

Гений ортопедии. 2023;29(5):526-534.*Genij Ortopedii.* 2023;29(5):526-534.

Научная статья

УДК [616.71-089.844:612.753]-092.9

<https://doi.org/10.18019/1028-4427-2023-29-5-526-534>**Сравнительная оценка остеоинтеграции новых чрескожных имплантатов из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4****М.В. Стогов¹, А.А. Еманов¹, В.П. Кузнецов^{1,2}, Е.Н. Горбач¹, Е.А. Киреева¹, А.В. Корелин²**¹ Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова, Курган, Россия² Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург, Россия**Автор, ответственный за переписку:** Максим Валерьевич Стогов, stogo_off@list.ru**Аннотация**

Введение. Показано, что титановые имплантаты из материалов со структурированной поверхностью обеспечивают повышенную скорость остеоинтеграции, что делает их применение достаточно перспективным. **Цель.** Провести сравнительную оценку эффективности остеоинтеграции новых чрескожных имплантатов для протезирования, изготовленных из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на 12 кроликах самцах породы Советская шиншилла. 6-ти кроликам контрольной группы в большеберцовую кость были остеоинтегрированы имплантаты, изготовленные по технологии селективного лазерного сплавления из порошка Ti6Al4V, 6-ти кроликам опытной группы устанавливали имплантаты, изготовленные из прутка Ti Grade 4 со смешанной нанокристаллической и ультрамелкозернистой структурой, полученной интенсивной пластической деформацией методом равноканального углового прессования. Формирование блока «кость-имплантат» исследовалось через 26 недель после имплантации. **Результаты.** Гистологически через 26 недель эксперимента у животных опытной группы на всем протяжении культи в компактной пластинке не выявлено порозных изменений, расширения гаверсовых каналов, выраженной остеокластической резорбции. Вокруг имплантата формировался повторяющий его форму костный футляр, представленный пластинчатой костной тканью. Методом рентгеновского электронно-зондового микроанализа обнаружено, что в субстрате формирующегося на поверхности имплантата у кроликов опытной группы кальция было достоверно больше во всех областях имплантата относительно животных группы контроля. У животных группы контроля относительно опытной группы дольше удерживался повышенный уровень С-реактивного белка сыворотки крови. Осложнений и значительных клинико-лабораторных отклонений у животных обеих групп в ходе всего эксперимента не обнаружено. **Обсуждение.** Полученные нами данные согласуются с результатами других экспериментальных исследований, в которых однозначно отмечено, что титановые имплантаты со структурированной поверхностью в сравнительных исследованиях показывают повышенные характеристики остеоинтеграции относительно имплантатов без модификации структуры материала резбовой поверхности. Отсутствие осложнений и нежелательных реакции организма животных также говорит о приемлемой безопасности тестируемых изделий. **Заключение.** Остеоинтеграция чрескожного имплантата со смешанной нанокристаллической и ультрамелкозернистой структурой была более эффективна относительно изделия сравнения. Это делает перспективным применение таких имплантатов для решения клинических задач протезирования.

Ключевые слова: протезирование, остеоинтеграция, титановый имплантат, нанокристаллическая структура, селективное лазерное сплавление, эксперимент, кролики, безопасность изделия

Благодарность: авторы выражают благодарность доктору физико-математических наук, профессору, члену-корреспонденту Академии наук Республики Башкортостан Валиеву Руслану Зуфаровичу за предоставленный для исследований прутки Ti Grade 4, полученный методом равноканального углового прессования.

Для цитирования: Стогов М.В., Еманов А.А., Кузнецов В.П., Горбач Е.Н., Киреева Е.А., Корелин А.В. Сравнительная оценка остеоинтеграции новых чрескожных имплантатов из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4. *Гений ортопедии.* 2023;29(5):526-534. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-5-526-534. EDN: ELJGET.

Original article**Comparative evaluation of osseointegration of new percutaneous implants made of Ti Grade 4 ultrafine-grained alloy****M.V. Stogov¹, A.A. Emanov¹, V.P. Kuznetsov^{1,2}, E.N. Gorbach¹, E.A. Kireeva¹, A.V. Korelin²**¹ Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russian Federation² Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Ekaterinburg, Russia**Corresponding author:** Maksim V. Stogov, stogo_off@list.ru**Abstract**

Introduction It has been shown that titanium implants with a structured surface provide an increased rate of osseointegration what makes their application quite promising. **The purpose** of this work was to conduct a comparative evaluation of the efficiency of osseointegration of new percutaneous implants for prosthetics made of ultrafine-grained Ti Grade 4 alloy. **Materials and methods** The study was carried out on 12 male rabbits of the Soviet Chinchilla breed. Six rabbits of the control group had implants made of Ti6Al4V powder using selective laser sintering technology that were osseointegrated into the tibia, 6 rabbits of the experimental group had implants made of Ti Grade 4 by equal channel angular pressing. The formation of the "bone-implant" block was examined 26 weeks after the implantation. **Results** Histologically, after 26 weeks of the experiment, porous changes, enlargement of the Haversian canals, and pronounced osteoclastic resorption were not detected in the animals of the experimental group throughout the stump in the compact plate. Around the implant, a bony case repeating the bone shape was formed, represented by lamellar bone tissue. Using X-ray electron probe microanalysis, it was found that in the substrate formed on the surface of the implant in rabbits of the experimental group, there was significantly more calcium in all areas over the implant relative to the animals of the control group. In the control group, relative to the experimental group, an increased level of C-reactive protein in blood serum was retained longer. Complications and significant clinical and laboratory abnormalities were not found in both groups during the entire experiment. **Discussion** Our data are consistent with the results of other experimental studies, which unambiguously noted that titanium implants with a structured surface show increased osseointegration characteristics in comparative studies relative to implants without modification of the structure of the material of the threaded surface. The absence of complications and undesirable reactions of the animal organism also indicates the acceptable safety of the tested products. **Conclusion** Osseointegration of a percutaneous implant that has a mixed nanocrystalline and ultrafine-grained structure was more effective than the reference implant. This makes the use of such implant promising for solving clinical problems in prosthetics.

Keywords: prosthetics, osseointegration, titanium implant, nanocrystalline structure, selective laser fusion, experiment, rabbits, product safety

Acknowledgment: The authors express their gratitude to Ruslan Zufarovich Valiev, Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, for providing the Ti Grade 4 bar for research, obtained by equal-channel angular pressing.

For citation: Stogov M.V., Emanov A.A., Kuznetsov V.P., Gorbach E.N., Kireeva E.A., Korelin A.V. Comparative evaluation of osseointegration of new percutaneous implants made of Ti Grade 4 ultrafine-grained alloy. *Genij Ortopedii*. 2023;29(5):526-534. doi: 10.18019/1028-4427-2023-29-5-526-534

ВВЕДЕНИЕ

Применение титановых сплавов в наноструктурном и ультрамелкозернистом (УМЗ) состояниях, а также модификация поверхности в настоящее время представляют собой универсальную стратегию для повышения механических свойств и биосовместимости медицинских изделий [1, 2]. Для практики ортопедии в этой части актуальными являются исследования остеointеграции чрескожных имплантатов из титановых сплавов с различным химическим составом, структурой и покрытием [3-6]. Показано, что остеointегрируемые титановые имплантаты из материалов со структурированной поверхностью обеспечивают

повышенную скорость остеointеграции [7, 8]. В большей степени это изучено для изделий, используемых в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии [9-11]. Тем не менее, эти исследования делают перспективным направлением улучшение характеристик приживаемости чрескожных имплантатов, внедряемых в настоящее время для решения задач остеointеграционного протезирования [12-14].

Цель – провести сравнительную оценку эффективности остеointеграции новых чрескожных имплантатов для протезирования, изготовленных из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на 12 кроликах-самцах породы Советская шиншилла, возраст – 6-10 месяцев, средний вес – $3,2 \pm 0,3$ кг. Премедикацию для операции осуществляли путем внутримышечного введения димедрола 1 % 10 мг/кг, атропина 0,01 % 0,05 мг/кг, медитина 0,1 % 1 мг/кг, зоветила 100 0,025 мг/кг, наркоз производили внутривенно препаратом пропופол 1 % 10 мг/кг. Всем кроликам производили остеотомию большеберцовой кости на границе верхней и средней трети. Далее рассверливали костномозговой канал до 4,5 мм и вкручивали в культю большеберцовой кости имплантат (патент № 152558) диаметром 5 мм. Животным опытной группы (n = 6) устанавливали тита-

новые имплантаты из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4 (рис. 1, а), животным контрольной группы (n = 6) устанавливали титановые имплантаты из стандартного сплава Ti6Al4V (рис. 1, б). Установка имплантатов представлена на рисунке 1, в. Культю голени формировали миопластическим способом с использованием одного кожно-фасциального лоскута.

Далее на кость устанавливалось компрессионное устройство (патент № 2631631) с протезом из фторопласта (рис. 2). Кость подвергалась компрессионной нагрузке 3,5 Н в течение 5 недель после имплантации. Выбор величины компрессионной нагрузки обоснован нами в ранее выполненном исследовании [15].



Рис. 1. Имплантаты из ультрамелкозернистого сплава Ti Grade 4 после механической обработки (а) и сплава Ti6Al4V после селективного лазерного сплавления (б); установка имплантатов в культю большеберцовой кости кролика (в)



В

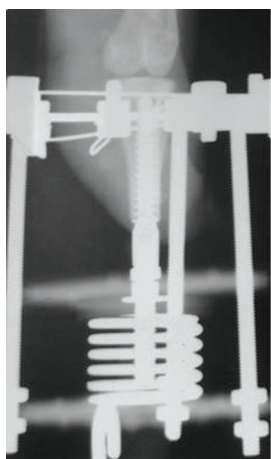


Рис. 2. Рентгенограмма культы большеберцовой кости кролика после операции (а) и фото кролика с установленным имплантатом в устройстве внешней фиксации с компрессионным нагружением (б)

Имплантаты для группы контроля изготавливались из порошка Ti6Al4V производства фирмы Advanced Powders&Coatings Inc. (Канада) со средним размером частиц 23,5 мкм, изготовленных методом селективного лазерного сплавления (СЛС) на 3D-принтере EOS EOSINT M 280 (Германия) в Уральском федеральном университете [16]. Имплантаты для опытной группы изготавливались из прутка ультрамелкозернистого титана Ti Grade 4 диаметром 10 мм, полученного методом равноканального углового прессования на предприятии ООО «Нанотех» (Уфа), производились на автомате продольного точения MANURHIN K'MX 432. Механические свойства материалов и среднее арифметическое отклонение микропрофиля резьбовой поверхности имплантатов представлены в таблице 1. Эти данные по свойствам материала СЛС-имплантатов согласуются с результатами исследований, приведенных в работе Каплана М.А. с соавт. [17].

Таблица 1

Механические свойства и среднее арифметическое отклонение микропрофиля резьбовой поверхности имплантатов

Тип имплантата	СЛС Ti6Al4V (контроль)	Механическая обработка УМЗ сплава Ti Grade 4 (опыт)
$\sigma_{0,2}$, МПа	1045	1071
σ_B , МПа	1200	1240
δ , %	8	11
Ra, мкм	5,59	0,95

Дополнительно для оценки структурных изменений, происходящих в процессе токарной обработки опытного имплантата, нами на сканирующем электронном микроскопе Zeiss CrossBeam AURIGA в режиме анализа дифракции обратно рассеянных электронов (EBSD) выполнено исследование микроструктуры материала имплантатов после механической обработки. На рисунке 3 представлены микрошлифы резьбовой части имплантата, результаты EBSD-анализа растровой электронной микроскопии и гистограмма распределения размеров зерен микроструктуры, построенная с использованием программного пакета SIAMS 700.

Результат EBSD-анализа показал, что исследуемая микроструктура является смешанной ультрамелкозернистой и нанокристаллической с отдельными крупными зернами размером до 2 мкм. Превалируют зерна размером от 100 до 300 нм, их количество составляет порядка 28 %. Присутствует также большое количество нанокристаллитов с размерами менее 100 нм, содержание которых достигает 32 %. Наличие таких нанокристаллитов в материале резьбовой поверхности

имплантата предполагает существенное повышение эффективности остеоинтеграции.

Содержание животных. В ходе исследования животные содержались в клетках по одному животному с емкостями для корма и воды. Влажную уборку клеток проводили ежедневно. Корм раздавался животным один раз в день, чистая питьевая вода – без ограничений. Перед поступлением в эксперимент животные проходили карантин в течение 21 суток. Наблюдение животных в ходе эксперимента осуществляли ежедневно, оценивали общее состояние, дыхание, функцию оперированной конечности, а также состояние послеоперационных ран. Длительность наблюдения всех животных составила 26 недель после имплантации. Эвтаназию животных осуществляли путем введения летальных доз барбитуратов.

Рентгенологические исследования. Для рентгенографии использовался рентгеновский аппарат «Comrast», (Милан, Италия). Сила тока составляла 60 мА, напряжение 57-69 кВ, время экспозиции - 0,4-0,6 сек. Конкретные параметры работы аппарата зависели от конституции животного. Рентгенографию конечности кролика выполняли в прямой и боковой проекции. Рентгенографию проводили до и после оперативного вмешательства, на 21, 42, 84, 105 180 сутки после операции.

Морфологическое исследование. Большеберцовую кость с интегрированным в нее имплантатом помещали в 10-процентный раствор нейтрального формалина. Через 7 суток фиксации кость распиливали в продольном направлении, оставляя имплантированную конструкцию в одной из половин распила, обнажая лишь поверхность имплантата, а затем продолжали фиксацию в формалине еще 3-5 суток. Далее половину культи большеберцовой кости, где оставался имплантат, обезжизивали в этиловом спирте (по 2 смены 70, 80, 96 и 100 градусной крепости), заливали в 2,2-диметил-3-метиленицикло[2,2,1]гептан и сушили в открытой емкости до полного его испарения. Высушенные распилы напыляли токопроводным слоем Pt и Pd и исследовали методом сканирующей микроскопии при помощи электронного микроскопа Zeiss EVO MA18 (Carl Zeiss Group, Германия). Распределение Ca и P в тканях, адгезированных на поверхности интегрированных имплантатов, выполняли с использованием энергодисперсионного спектрометра BRUKER QUANTAX 200 – XFlash 6/10 (Bruker Nano GmbH, Германия). Работа осуществлялась в режиме построения элементных карт, спектров и получения цифровых данных о содержании каждого остеотропного элемента.

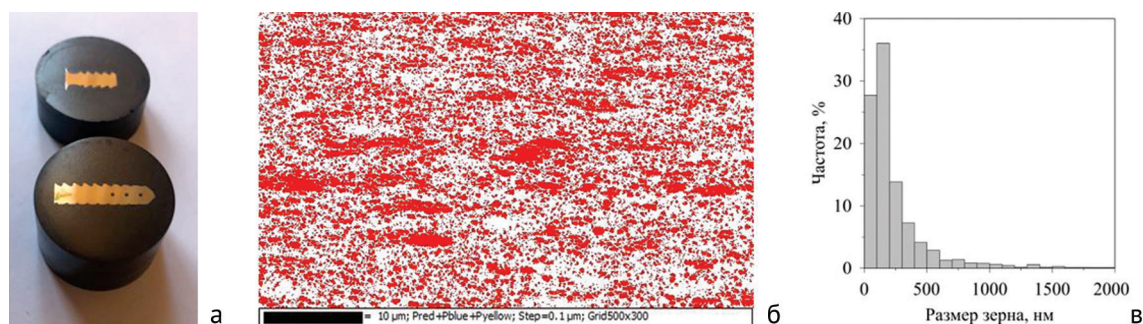


Рис. 3. Фото микрошлифов резьбовой части имплантата (а); фазово-контрастный EBSD снимок α -фазы поверхностного слоя резьбы (б); гистограммы распределения размеров зерен материала имплантата после токарной обработки (в)

Фрагменты культы большеберцовой кости без имплантата декальцинировали в смеси соляной и муравьиной кислот, дегидратировали и заливали в парафинсодержащие смеси, способные к затвердеванию. На микротоме санного типа Reichard (Германия) изготавливали парафиновые срезы толщиной 6 мкм, которые после депарафинирования окрашивали гематоксилином и эозином. Далее их исследовали с помощью стереомикроскопа AxioScore A1 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия).

Лабораторные исследования. В динамике эксперимента выполняли забор крови на сроках до операции, через 3, 5, 12 и 26 недель после имплантации. Выполняли комплекс биохимических и гематологических исследований, включавших определение концентрации общего белка, С-реактивного белка (СРБ), креатинина, мочевины, общего кальция, неорганического фосфата, оценку активности фосфатаз (щелочная фосфатаза – ЩФ; костный изофермент кислой фосфатазы – ТрКФ) и трансаминаз (АЛТ, АСТ), определение содержания лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов.

Гематологические исследования выполнены на автоматическом анализаторе ProCyt Dx (IDEXX Lab., Нидерланды), биохимические – на автоматическом анализаторе Hitachi/BM 902 (F. Hoffmann-La Roche Ltd., Италия) с использованием наборов реагентов Вектор-Бест (Россия).

Регулирующие стандарты. Исследование выполнено в соответствии с ГОСТом ISO 10993-1-2021.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В постимплантационном периоде отмечено, что общее состояние кроликов обеих групп было удовлетворительным. Опорная функция конечности восстанавливалась на 4-5-е сутки после операции и в дальнейшем присутствовала у животных опытной и контрольной группы на всем протяжении наблюдения. Во всех экспериментах не было выявлено воспаления и гнойных процессов кожи в месте выхода имплантата. Выпадения имплантатов к моменту эвтаназии (26 недель) у экспериментальных животных обеих групп не отмечено. Каких-либо серьезных нежелательных событий в ходе наблюдения не обнаружено, нагноения в области культы и периимплантного пространстве не выявлено. При патоморфологическом исследовании животных после эвтаназии каких-либо патологических изменений внутренних органов не обнаружено.

Во всех случаях у животных опытной группы через 26 недель после имплантации рентгенологически отмечалась полная органотипическая перестройка кости (рис. 4, а). У кроликов группы контроля также во всех случаях отмечалось отсутствие нестабильности имплантата, однако в двух случаях определяли незначительную резорбцию на интерфейсе «имплантат-кость» (рис. 4, б).

Гистологически через 26 недель эксперимента у животных опытной группы на всем протяжении культы большеберцовой кости в компактной пластинке не выявлено её порозных изменений, расширения гаверсовых каналов, выраженной остеокластической резорбции (рис. 5). В проксимальной части культы метафизарная кость была практически не изменена

Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска; ГОСТом ISO 10993-6-2021. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации.

Этические принципы. До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета, прокол № 1(71) от 28.04.2022. Исследование проведено при соблюдении 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 года по охране животных, используемых в научных целях.

Статистические методы. Результаты в таблицах 2 и 3 представлены в виде медианы, 1-3 квартиля (Me; Q1-Q3). Нормальность выборок определяли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Процедуру статистической оценки значимости отличий показателей на сроках эксперимента с дооперационными значениями проводили с использованием W-критерия Вилкоксона. Достоверность различий между группами оценивали с помощью T-критерия Манна-Уитни. Минимальный уровень значимости (p) принимали равным 0,05.

и представлена крупно- и среднеячеистой губчатой костью с жировым костным мозгом в межтрабекулярных промежутках (рис. 5, б, д). Вокруг имплантата формировался повторяющий его форму костный футляр, представленный пластинчатой костной тканью (рис. 5, в). Костная ткань вплотную без зазоров и без соединительнотканной прослойки прилежала к структурам имплантата (рис. 5, а). В проксимальной части костно-имплантационного блока в новообразованной на поверхности имплантата кости обнаруживались многочисленные резорбционные полости (рис. 5, г). Костная ткань, врастающая в межребровые промежутки имплантата, была высоко минерализована и васкуляризована (рис. 5, е).



Рис. 4. Рентгенограммы голени кроликов через 26 недель после имплантации: а – опытная группа; б – группа контроля

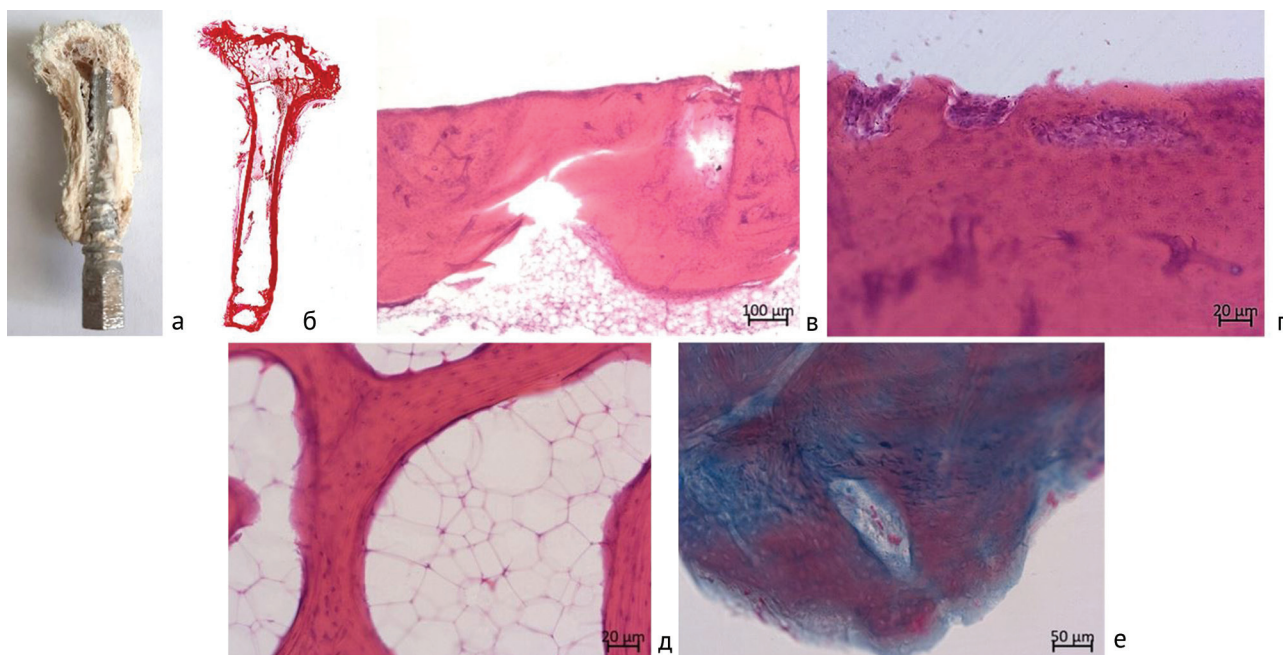


Рис. 5. Проксимальный участок кульги большеберцовой кости животных опытной группы: а – распил большеберцовой кости кролика с установленным имплантатом; б – гистотопограмма распила большеберцовой кости кролика после извлечения имплантата. Ув. 1,5×; в – формирование костного футляра на поверхности интегрированного имплантата. Ув. 50×; г – резорбционные полости на поверхности костного футляра. Ув. 200×; д – метафизарная кость. Ув. 200×; е – костная ткань в межрезьбовых пространствах. Ув. 200×. Окраска: б – по Ван-Гизону; в-д – гематоксилином и эозином; е – по Массону

Гистологически в группе контроля через 26 недель эксперимента между поверхностью СЛС-имплантата и костной тканью наблюдался плотный контакт, что обеспечивало прочное удержание имплантата в ложе кости. К данному периоду сформировался единый костно-имплантационный блок. На всем протяжении кульги кости сохранялась непрерывная компактная пластинка. Выраженных периостальных напластований не обнаруживалось. В дистальной и средней частях кульги большеберцовой кости отмечали врастание костной ткани в резьбовые межреберные углубления имплантата (рис. 6, а, б).

Исследования, выполненные методом сканирующей электронной микроскопии, показали полную интеграцию костной ткани в структурные поверхности имплантата (межрезьбовые углубления, отверстия структурах имплантата) на всем протяжении контакта кость-имплантат у животных опытной группы (рис. 7).

В контрольной группе плотный контакт костной ткани и ее интеграцию в поверхностные структуры имплантата также подтверждают данные энергодисперсионного анализа в виде электронных карт распределения остеотропных элементов в структурах распила костно-имплантационного блока (рис. 8).

Методом рентгеновского электронно-зондового микроанализа обнаружено, что в субстрате формирующегося на поверхности имплантата у кроликов опытной группы было достоверно больше во всех областях имплантата относительно животных группы контроля (табл. 2). Содержание фосфора на поверхности имплантата у животных опытной группы также было статистически значимо выше относительно контроля в проксимальной и срединной области имплантата.

В динамике эксперимента отмечены различия в активности фосфатаз в сыворотке крови экспериментальных животных (табл. 3). Так, у кроликов опытной группы отмечалось повышение активности ЩФ через 12 недель после имплантации относительно дооперационных значений. У животных группы контроля активность ЩФ, наоборот, снижалась на 3 неделе, а на 3-й и 5-й повышалась активность костного изофермента кислой фосфатазы. Также у животных группы контроля относительно опытной группы дольше удерживался повышенный уровень СРБ сыворотки крови.



Рис. 6. Формирование блока «кость-имплантат» у животных группы контроля через 26 недель эксперимента: а – распил большеберцовой кости кролика с установленным имплантатом; б – гистотопограмма распила большеберцовой кости кролика после извлечения имплантата. Окраска по Ван-Гизону. Ув. 1,5×

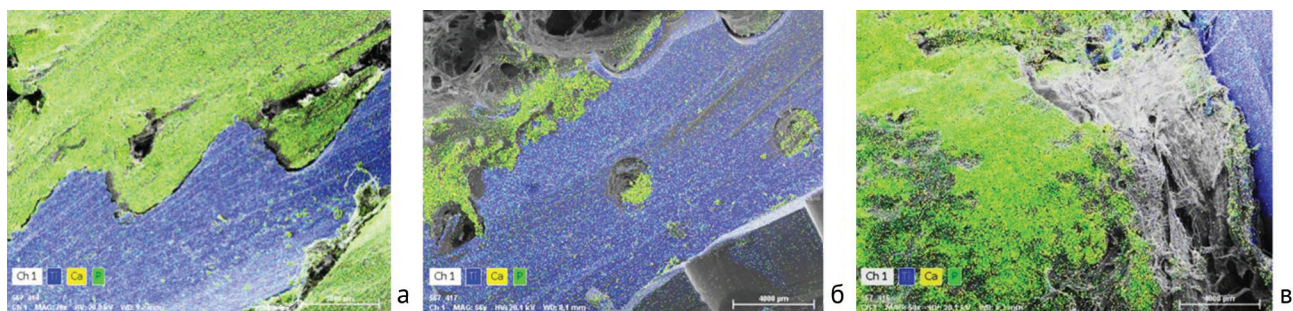


Рис. 7. Карты распределения остеотропных элементов в различных участках костно-имплантационного блока через 26 недель эксперимента, опытная группа: а – проксимальная область, б – срединная область, в – дистальная область. Рентгеновский электронно-зондовый микроанализ. Ув. 68×

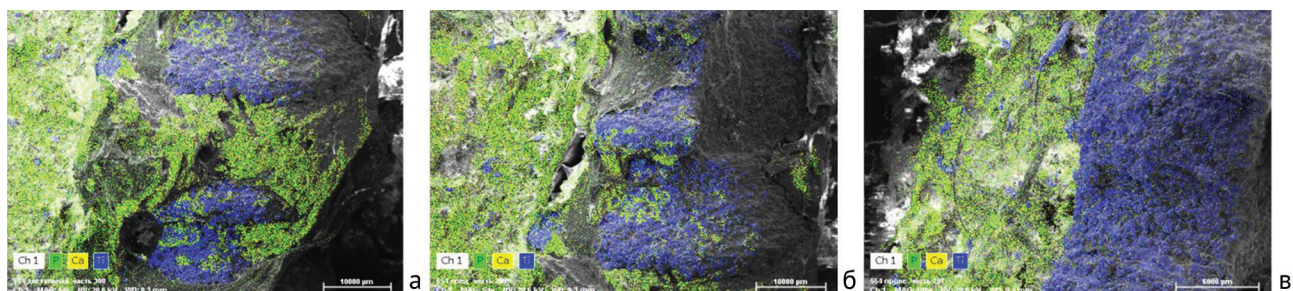


Рис. 8. Карты распределения остеотропных элементов в различных участках костно-имплантационного блока через 26 недель эксперимента, контрольная группа: а – проксимальная область, б – срединная область, в – дистальная область. Рентгеновский электронно-зондовый микроанализ. Ув. 68×

Таблица 2

Содержание кальция и фосфора (вес %) на поверхности имплантата в различных участках культы большеберцовой кости кролика через 26 недель эксперимента, Ме (Q1-Q3)

Область исследования	Кальций, вес %		Фосфор, вес %	
	опыт	контроль	опыт	контроль
Проксимальная	13,6 (13,0-14,1)*	7,3 (6,9-7,6)	4,1 (3,9-4,3)*	3,6 (3,5-3,6)
Срединная	15,8 (15,2-16,3)*	9,1 (8,9-9,4)	5,5 (5,1-5,8)*	4,6 (4,4-4,7)
Дистальная	12,2 (11,7-12,6)*	10,3 (10,0-10,5)	3,9 (3,7-4,2)	4,5 (4,2-4,8)

Примечания: * – достоверные отличия относительно группы контроля при $p < 0,05$.

Таблица 3

Изменения некоторых биохимических показателей сыворотки крови кроликов экспериментальных групп на сроках наблюдения (недели), Ме (Q1-Q3)

Показатель	Группа	0	3	5	12	26
ЩФ, Е/л	О	51 (50-59)	45 (38-49)	59 (54-61)	67#(62-73)	60 (52-62)
	К	53 (48-63)	42#(38-46)	51 (49-56)	58 (45-66)	61 (56-66)
ТрКФ, Е/л	О	28 (24-30)	30 (28-36)	33 (28-40)	25 (21-29)	19 (18-29)
	К	26 (22-26)	41#(35-42)	34#(29-38)	20 (16-28)	20 (16-29)
С-РБ, мг/мл	О	0 (0-1)	14#(4-30)	12 (2-20)	5 (0-7)	2 (0-2)
	К	0 (0-1)	13#(6-22)	10#(4-17)	2 (0-3)	4#(2-21)

Примечание: # – достоверные отличия с дооперационными значениями при $p < 0,05$. О – опытная группа; К – контрольная группа.

Другие изученные лабораторные показатели (общий белок, креатинин, мочеви́на, трансаминазы, общий кальций, неорганический фосфат, лейкоциты, эритроциты, тромбоциты) статистически значимо относительно дооперационных значений

в обеих группах в динамике наблюдения не изменялись (данные не представлены). Не отмечено и существенных отклонений лабораторных показателей при анализе индивидуальной динамики по каждому животному.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что процесс остеоинтеграции чрескожного имплантата со смешанной ультрамелкозернистой и нанокристаллической структурой был лучше относительно изделия сравнения. На это указывают данные количественных показателей рентгеновского

электронно-зондового микроанализа, которые показали более высокое содержание кальция в новообразованной костной ткани на поверхности имплантата на всем протяжении костно-имплантационного блока у животных основной группы. На активацию остеогенеза в зоне имплантации указывает и дина-

мика активности щелочной фосфатазы у кроликов опытной группы. Изменения лабораторных показателей позволяют говорить также о том, что биосовместимость имплантата из материала с ультрамелкозернистой и нанокристаллической структурой была выше относительно СЛС-имплантата. Во-первых, у животных группы контроля отмечалась остеолитическая реакция, о чем свидетельствовал рост активности ТрКФ и зафиксированные у двух животных рентгенологические признаки. Во-вторых, острофазная реакция на имплантацию у животных группы контроля, исходя из динамики СРБ, была более длительной относительно животных опытной группы. Стоит отметить, что отсутствие выраженных осложнений и значительных клинико-лабораторных отклонений у животных обеих групп в ходе всего эксперимента также говорит и о приемлемой безопасности тестируемых изделий.

Полученные нами данные согласуются с многочисленными результатами других экспериментальных исследований, в которых однозначно отмечено, что титановые имплантаты со структурированной поверхностью в сравнительных исследованиях показывают повышенные характеристики остеоинтеграции относительно имплантатов без модификации структуры материала резбовой поверхности [18-24]. Однако используемые экспериментальные модели в этих работах существенно отличаются от нашей модели. Так, в ряде работ [18, 21, 22] устанавливали дентальный имплантат в объем кости сегментов задних конечностей экспериментальных животных. В других работах дентальные имплантаты со структурированной поверхностью имплантировали по месту применения – в челюсть [19, 23, 24]. В статье Nan-Jue Cao и др. [19] с помощью SMAT-технологии титановому имплантату смогли придать градиентно наноструктурированную поверхность (GNS Ti). Установлено, что по сравнению с крупнозернистым титаном CG поверхность GNS Ti стимулирует адгезию, пролиферацию и дифференцирование клеток и улучшает остеогенез и остеоинтеграцию.

В одной из работ [20] рассмотрены преимущества остеоинтеграции титанового имплантата, поверхность которого модифицирована путем покрытия остеогенными нановолокнами, в состав которых входит поликапролактон, желатин, гидроксиапатит, дексаметазон, бета-глицерофосфат и аскорбиновая кислота. В эксперименте на кроликах титановые имплантаты с остеогенным нановолоконным покрытием показали лучшие результаты, чем контрольные образцы без покрытия. Кроме того, в регенерированной ткани вокруг имплантата отсутствовали патологические изменения.

Отдельно стоит выделить работу C.F. Jones с соавт., в которой показана эффективность остеоинтеграции

имплантатов с наноструктурированной поверхностью как в губчатую кость, так и в кортикальную [27].

Нами встречены единичные работы, в которых отмечаются преимущества в части интеграции именно чрескожных имплантатов с модифицированной поверхностью, причем авторы этих работ указывают на улучшение интеграции этих имплантатов с мягкими тканями [25, 26].

В целом, экспериментальные работы по исследованию остеоинтеграции модифицированных имплантатов продолжают. Показано, например, что в основе эффективности биоинтеграции таких имплантатов могут быть задействованы генетические механизмы [28]. Отмечается, что внедрение поверхностных модификаций биосовместимых металлов является лучшим решением для повышения характеристик коррозионной стойкости таких изделий [29]. Перспективное направление – включение в модифицированную поверхность ионов отдельных металлов [30, 31].

Несмотря на достаточно большой объем экспериментальных исследований, клинический опыт применения титановых имплантатов с объемной или поверхностной ультрамелкозернистой наноструктурой ограничен. Причиной этому может явиться то, что некоторые аспекты применения данных изделий в экспериментальных исследованиях до сих пор изучены мало. В этом плане стоит выделить работу [32], в которой отмечается, что в исследованиях влияния модификации структуры титановых имплантатов практически не изучаются топографические и химические изменения поверхностей после остеоинтеграции, не описаны осложнения их применения, не освещается выживаемость изделий в долгосрочном периоде, особенно с учетом условий постоянной нагрузки на кость. А. Jayasree с соавт. отдельно отмечают, что выявленные в большинстве экспериментальных работ положительные эффекты остеоинтеграции могут быть связаны с тем, что имплантат у животных, как правило, не несет механических нагрузок, поэтому для преодоления такого разрыва в долгосрочной перспективе необходимы исследования *in vivo* на крупных моделях животных с механической нагрузкой [33].

Оценивая в целом текущее состояние тематики можно отметить, что преимущество проведенного нами исследования заключается в том, что титановые имплантаты со смешанной ультрамелкозернистой и нанокристаллической структурой были изучены на модели, приближенной к модели клинического применения, с достаточно длительным сроком наблюдения. Это делает перспективным применение таких имплантатов для решения клинических задач протезирования. Очевидно, что ограничения данного исследования касаются объемов выборок экспериментальных животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследований на кроликах показали, что применение чрескожных имплантатов, изготовленных из сплава Ti Grade 4 со смешанной нанокристаллической и ультрамелкозернистой структурой

методом механической обработки, в условиях компрессионного нагружения 3,5 Н в течение 5 недель позволяет улучшить характеристики остеоинтеграции в сравнении с СЛС-имплантатами из титанового сплава Ti6Al4V.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Исследование выполнено в рамках темы «Управляемая одноэтапная остеointеграция чрескожных имплантатов с механобиологическим стимулированием костеобразования в условиях системы внешней фиксации» государственного задания на осуществление научных исследований и разработок ФГБУ «НМИЦ ТО им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, а также при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Программы развития Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина в соответствии с программой стратегического академического лидерства «Приоритет-2030».

Этическая экспертиза. До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета, протокол № 1(71) от 28.04.2022.

Информированное согласие. Не требуется.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sánchez-Bodón J, Andrade Del Olmo J, Alonso JM, et al. Bioactive Coatings on Titanium: A Review on Hydroxylation, Self-Assembled Monolayers (SAMs) and Surface Modification Strategies. *Polymers* (Basel). 2021;14(1):165. doi: 10.3390/polym1401016
2. Xu J, Zhang J, Shi Y, et al. Surface Modification of Biomedical Ti and Ti Alloys: A Review on Current Advances. *Materials* (Basel). 2022;15(5):1749. doi: 10.3390/ma15051749
3. Jain S, Parashar V. Analytical review on the biocompatibility of surface-treated Ti-alloys for joint replacement applications. *Expert Rev Med Devices*. 2022;19(9):699-719. doi: 10.1080/17434440.2022.2132146
4. Kaur M, Singh K. Review on titanium and titanium based alloys as biomaterials for orthopaedic applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2019;102:844-862. doi: 10.1016/j.msec.2019.04.064
5. Su EP, Justin DF, Pratt CR, et al. Effects of titanium nanotubes on the osseointegration, cell differentiation, mineralisation and antibacterial properties of orthopaedic implant surfaces. *Bone Joint J*. 2018;100-B(1 Suppl A):9-16. doi: 10.1302/0301-620X.100B1.BJJ-2017-0551.R1
6. Zhan X, Li S, Cui Y, et al. Comparison of the osteoblastic activity of low elastic modulus Ti-24Nb-4Zr-8Sn alloy and pure titanium modified by physical and chemical methods. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2020;113:111018. doi: 10.1016/j.msec.2020.111018
7. Чекишева Т.Н. Наноматериалы и их роль в регенерации костной ткани. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2019;8(4):19-24. doi: 10.31088/CEM2019.8.4.19-24
8. Souza JCM, Sordi MB, Kanazawa M, et al. Nano-scale modification of titanium implant surfaces to enhance osseointegration. *Acta Biomater*. 2019;94:112-131. doi: 10.1016/j.actbio.2019.05.045
9. Шулятникова О.А., Рогожников Г.И., Порозова С.Е. и др. Функциональные наноструктурированные материалы на основе диоксида титана для использования в ортопедической стоматологии. *Проблемы стоматологии*. 2020;16(1):171-177. doi: 10.18481/2077-7566-20-16-1-171-177
10. Wang C, Gao S, Lu R, et al. In Vitro and In Vivo Studies of Hydrogenated Titanium Dioxide Nanotubes with Superhydrophilic Surfaces during Early Osseointegration. *Cells*. 2022;11(21):3417. doi: 10.3390/cells11213417
11. Zhang Y, Gulati K, Li Z, et al. Dental Implant Nano-Engineering: Advances, Limitations and Future Directions. *Nanomaterials* (Basel). 2021;11(10):2489. doi: 10.3390/nano11102489
12. Darter BJ, Syrett ED, Foreman KB, et al. Changes in frontal plane kinematics over 12-months in individuals with the Percutaneous Osseointegrated Prosthesis (POP). *PLoS One*. 2023;18(2):e0281339. doi: 10.1371/journal.pone.0281339
13. Hagberg K, Ghasemi Jahani SA, Omar O, Thomsen P. Osseointegrated prostheses for the rehabilitation of patients with transfemoral amputations: A prospective ten-year cohort study of patient-reported outcomes and complications. *J Orthop Translat*. 2022;38:56-64. doi: 10.1016/j.jot.2022.09.004
14. Sinclair S, Beck JP, Webster J, et al. The First FDA Approved Early Feasibility Study of a Novel Percutaneous Bone Anchored Prosthesis for Transfemoral Amputees: A Prospective 1-year Follow-up Cohort Study. *Arch Phys Med Rehabil*. 2022;103(11):2092-2104. doi: 10.1016/j.apmr.2022.06.008
15. Еманов А.А., Горбач Е.Н., Стогов М.В. и др. Выживаемость чрескожных имплантатов в условиях различной механической нагрузки на кость. *Гений ортопедии*. 2018;24(4):500-506. doi: 10.3390/10.18019/1028-4427-2018-24-4-500-506
16. Кузнецов В.П., Горгоц В.Г., Аникеев А.В., Еманов А.А. Производство новых внутрикостных остеointегрируемых имплантатов методом аддитивных технологий. *Вестник Курганского государственного университета. Серия «Технические науки»*. 2017;(2):120-125.
17. Каплан М.А., Смирнов М.А., Кирсанкин А.А., Севостьянов М.А. Свойства изделий из титанового сплава Ti6-Al4-V, полученных методом селективного лазерного плавления. *Физика и химия обработки материалов*. 2019;(3):46-57. doi: 10.30791/0015-3214-2019-3-46-57
18. Almeida D, Sartoretto SC, Calasans-Maia JA, et al. In vivo osseointegration evaluation of implants coated with nanostructured hydroxyapatite in low density bone. *PLoS One*. 2023;18(2):e0282067. doi: 10.1371/journal.pone.0282067
19. Cao NJ, Zhu YH, Gao F, et al. Gradient nanostructured titanium stimulates cell responses in vitro and enhances osseointegration in vivo. *Ann Transl Med*. 2021;9(7):531. doi: 10.21037/atm-20-7588
20. Das S, Dholam K, Gurav S, et al. Accentuated osseointegration in osteogenic nanofibrous coated titanium implants. *Sci Rep*. 2019;9(1):17638. doi: 10.1038/s41598-019-53884-x
21. Hasegawa M, Saruta J, Hirota M, et al. A Newly Created Meso-, Micro-, and Nano-Scale Rough Titanium Surface Promotes Bone-Implant Integration. *Int J Mol Sci*. 2020;21(3):783. doi: 10.3390/ijms21030783
22. He W, Yin X, Xie L, et al. Enhancing osseointegration of titanium implants through large-grit sandblasting combined with micro-arc oxidation surface modification. *J Mater Sci Mater Med*. 2019;30(6):73. doi: 10.1007/s10856-019-6276-0
23. Hoornaert A, Vidal L, Besnier R, et al. Biocompatibility and osseointegration of nanostructured titanium dental implants in minipigs. *Clin Oral Implants Res*. 2020;31(6):526-535. doi: 10.1111/clr.13589
24. Salou L, Hoornaert A, Stanovici J, et al. Comparative bone tissue integration of nanostructured and microroughened dental implants. *Nanomedicine* (Lond). 2015;10(5):741-51. doi: 10.2217/nmm.14.223
25. Farrell BJ, Prilutsky BI, Ritter JM, et al. Effects of pore size, implantation time, and nano-surface properties on rat skin ingrowth into percutaneous porous titanium implants. *J Biomed Mater Res A*. 2014;102(5):1305-15. doi: 10.1002/jbm.a.34807
26. Van den Borre CE, Zigterman BGR, Mommaerts MY, Braem A. How surface coatings on titanium implants affect keratinized tissue: A systematic review. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2022;110(7):1713-1723. doi: 10.1002/jbm.b.35025
27. Jones CF, Quarrington RD, Tsangari H, et al. A Novel Nanostructured Surface on Titanium Implants Increases Osseointegration in a Sheep Model. *Clin Orthop Relat Res*. 2022;480(11):2232-2250. doi: 10.1097/CORR.0000000000002327
28. Morandini Rodrigues L, Lima Zutin EA, Sartori EM, et al. Nanoscale hybrid implant surfaces and Osterix-mediated osseointegration. *J Biomed Mater Res A*. 2022;110(3):696-707. doi: 10.1002/jbm.a.37323
29. Asri RIM, Harun WSW, Samykano M, et al. Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2017;77:1261-1274. doi: 10.1016/j.msec.2017.04.102
30. Ding M, Shi J, Wang W, et al. Early osseointegration of micro-arc oxidation coated titanium alloy implants containing Ag: a histomorphometric study. *BMC Oral Health*. 2022;22(1):628. doi: 10.1186/s12903-022-02673-6

31. Li X, Wang M, Zhang W, et al. A Magnesium-Incorporated Nanoporous Titanium Coating for Rapid Osseointegration. *Int J Nanomedicine*. 2020;15:6593-6603. doi: 10.2147/IJN.S255486
32. Gulati K, Scimeca JC, Ivanovski S, Verron E. Double-edged sword: Therapeutic efficacy versus toxicity evaluations of doped titanium implants. *Drug Discov Today*. 2021;26(11):2734-2742. doi: 10.1016/j.drudis.2021.07.004
33. Jayasree A, Ivanovski S, Gulati K. ON or OFF: Triggered therapies from anodized nano-engineered titanium implants. *J Control Release*. 2021;333:521-535. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.03.020

Статья поступила в редакцию 10.07.2023; одобрена после рецензирования 11.08.2023; принята к публикации 25.08.2023.

The article was submitted 10.07.2023; approved after reviewing 11.08.2023; accepted for publication 25.08.2023.

Информация об авторах:

1. Максим Валерьевич Стогов – доктор биологических наук, доцент, руководитель отдела, stogo_off@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8516-8571>;
2. Андрей Александрович Еманов – кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, a_eman@list.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2890-3597>;
3. Виктор Павлович Кузнецов – доктор технических наук, профессор, заведующий лабораторией, профессор кафедры, wpkuzn@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8949-6345>;
4. Елена Николаевна Горбач – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, gorbach.e@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9516-7481>;
5. Елена Анатольевна Киреева – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник; ea_tkachuk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1006-5217>;
6. Андрей Викторович Корелин – кандидат технических наук, доцент, начальник управления, УрФУ, a.v.korelin@urfu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0650-2805>.

Information about the authors:

1. Maksim V. Stogov – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Head of Department, stogo_off@list.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8516-8571>;
2. Andrey A. Emanov – Candidate of Veterinary Sciences, Leading Researcher, a_eman@list.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2890-3597>;
3. Viktor P. Kuznetsov – Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of Laboratory, Professor of the Department, wpkuzn@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8949-6345>;
4. Elena N. Gorbach – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, gorbach.e@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9516-7481>;
5. Elena A. Kireeva – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher; ea_tkachuk@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1006-5217>;
6. Andrey V. Korelin – Candidate of Technical Sciences, Associate Professor, Head of Department, UrFU, a.v.korelin@urfu.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0650-2805>.

Вклад авторов:

Стогов М.В. – разработка методологии, создание мета-данных, написание первоначального проекта работы.
Еманов А.А. – проведение экспериментов, подготовка работы к публикации, визуализация данных.
Кузнецов В.П. – идея, создание моделей, подготовка работы к публикации.
Горбач Е.Н. – сбор данных, подготовка работы к публикации, визуализация данных.
Киреева Е.А. – сбор данных, статистическая оценка.
Корелин А.В. – создание моделей, подготовка работы к публикации.