelet-rich fibrin therapy in tympanoplasty type 1 surgery on graft survival and frequency-specific hearing outcomes: a retrospective analysis in patients with tympanic membrane perforation due to chronic otitis media [J]. *J Laryngol Otol*, 2019, 133(12): 1068-73.
- [22] NAIR N P, ALEXANDER A, ABHISHEKH B, et al. Safety and efficacy of autologous platelet-rich fibrin on graft uptake in myringoplasty: a randomized controlled trial [J]. *Int Arch Otorhinolaryngol*, 2019, 23(1): 77-82.
- [23] ALHABIB S F, SALIBA I. Hyaluronic acid fat graft myringoplasty versus autologous platelet rich plasma [J]. *J Clin Med Res*, 2017, 9(1): 30-4.
- [24] HABESOGLU M, OYSU C, SAHIN S, et al. Platelet-rich fibrin plays a role on healing of acute-traumatic ear drum perforation [J]. *J Craniofac Surg*, 2014, 25(6): 2056-8.
- [25] LOU Z C, LOU Z. Efficacy of EGF and gelatin sponge for traumatic tympanic membrane perforations: a randomized controlled study [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2018, 159(6): 1028-36.
- [26] AILHAUD G, GRIMALDI P, NEGREL R. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development [J]. *Annu Rev Nutr*, 1992, 12: 207-33.
- [27] WONG W K, LUU E H. What is the role of hyaluronic acid ester in myringoplasty? Systematic review and meta-analysis [J]. *Otol Neurotol*, 2019, 40(7): 851-7.
- [28] ANTONELLI P J, SAMPSON E M, LANG D M. Safety and efficacy of carbomethylcellulose foam in guinea pig middle ear surgery [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2010, 142(3): 405-8.
- [29] EVERTS P A M, KNAPE J T A, WEIBRICH G, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review [J]. *J Extra Corpor Technol*, 2006, 38(2): 174-87.