

## Сравнительное исследование остеоинтеграции изготовленных с применением аддитивных технологий титановых и стальных имплантатов в большеберцовой кости кролика в условиях внешней фиксации

А.А. Еманов<sup>1</sup>, В.П. Кузнецов<sup>1,2</sup>, Е.Н. Горбач<sup>1</sup>, М.В. Стогов<sup>1</sup>, Е.А. Киреева<sup>1</sup>,  
Е.Н. Овчинников<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина» Минобрнауки России, г. Екатеринбург, Россия

### Реферат

**Актуальность.** Основными задачами успешного протезирования остаются обеспечение остеоинтеграции и инфекционной безопасности имплантатов. **Цель исследования** — сравнительный анализ остеоинтеграции изготовленных с применением аддитивной технологии титановых и стальных имплантатов в большеберцовой кости кролика в условиях дополнительной фиксации биомеханической системы аппаратом Илизарова. **Материал и методы.** Исследование выполнено на 20 кроликах-самцах породы Шиншилла. Животным первой группы ( $n = 8$ ) имплантировали изделие из нержавеющей стали марки EOS PH1 (EOS, Германия), животным второй группы ( $n = 12$ ) — из титанового сплава марки Ti6Al4V. Имплантат дополнительно фиксировали аппаратом Илизарова. Имплантаты были изготовлены с применением аддитивной технологии методом селективного лазерного сплавления на установке EOSINT M 280 (EOS, Германия). Оценку приживаемости и безопасности применения имплантатов проводили с помощью клинического, гистологического, лабораторного и статистического методов исследования. **Результаты.** У животных группы 1 было зафиксировано два случая выпадения имплантата по причине хронического воспаления, в группе 2 таких случаев отмечено не было. Во всех экспериментах через 3 нед. отмечено формирование слабоминерализованной костной ткани на поверхности имплантата, которая становилась более минерализованной к 12-й нед. эксперимента. Однако содержание кальция и соотношение Ca/P в новообразованной костной ткани в группе 2 на 3-й и 12-й нед. после имплантации было статистически значимо выше показателей животных группы 1, что свидетельствовало о большей зрелости костной ткани у животных группы 2 на всех этапах эксперимента. В группе 1 отмечали большую выраженность остеопороза компактной пластинки и более существенное нарушение кальций-фосфорного баланса. **Заключение.** Результаты исследования позволяют заключить, что приживаемость (остеоинтеграция) и безопасность изделия, выполненного из титанового сплава, была выше по сравнению с изделием из нержавеющей стали.

**Ключевые слова:** аддитивные технологии, селективное лазерное сплавление, титановый имплантат, остеоинтеграция, аппарат Илизарова.

Еманов А.А., Кузнецов В.П., Горбач Е.Н., Стогов М.В., Киреева Е.А., Овчинников Е.Н. Сравнительное исследование остеоинтеграции изготовленных с применением аддитивных технологий титановых и стальных имплантатов в большеберцовой кости кролика в условиях внешней фиксации. *Травматология и ортопедия России*. 2020;26(2):98-108. doi: 10.21823/2311-2905-2020-26-2-98-108.

**Cite as:** Emanov A.A., Kuznetsov V.P., Gorbach E.N., Stogov M.V., Kireeva E.A., Ovchinnikov E.N. [Osseointegration of Titanium and Steel Additive Manufactured Implant in Rabbit Tibia under External Fixation: Comparative Study]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2020;26(2):98-108. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2020-26-2-98-108.

Стогов Максим Валерьевич / Maksim V. Stogov; e-mail: stogo\_off@list.ru

Рукопись поступила/Received: 02.03.2020. Принята в печать/Accepted for publication: 21.04.2020.

# Osseointegration of Titanium and Steel Additive Manufactured Implant in Rabbit Tibia under External Fixation: Comparative Study

A.A. Emanov<sup>1</sup>, V.P. Kuznetsov<sup>1,2</sup>, E.N. Gorbach<sup>1</sup>, M.V. Stogov<sup>1</sup>, E.A. Kireeva<sup>1</sup>, E.N. Ovchinnikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

<sup>2</sup> Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

## Abstract

**Relevance.** The main goals of successful prosthesis remain ensuring the osseointegration and infectious safety of implants. **The purpose of the study** — the comparative analysis of osseointegration of titanium and steel additive manufactured implants in the rabbit tibia under additional fixation by Ilizarov apparatus. **Materials and Methods.** The study was performed on 20 chinchilla male rabbits. The animals of the first group ( $n = 8$ ) were implanted a stainless steel product EOS PH1 (EOS, Germany), the animals of the second group ( $n = 12$ ) — a titanium alloy Ti6Al4V product. The implant was additionally fixed by Ilizarov apparatus. The implants were processed with additive technology by selective laser fusion at the EOSINT M 280 installation (EOS, Germany). The survival and safety of the implants were assessed using clinical, histological, laboratory and statistical methods. **Results.** The implant fall due to chronic inflammation was found in 2 animals of group 1 and none in group 2. The formation of weakly mineralized bone tissue on the surface of the implant was noted in 3 weeks in all cases. The bone became more mineralized by the 12<sup>th</sup> week of the experiment. However, in group 2, the calcium content and Ca / P ratio of the newly formed bone tissue at the 3<sup>rd</sup> and 12<sup>th</sup> week after implantation were significantly higher than in the animals of group 1. This indicated the greater maturity of the bone tissue in animals of group 2 at all stages of the experiment. In group 1, the compact plate osteoporosis and calcium-phosphorus balance disturbance were greater. **Conclusion.** The results of the study indicate that the survival rate (osseointegration) and safety of the product made of the titanium alloy were higher compared with the stainless steel product.

**Keywords:** additive technology, selective laser fusion, titanium implant, stainless steel implant, osseointegration, Ilizarov apparatus.

## Введение

В настоящее время в ортопедии для решения задач протезирования выполняется множество исследований, посвященных фундаментальному и клиническому обоснованию применения разнообразных по дизайну остеоинтегрированных чрескожных имплантатов [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Основной задачей в поиске решений данной проблемы остается обеспечение приживаемости и инфекционной безопасности таких имплантатов [7, 8, 9, 10, 11].

По литературным данным, выявлено, что остеоинтеграция чрескожных имплантатов зависит от различных факторов, в том числе геометрии, рельефности, топологии [12, 13, 14] и биологических особенностей взаимодействия имплантата с костью [15, 16, 17].

В последнее время для изготовления имплантатов применяется персонализированный подход с использованием аддитивных технологий, что позволяет учитывать индивидуальные анатомические особенности пациентов, контролировать и задавать типоразмерные характеристики и параметры формирования поверхности импланта-

тов, что, несомненно, способствует улучшению результатов лечения [18, 19]. Однако до настоящего времени риск осложнений остается достаточно высоким, что часто связано с качеством сплавов, применяемых для изготовления имплантатов [20]. Доказано, что биологические жидкости могут являться агрессивной средой для металлических изделий. В связи с этим актуальны проблемы возникновения металлоза и аллергии на металл [21, 22]. Для нужд травматологии и ортопедии наиболее часто применяют сплавы железа и титана. Преимущественно авторы отмечают, что металлоз и коррозионная устойчивость медицинских имплантатов из титановых сплавов относительно выше, чем при использовании изделий из нержавеющей стали [23, 24, 25]. Тем не менее ранее нами было выявлено, что при протезировании культы голени кролика имплантатами из нержавеющей стали, изготовленными с помощью аддитивных технологий, благодаря структурированной поверхности образовывался выдерживающий достаточную опорную нагрузку костно-имплантационный блок [26].

**Цель исследования** — сравнительный анализ остеоинтеграции изготовленных с применением аддитивной технологии титановых и стальных имплантатов в большеберцовой кости кролика в условиях дополнительной фиксации биомеханической системы аппаратом Илизарова.

**Материал и методы**

*Дизайн исследования*

Поскольку в исследовании для выявления эффективности (остеоинтеграции) и безопасности имплантатов присутствует группа сравнения, а животные были распределены по группам в случайном порядке, то данную работу можно отнести к разряду контролируемых рандомизированных исследований.

*Животные*

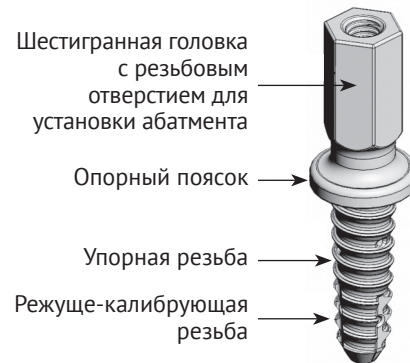
Эксперимент был выполнен на 20 кроликах-самцах породы Шиншилла. Возраст кроликов от 6 до 10 мес., средний вес 3,4±0,2 кг. Микробиологический статус — конвенциональные животные.

**Этические принципы.** До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета. Исследование проведено с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

*Характеристика имплантата*

Дизайн имплантатов является оригинальным, они изготовлены методом лазерного сплавления по аддитивной технологии (патент РФ 152558). Изготовление имплантатов методом лазерного сплавления позволило создать сложную геометрию наружной поверхности. Новизной данного имплантата является концепция вкручиваемой погружной части с комбинированной геометрией резьбовой поверхности, состоящей из режуще-калибрующей и упорной прямоугольной резьбы. Принципиально новым в конструкции имплан-

тата для остеоинтеграции является опорный пояс на торец кости (рис. 1). Заходная резьбовая часть имплантата формирует и калибрует профиль упорной резьбы, что обеспечивает стабильность имплантата в трубчатой кости.



**Рис. 1.** Внешний вид имплантата для культи трубчатой кости

**Fig. 1.** Implant for a tubular bone stump

Исследование параметров шероховатости имплантатов, выполненных из двух сплавов, проводилось с помощью оптического 3D-профилометра WYKO NT 1100 (Veeco, США) в трех точках канавки режуще-калибрующей части и трех точках упорной резьбы пяти имплантатов — по 3 измерения в каждой точке. Средние значения параметров шероховатости поверхности имплантата (Ra, Rz и Rt) представлены в таблице 1.

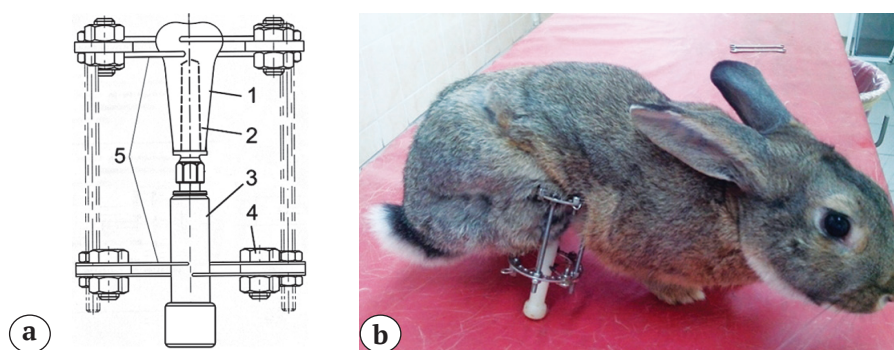
*Экспериментальная модель*

Оперативное вмешательство кроликам осуществляли под общим наркозом. Производили остеотомию большеберцовой кости на границе верхней и средней третей, удаляли малоберцовую кость на этом же уровне. После этого подготавливали канал с диаметром 4,0 или 4,5 мм, в который вкручивали имплантат, соответствующий диаметру 4,5 или 5,0 мм. Затем производили иссечение мягких тканей на уровне скакательного сустава. В сформированном кожном лоскуте делали отверстие для выхода наружной части имплантата и моделировали культю. Мягкие ткани послойно ушивали. К имплантату прикрепляли протез и проводили перекресты спиц, которые фиксировали на аппарате Илизарова. Демонтаж аппарата Илизарова осуществляли через 6 нед. (рис. 2).

Таблица 1

**Средние значения параметров шероховатости поверхности имплантата, мкм**

Поверхность имплантата	Нержавеющая сталь, EOS PH1			Титановый сплав, Ti6Al4V		
	Ra	Rz	Rt	Ra	Rz	Rt
Канавка режуще-калибрующей части	18,48	128,71	137,53	23,50	137,57	182,74
Упорная резьба	14,49	90,04	94,43	16,37	183,50	152,04



**Рис. 2.** Оссеоинтеграция имплантата в трубчатой кости кролика с фиксацией биомеханической системы аппаратом Илизарова: а — схема фиксации кости, имплантата и аббатмента с протезом (1 — большеберцовая кость, 2 — имплантат, 3 — аббатмент с протезом, 4 — аппарат Илизарова, 5 — перекрещивающиеся спицы); б — общий вид животного в аппарате Илизарова

**Fig. 2.** Osseointegration of the implant in the tubular bone of a rabbit with biomechanical system fixation by Ilizarov apparatus: а — scheme of the bone, implant and abutment fixation with a prosthesis (1 — tibia, 2 — implant, 3 — abutment with a prosthesis, 4 — Ilizarov apparatus, 5 — crossed pins); б — the rabbit with Ilizarov apparatus

Животным группы 1 ( $n = 8$ ) имплантировали изделие из нержавеющей стали EOS PH1 (EOS, Германия), в группе 2 ( $n = 12$ ) — из титанового сплава марки Ti6Al4V. Имплантаты были изготовлены методом селективного лазерного сплавления на установке EOSINT M 280 (EOS, Германия).

#### Содержание животных

Животные содержались в виварии ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г.А. Илизарова». Кроликов содержали в клетках без полок, по одному животному. Все клетки были оборудованы емкостями для корма и воды. В качестве подстилки использовали опилки хвойных пород деревьев. Клетки подвергали ежедневной влажной уборке. Корм выдавался животным один раз в день, чистая питьевая вода — без ограничений. Перед поступлением в эксперимент животные проходили карантин в течение 21 сут.

**Эвтаназия.** В каждой группе половину животных выводили из опыта через 3 нед. после имплантации, другую часть — через 12 нед. Эвтаназию осуществляли введением многократно превышенной дозы барбитуратов.

**Регулирующие стандарты.** Исследование выполнено в соответствии с ГОСТ Р ИСО 10993-1-2011. Национальный стандарт Российской Федерации. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования; ГОСТ Р ИСО 10993-6-2011. Национальный стандарт Российской Федерации. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации.

**Эффективность** имплантата оценивали по клиническим признакам: функция конечности и приживаемость имплантата.

Для доказательности оценки процесса оссеоинтеграции определяли локализацию и концентрацию остеотропных элементов (кальция и фосфора) в тканевом субстрате, адгезированном на поверхности имплантатов, при помощи рентгеновского электронно-зондового микроанализатора INKA Energy 200 (Oxford Instruments Analytical, Великобритания). Гистоструктурное состояние тканей в костно-имплантационном блоке оценивали методами световой и сканирующей электронной микроскопии. Для проведения исследований использовали стереомикроскоп AxioScope A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) и цифровую камеру AxioCam ICc 5 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия) в комплекте с программным обеспечением ZEN blue edition (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия), а также сканирующий электронный микроскоп JSM-840 (JEOL, Япония). Для дополнительной оценки эффективности изделия в сыворотке крови экспериментальных животных определяли активность ферментов — маркеров костного обмена: щелочной (ЩФ) и тартратрезистентной кислотой фосфатазы (ТрКФ), а также концентрацию общего кальция и неорганического фосфата.

**Оценку безопасности** имплантации исследуемого изделия осуществляли на основании данных прижизненного наблюдения (потребление пищи, наличие признаков хронического воспаления), данных лабораторного исследования крови животных. Забор крови осуществляли из краевой вены уха. В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка (ОБ), С-реактивного белка (СРБ), глюкозы, мочевины, креатинина, а также активность аминотрансфераз (АлАТ и АсАТ). Активность ферментов, а также концентрации субстратов в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi/ВМ 902



(F.Hoffmann-La Roche Ltd./Roche Diagnostics GmbH), используя наборы реагентов фирмы Vital Diagnostic (Россия).

### Статистический анализ

В таблицах данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Статистическая значимость межгрупповых различий определяли с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса. Различия считали статистически значимыми при минимальном уровне значимости  $p < 0,05$ . В статистический анализ включены данные от всех животных, вошедших в исследование.

### Результаты

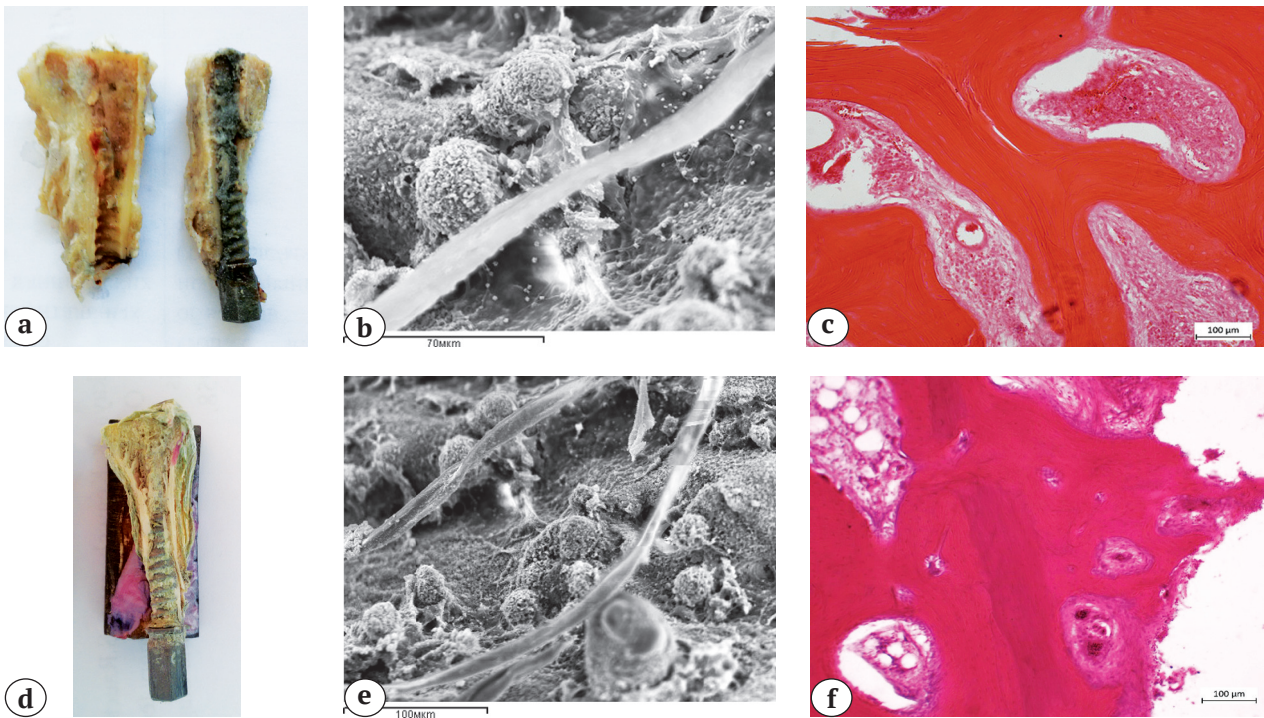
#### Приживаемость имплантатов

На сроках эксперимента клиническое состояние животных обеих групп было удовлетворительным. Опорная функция конечности восстанавливалась на 4–5-е сут. после имплантации. У животных группы 1 в течение эксперимента зафиксировано два случая (25% от всех животных

группы) выпадения имплантата, в группе 2 таких случаев отмечено не было.

Гистологические исследования показали, что у животных обеих групп через 21 сут. эксперимента в дистальной и средней областях компактной пластинки культы большеберцовой кости развивались признаки остеопороза. У животных группы 1 порозность компактной пластинки была выражена в большей степени и на большем протяжении. Кроме того, у животных группы 1 отмечали наличие объемных периостальных напластований в виде средне- и крупноячеистой губчатой кости.

Между интегрированным изделием и компактным слоем кости ввиду конусообразно уменьшающегося в проксимальной части диаметра имплантата и расширения диаметра кости в данном участке, в проксимальной части распилов костно-имплантационных блоков животных обеих групп наблюдали наличие расстояния, увеличивающегося в проксимальном направлении. В данный период оно было заполнено трабекулярной костью с ячейками средней величины, которая плотно прилегала к поверхности имплантата (рис. 3).



**Рис. 3.** Адгезия новообразованной ретикулофиброзной костной ткани на поверхности имплантируемой внутрикостной металлоконструкции и гистоструктурные изменения культы большеберцовой кости кролика через 3 нед. имплантации: a, b, c – группа 1; d, e, f – группа 2; a, d – распилы большеберцовой кости кролика с имплантатом; b, e – сосуды капиллярного типа и клетки остеогенной линии на поверхности имплантата. СЭМ, ув.  $\times 700$ ; c, f – остеогенез в зоне контакта с имплантатом.

Окраска: c – по Ван Гизону, f – гематоксилином и эозином, ув.  $\times 100$

**Fig. 3.** Adhesion of the newly formed reticular fibrotic bone tissue on the surface of an implanted intraosseous metal structure, histological and structural changes in the tibia stump of a rabbit after 3 weeks implantation: a, b, c – group 1; d, e, f – group 2; a, d – cuts of rabbit tibia with an implant; b, e – the capillary type vessels and cells of the osteogenic line cells on the surface of the implant. Scanning electron microscopy, mag.  $\times 700$ ; c, f – osteogenesis in the area of contact with the implant. Staining: c – Van Gieson, f – hematoxylin and eosin, mag.  $\times 100$

Исследование, выполненное методом рентгеновского электронно-зондового микроанализа, показало, что в обеих экспериментальных группах на поверхности имплантата обнаруживался аморфный гидроксиапатит, о чем свидетельствовало наличие в тканевом субстрате, сформированном на поверхности имплантата, элементов Са и Р с преобладанием последнего. Шероховатость поверхности обоих тестируемых имплантационных образцов способствовала адгезии клеток и микрососудов.

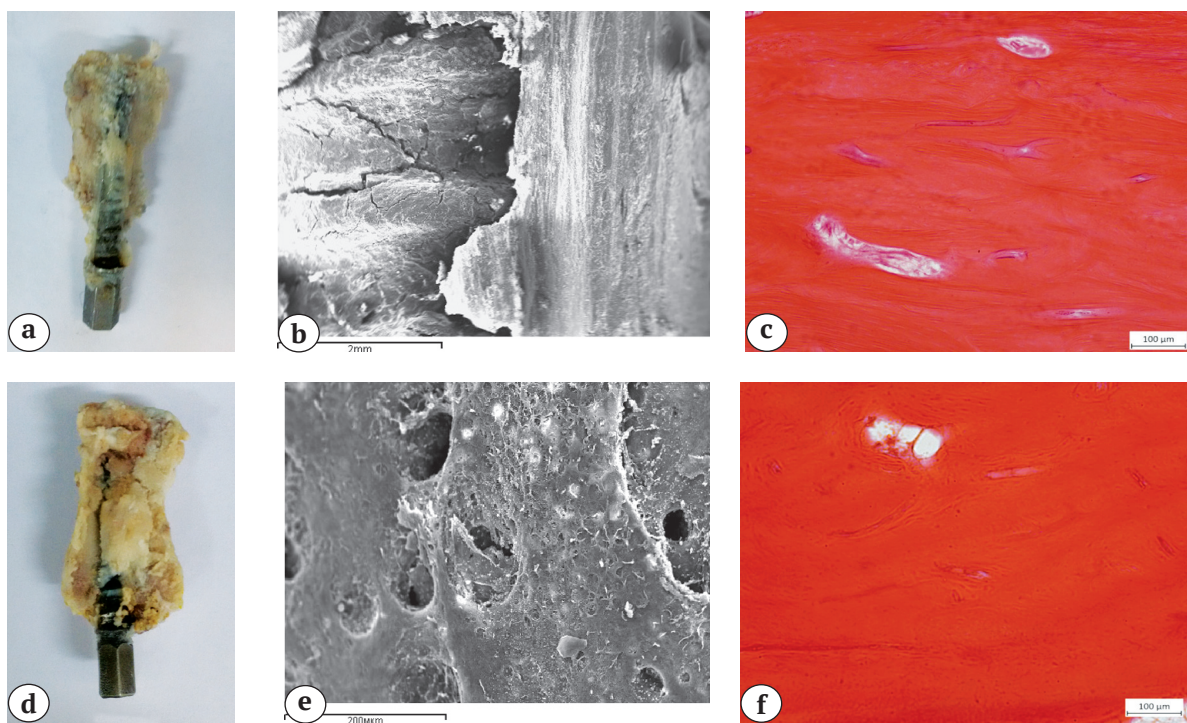
Через 12 нед. имплантации изделия в костномозговой канал большеберцовой кости кролика умеренно выраженные признаки остеопороза компактной пластинки были обнаружены также, как и в предыдущий период в дистальной части культи. Более расширенные Гаверсовы каналы, заполненные рыхлой волокнистой соединительной тканью, были отмечены в компактной пластинке группы 1. В других исследуемых областях у животных обеих групп между компактным слоем культи большеберцовой кости и интегрированным изделием формировался слой трабекулярной кости,

объединяющий их в единый костно-имплантационный блок, за счет плотного соединения с их поверхностями (рис. 4).

Межтрабекулярные промежутки были заполнены красно-желтым и желтым костным мозгом. В проксимальной и средней частях культи большеберцовой кости компактная пластинка в обеих сериях имела строение, приближенное к типичному. Наличие признаков воспаления вокруг имплантатов не обнаруживали.

На всех рельефных образованиях имплантата (резьбовых ребрах и углублениях) отмечали наличие тканевого компонента, в структурах которого при изучении методом сканирующей электронной микроскопии в сочетании с микроанализом обнаружены элементы Са и Р с преобладанием Са в группе 2 (табл. 2).

Во все периоды эксперимента у животных группы 2 наблюдалось более высокое, по сравнению с животными группы 1, содержание Са и Р во всех зонах компактной пластинки. Содержание Са в новообразованной на поверхности имплантата костной ткани в группе 2 на сроках наблюдения



**Рис. 4.** Формирование блока «кость – имплантат» через 12 нед. имплантации:

a, b, c – группа 1; d, e, f – группа 2; a, d – распилы большеберцовой кости кролика с внедренным имплантатом; b, e – костная ткань на поверхности имплантата. Сканирующая электронная микроскопия, ув.:  $\times 22$  (b),  $\times 100$  (e); c, f – компактная пластинка с расширенными Гаверсовыми каналами. Окраска по Ван Гизону, ув.  $\times 200$

**Fig. 4.** The bone-implant formation block after 12 weeks implantation:

a, b, c – group 1; d, e, f – group 2; a, d – cuts of the rabbit tibia with an implant; b, e – bone tissue on the implant surface. Scanning electron microscopy, mag.  $\times 22$  (b),  $\times 100$  (e); c, f – the compact plate with extended Haversian channels. Staining: Van Gieson, mag.  $\times 200$



было статистически значимо выше показателей группы 1.

Соотношение Ca/P в новообразованной костной ткани на поверхности имплантата в группе 1 через 3 нед. имплантации было ниже, чем в группе 2, в 1,7 раза, а через 12 нед. — в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о большей зрелости кост-

ной ткани у животных группы 2 на всех этапах эксперимента.

Активность фосфатаз и уровень кальция и фосфата в сыворотке крови экспериментальных животных не имели статистически значимых межгрупповых отличий в динамике наблюдения (табл. 3).

Таблица 2

**Содержание остеотропных элементов ( $\omega$ , в вес.%) в различных участках компактной пластинки культи большеберцовой кости и в новообразованной на поверхности и вокруг имплантата костной ткани**

Отдел	Элемент	Группа	3 нед. имплантации	12 нед. имплантации
Дистальная часть компактной пластинки	Ca	1	10,80±0,48	10,30±0,46
		2	11,50±0,53	14,70±0,51*
	P	1	5,14±0,19	4,90±0,21
		2	5,48±0,26	7,05±0,29*
Средняя часть компактной пластинки	Ca	1	16,50±0,57	16,10±0,71
		2	17,40±0,83*	17,20±0,81
	P	1	7,85±0,27	7,66±0,35
		2	8,29±0,36	8,19±0,32
Проксимальная часть компактной пластинки	Ca	1	16,90±0,72	17,10±0,69
		2	18,10±0,73*	17,90±0,82
	P	1	8,05±0,29	8,14±0,33
		2	8,61±0,37	8,52±0,41
Новообразованная костная ткань на поверхности и вокруг имплантата	Ca	1	3,00±0,11	7,88±0,37
		2	5,00±0,15*	10,14±0,42*
	P	1	5,11±0,23	8,85±0,43
		2	5,12±0,19	8,23±0,31
Среднее соотношение Ca/P в новообразованной костной ткани на поверхности имплантата		1	0,58±0,02	0,89±0,02
		2	0,98±0,03*	1,23±0,04*

\* — статистически значимые различия со значениями животных группы 1 при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

**Изменения активности фосфатаз, уровня общего кальция и неорганического фосфата в сыворотке крови кроликов экспериментальных групп**

Срок	Группа	ЩФ, Е/л	ТрКФ, Е/л	Кальций, ммоль/л	Фосфат, ммоль/л
До операции	1	53±19	26,8±6,4	3,70±0,19	1,30±0,24
	2	66±11	29,4±7,5	3,70±0,13	1,32±0,11
3 нед. имплантации	1	33±4*	39,4±5,1*	3,34±0,25*	1,56±0,15*
	2	37±6*	40,4±10,1*	3,51±0,11*	1,40±0,17
12 нед. имплантации	1	61±10	18,4±6,7	3,65±0,08	1,33±0,05
	2	45±12	22,9±3,1	3,60±0,15	1,34±0,11

\* — статистически значимые различия со значениями дооперационного уровня при  $p < 0,05$ .

### Безопасность

*Клиническое наблюдение* показало, что в течение первых 3 дней после имплантации у животных обеих групп отмечалось повышение температуры на 0,3–0,5°. В первые трое суток у всех животных выявляли отеки в области культи, сохранявшиеся в течение 3–4 дней. Несколько дней отмечалось снижение аппетита. У четырех (50,0%) кроликов группы 1 и двух животных (16,7%) группы 2 наблюдали острое гнойное воспаление мягких тканей вокруг имплантата в течение 14 дней после имплантации. Гнойное воспаление купировали антибиотиками в течение 7–10 дней (цефазолин по 0,05 г/кг веса).

*Гистологическое исследование* показало, что в двух случаях, когда отмечали наличие хронического воспаления (кролики группы 1), через 12 нед. компактная пластинка подвергалась остеопорозным изменениям на всем протяжении. Имплантационные конструкции у таких животных слабо удерживались внутри кости. На их поверхности обнаруживались лишь мозаично расположенные участки с признаками адгезии тканевого компонента. В пространстве между имплантатом и компактной пластинкой обнаруживался жировой костный мозг с элементами кроветворения и очагами воспалительного инфильтрата и фиброза.

*Лабораторное исследование.* Обнаружены статистически значимые межгрупповые отличия некоторых биохимических показателей у животных сравниваемых групп на 12-й нед. после имплантации (табл. 4). В частности, концентрация мочевины, креатинина, СРБ и активность трансаминаз у животных группы 1 была статистически значимо выше, чем у животных группы 2. При этом концентрация СРБ и креатинина у кроликов группы 1 была статистически значимо выше не только от-

носительно уровня животных группы 2, но и относительно дооперационного уровня.

### Обсуждение

Проведенное исследование показало способность структурированной поверхности имплантатов, созданной путем применения 3D-технологий, к адгезии клеточных элементов и сосудов. Это привело к формированию на поверхности имплантата слабоминерализованной ретикулофиброзной костной ткани через 3 нед. эксперимента. К 12-й нед. экспериментальных испытаний результаты, полученные методом световой и сканирующей электронной микроскопии, а также методом рентгеновского электронно-зондового микроанализа, свидетельствовали о формировании на поверхности имплантатов достаточно зрелой минерализованной новообразованной кости. По мнению некоторых авторов, формирование костных структур непосредственно на поверхности имплантатов без образования соединительнотканной капсулы возможно лишь в условиях структурированной поверхности и при отсутствии микроподвижности, т.е. при прочной фиксации имплантата в ложе [27, 28]. В настоящем исследовании в обеих сериях это условие обеспечивалось аппаратом внешней фиксации.

Однако статистически значимо большая минерализованность костной ткани на этапах эксперимента выявлена в серии с использованием имплантата из титанового сплава, чему, по нашему мнению, способствовала большая шероховатость титановых имплантатов, а следовательно, и лучшие адгезивные способности [29, 30, 31, 32, 33, 34].

Более выраженные порозные изменения и отток остеотропных элементов компактной пластинки культи большеберцовой кости отмечены

Таблица 4

### Изменения биохимических показателей сыворотки крови у кроликов экспериментальных групп

Срок	Группа	ОБ, г/л	Мочевина, ммоль/л	СРБ, мг/л	Креатинин, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л
До операции	1	67±4	5,8±0,6	0,0	100±14	7,1±1,2	45±13	29±10
	2	70±4	5,5±0,6	0,6±0,5	107±12	7,5±0,5	40±17	26±7
3 нед. имплантации	1	66±4	4,8±1,0	34,5±7,0*	95±12	7,8±0,8	52±25	34±15
	2	65±6	4,3±0,9	21,7±15,1*	102±6	7,0±0,8	47±19	27±11
12 нед. имплантации	1	69±2	6,8±0,9	17,7±2,6*	127±10*	7,6±0,3	87±38	55±21
	2	70±5	4,1±0,5*#	7,0±5,2#	92±11#	6,8±0,6	50±10#	21±8#

\* — статистически значимые различия со значениями дооперационного уровня при  $p < 0,05$ ; # — статистически значимые межгрупповые различия при  $p < 0,05$ .



в группе сравнения с применением стального имплантата. Во все периоды эксперимента у животных группы 2 наблюдалось более высокое, по сравнению с животными группы 1, содержание кальция и фосфора в дистальной части компактной пластинки.

Биохимические методы исследования также показали более существенное уменьшение содержания кальция и увеличение уровня фосфата сыворотки крови у животных группы 1. Кроме того, через 12 нед. после имплантации у этих животных была повышена концентрация мочевины, креатинина, СРБ и активность трансаминаз. Развитие обозначенных процессов мы связываем с меньшей коррозионной устойчивостью стального имплантата к тканям внутренней среды, что могло вызывать большую местную и системную реакцию организма на инородное тело [35, 36, 37] и снизить остеointеграционную способность по сравнению с результатами серии с применением имплантата из титанового сплава, обладающего большей коррозионной устойчивостью [25]. Этим же объясняется и возникновение острого воспалительного процесса в мягких тканях вокруг стального имплантата на 33,3% чаще, чем при применении титанового имплантата, что в двух случаях привело к его выпадению из имплантационного ложа в экспериментальной группе с применением стального имплантата.

Таким образом, при выборе материала для печати персонализированных имплантатов с применением аддитивных технологий нужно учитывать не только прочностные характеристики, способствующие высокой износоустойчивости, но и степень их совместимости с биологическими тканями. Наше исследование показало разную локальную и общую биологическую реакцию на изделия из биотолерантных (сталь) и биоинертных (титан) сплавов металлов, что подтверждается результатами и других исследований [7, 38].

Результаты проведенного исследования позволяют заключить, что эффективность (приживаемость имплантата) и безопасность изделия, выполненного из титанового сплава, была выше по сравнению с имплантатом из нержавеющей стали. Более выраженная способность к остеointеграции при применении изделия из титанового сплава обусловлена большей химической чистотой, биоинертностью и большей шероховатостью, что способствовало лучшей адгезии клеток и сосудов, усилению минерализации костной ткани, формирующейся на поверхности титанового имплантата, и отсутствию случаев хронического воспаления.

**Конфликт интересов:** не заявлен.

**Источник финансирования:** исследование выполнено в рамках темы: «Разработка методов управления остеointеграцией и медицинских технологий восстановления функций ампутированных конечностей» государственного задания на осуществление научных исследований и разработок ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России.

#### **Вклад авторов**

*Еманов А.А.* — разработка концепции и дизайна исследования, сбор материала, анализ полученных данных, подготовка и редактирование текста.

*Кузнецов В.П.* — разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, утверждение окончательного варианта статьи.

*Горбач Е.Н.* — сбор материала, анализ и статистическая обработка данных, подготовка и редактирование текста.

*Стогов М.В.* — статистическая обработка данных, анализ и статистическая обработка данных, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи.

*Киреева Е.А.* — сбор материал, статистическая обработка данных, анализ и статистическая обработка данных.

*Овчинников Е.Н.* — сбор материала, анализ полученных данных.

#### **Литература [References]**

1. Aschoff H.H., Juhnke D.L. [Endo-exo prostheses: osseointegrated percutaneously channeled implants for rehabilitation after limb amputation]. *Unfallchirurg.* 2016;119(5):421-427. (In German). doi: 10.1007/s00113-016-0175-3.
2. Gubin A.V., Kuznetsov V.P., Borzunov D.Y., Koryukov A.A., Reznik A.V., Chevardin A.Y. Challenges and perspectives in the use of additive technologies for making customized implants for traumatology and orthopedics. *Biomed Eng.* 2016;50:285-289. doi: 10.1007/s10527-016-9639-6.
3. Hansen R.L., Langdahl B.L., Jørgensen P.H., Petersen K.K., Søballe K., Stilling M. Changes in periprosthetic bone mineral density and bone turnover markers after osseointegrated implant surgery: a cohort study of 20 transfemoral amputees with 30-month follow-up. *Prosthet Orthot Int.* 2019;43(5):508-518. doi: 10.1177/0309364619866599.
4. Hansson E., Hagberg K., Cawson M., Brodtkorb T.H. Patients with unilateral transfemoral amputation treated with a percutaneous osseointegrated prosthesis: a cost-effectiveness analysis. *Bone Joint J.* 2018;100-B(4):527-534. doi: 10.1302/0301-620X.100B4.BJJ-2017-0968.R1.
5. Li Y., Kulbacka-Ortiz K., Caine-Winterberger K., Brånemark R. Thumb amputations treated with osseointegrated percutaneous prostheses with up to 25 years of follow-up. *J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev.* 2019;3(1):e097. doi: 10.5435/JAOSGlobal-D-18-00097.
6. Thesleff A., Brånemark R., Håkansson B., Ortiz-Catalan M. Biomechanical characterisation of bone-anchored implant systems for amputation limb prostheses: a systematic review. *Ann Biomed Eng.* 2018;46(3):377-391. doi: 10.1007/s10439-017-1976-4.

7. Al Muderis M., Khemka A., Lord S.J., Van de Meent H., Frölke J.P. Safety of osseointegrated implants for transfemoral amputees: a two-center prospective cohort study. *J Bone Joint Surg Am.* 2016;98(11):900-909. doi: 10.2106/JBJS.15.00808.
8. Brånemark R.P., Hagberg K., Kulbacka-Ortiz K., Berlin Ö., Rydevik B. Osseointegrated percutaneous prosthetic system for the treatment of patients with transfemoral amputation: a prospective five-year follow-up of patient-reported outcomes and complications. *J Am Acad Orthop Surg.* 2019;27(16):e743-e751. doi: 10.5435/JAAOS-D-17-00621.
9. Jeyapalina S., Beck J.P., Drew A., Bloebaum R.D., Bachus K.N. Variation in bone response to the placement of percutaneous osseointegrated endoprostheses: a 24-month follow-up in sheep. *PLoS One.* 2019;14(10):e0221850. doi: 10.1371/journal.pone.0221850.
10. Juhnke D.L., Aschoff H.H. [Endo-exo prostheses following limb-amputation]. *Orthopade.* 2015;44(6):419-425. (In German). doi: 10.1007/s00132-015-3117-9.
11. Tillander J., Hagberg K., Berlin Ö., Hagberg L., Brånemark R. Osteomyelitis risk in patients with transfemoral amputations treated with osseointegration prostheses. *Clin Orthop Relat Res.* 2017;475(12):3100-3108. doi: 10.1007/s11999-017-5507-2.
12. Bennett B.T., Beck J.P., Papangkorn K., Colombo J.S., Bachus K.N., Agarwal J. et al. Characterization and evaluation of fluoridated apatites for the development of infection-free percutaneous devices. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;100:665-675. doi: 10.1016/j.msec.2019.03.025.
13. Fradique R., Correia T.R., Miguel S.P., de Sá K.D., Figueira D.R., Mendonça A.G., Correia I.J. Production of new 3D scaffolds for bone tissue regeneration by rapid prototyping. *J Mater Sci Mater Med.* 2016;27(4):69. doi: 10.1007/s10856-016-5681-x.
14. Jeyapalina S., Mitchell S.J., Agarwal J., Bachus K.N. Biomimetic coatings and negative pressure wound therapy independently limit epithelial downgrowth around percutaneous devices. *J Mater Sci Mater Med.* 2019;30(6):71. doi: 10.1007/s10856-019-6272-4.
15. Lennerås M., Tsikandylakis G., Trobos M., Omar O., Vazirani F., Palmquist A. et al. The clinical, radiological, microbiological, and molecular profile of the skin-penetration site of transfemoral amputees treated with bone-anchored prostheses. *J Biomed Mater Res A.* 2017;105(2):578-589. doi: 10.1002/jbm.a.35935.
16. Stenlund P., Trobos M., Lausmaa J., Brånemark R., Thomsen P., Palmquist A. Effect of load on the bone around bone-anchored amputation prostheses. *J Orthop Res.* 2017;35(5):1115-1122. doi: 10.1002/jor.23352.
17. Tsikandylakis G., Berlin Ö., Brånemark R. Implant survival, adverse events, and bone remodeling of osseointegrated percutaneous implants for transhumeral amputees. *Clin Orthop Relat Res.* 2014;472(10):2947-2956. doi: 10.1007/s11999-014-3695-6.
18. Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Коваленко А.Н., Билык С.С., Цыбин А.В., Денисов А.О. и др. Применение индивидуальной трехфланцевой конструкции при ревизионном эндопротезировании с нарушением целостности тазового кольца (клинический случай). *Травматология и ортопедия России.* 2016;(1):108-116. doi: 10.21823/2311-2905-2016-0-1-108-116. Tikhilov R.M., Shubnyakov I.I., Kovalenko A.N., Bilyk C.C., Tsybin A.N., Denisov A.O. et al. [Using custom triflange implant in revision hip arthroplasty in patient with pelvic discontinuity (case report)]. *Травматология и ортопедия России* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2016;(1):108-116. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2016-0-1-108-116.
19. Chegurov O.K., Ovchinnikov E.N., Stogov M.V., Kolchev O.V., Shutov R.B., Gorodnova N.V. Design of individual components of the prosthesis for revision hip replacement. *Biomed Eng.* 2019;53(3):172-175. doi: 10.1007/s10527-019-09902-3.
20. Ryu D.J., Ban H.Y., Jung E.Y., Sonn C.H., Hong D.H., Ahmad S. et al. Osteo-compatibility of 3D titanium porous coating applied by direct energy deposition (DED) for a cementless total knee arthroplasty implant: in vitro and in vivo study. *J Clin Med.* 2020;9(2):478. doi: 10.3390/jcm9020478.
21. Innocenti M., Vieri B., Melani T., Paoli T., Carulli C. Metal hypersensitivity after knee arthroplasty: fact or fiction? *Acta Biomed.* 2017;88(2S):78-83. doi: 10.23750/abm.v88i2-S.6517.
22. Kieser D.C., Ailabouni R., Kieser S.C.J., Wyatt M.C., Armour P.C., Coates M.H., Hooper G.J. The use of an Ossis custom 3D-printed tri-flanged acetabular implant for major bone loss: minimum 2-year follow-up. *Hip Int.* 2018;28(6):668-674. doi: 10.1177/1120700018760817.
23. Bansal T., Aggarwal S., Dhillon M.S., Patel S. Gross trunnion failure in metal on polyethylene total hip arthroplasty—a systematic review of literature. *Int Orthop.* 2020;44(4):609-621. doi: 10.1007/s00264-019-04474-z.
24. Koh J., Berger A., Benhaim P. An overview of internal fixation implant metallurgy and galvanic corrosion effects. *J Hand Surg Am.* 2015;40(8):1703-1710. doi: 10.1016/j.jhsa.2015.03.030.
25. Rony L., Lancigu R., Hubert L. Intraosseous metal implants in orthopedics: a review. *Morphologie.* 2018;102(339):231-242. doi: 10.1016/j.morpho.2018.09.003.
26. Gorbach E.N., Yemanov A.A., Ovchinnikov E.N., Kuznetsov V.P., Fefelov A.S., Gorgots V.G. et al. Osseointegration of innovative customized implants in the tubular bone (experimental study). *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2017;9(1):78-83. doi: 10.17691/stm2017.9.1.09.
27. Hayes J.S., Klöppel H., Wieling R., Sprecher C.M., Richards R.G. Influence of steel implant surface microtopography on soft and hard tissue integration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2018;106(2):705-715. doi: 10.1002/jbm.b.33878.
28. Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Денисов А.О., Конев В.А., Гофман И.В., Михайлова П.М. и др. Костная и мягкотканная интеграция пористых титановых имплантатов (экспериментальное исследование). *Травматология и ортопедия России.* 2018;24(2):95-107. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-2-95-107. Tikhilov R.M., Shubnyakov I.I., Denisov A.O., Konev V.A., Gofman I.V., Mikhailova P.M. et al. [Bone and Soft Tissues Integration in Porous Titanium Implants (Experimental Research)]. *Травматология и ортопедия России* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2018;24(2):95-107. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-2-95-107.
29. Wong K.C., Kumta S.M., Geel N.V., Demol J. One-step reconstruction with a 3D-printed, biomechanically evaluated custom implant after complex pelvic tumor resection. *Comput Aided Surg.* 2015;20(1):14-23. doi: 10.3109/10929088.2015.1076039.
30. Albrektsson T., Wennerberg A. On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2019;21 Suppl 1:4-7. doi: 10.1111/cid.12742.
31. Boyan B.D., Lotz E.M., Schwartz Z. Roughness and hydrophilicity as osteogenic biomimetic surface

- properties. *Tissue Eng Part A*. 2017;23(23-24):1479-1489. doi: 10.1089/ten.TEA.2017.0048.
32. Liu Y., Rath B., Tingart M., Eshweiler J. Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. *J Biomed Mater Res A*. 2020;108(3):470-484. doi: 10.1002/jbm.a.36829.
33. Nicolas-Silvente A.I., Velasco-Ortega E., Ortiz-Garcia I., Monsalve-Guil L., Gil J., Jimenez-Guerra A. Influence of the titanium implant surface treatment on the surface roughness and chemical composition. *Materials (Basel)*. 2020;13(2):314. doi: 10.3390/ma13020314.
34. Overmann A.L., Aparicio C., Richards J.T., Mutreja I., Fischer N.G., Wade S.M. et al. Orthopaedic osseointegration: implantology and future directions. *J Orthop Res*. 2019. doi: 10.1002/jor.24576. [Epub ahead of print].
35. Eliaz N. Corrosion of metallic biomaterials: a review. *Materials (Basel)*. 2019;12(3):407. doi: 10.3390/ma12030407.
36. Dikici B., Esen Z., Duygulu O., Gungor S. Corrosion of metallic biomaterials. In: Niinomi M., Narushima T., Nakai M. (eds.). *Advances in Metallic Biomaterials. Springer Series in Biomaterials Science and Engineering*, vol. 3. Berlin, Heidelberg: Springer; 2015. p. 275-303. doi: 10.1007/978-3-662-46836-4\_12.
37. Gilbert J.L. Corrosion in the human body: metallic implants in the complex body environment. *Corrosion*. 2017;73(12):1478-1495. doi: 10.5006/2563.
38. Utyuzh A.S., Samusenkov V.O., Yumashev A.V., Nefedova I.V., Tsareva T.V. Analysis of osseointegration adequacy and examination of stability of dental implants after sinus lift operation. *Austrian J Tech Natural Sci*. 2016;(5-6):16-19.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Еманов Андрей Александрович* — канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган

*Кузнецов Виктор Павлович* — д-р. техн. наук, заведующий лабораторией, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган; профессор кафедры термобработки и физики металлов, ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина» Минобрнауки России, г. Екатеринбург

*Горбач Елена Николаевна* — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган

*Стогов Максим Валерьевич* — д-р биол. наук, доцент, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган

*Киреева Елена Анатольевна* — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган

*Овчинников Евгений Николаевич* — канд. биол. наук, заместитель директора по научной работе, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган

#### AUTHORS' INFORMATION:

*Andrey A. Emanov* — Cand. Sci. (Vet.), Leading Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

*Viktor P. Kuznetsov* — Dr. Sci. (Tech.), Head of laboratory, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan; Professor, Department of Heat Treatment and Metal Physics, Ural Federal University, Ekaterinburg, Russian Federation

*Elena N. Gorbach* — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

*Maksim V. Stogov* — Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

*Elena A. Kireeva* — Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation

*Evgeny N. Ovchinnikov* — Cand. Sci. (Biol.), Deputy Director for Scientific Work, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation