



Эффективность использования 3D-имплантатов с биоактивными свойствами для замещения обширных дефектов костей: экспериментальное исследование

А.В. Попков, Н.А. Кононович, Е.Н. Горбач, Д.А. Попков

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

Реферат

Актуальность. Проблема замещения обширных костных дефектов остается актуальной. Использование имплантационных конструкций с биоактивными свойствами может стимулировать остеогенез, что улучшит окончательный результат лечения. **Цель исследования** — в эксперименте *in vivo* изучить возможность замещения обширного дефекта диафиза кости персональным биоактивным ячеистым 3D-имплантатом и оценить отдаленные результаты его использования. **Материал и методы.** В эксперименте *in vivo* взрослым крупным беспородным собакам ($n = 8$) моделировали обширный сегментарный дефект диафиза большеберцовой кости величиной 4 см. Дефект замещали ячеистым биоактивным 3D-имплантатом из титанового сплава Ti6Al4V, изготовленным по аддитивной технологии. Диаметр ячеек составлял в среднем 1,5 мм. Стенки имплантата имели поры размером 100–300 мкм. Внутренние и наружные поверхности были покрыты кальций-фосфатным слоем, сформированным методом микродугового оксидирования. Первичную фиксацию обеспечивали аппаратом Илизарова. В раннем послеоперационном периоде проводили антибиотикопрофилактику препаратами широкого спектра действия. Для анализа результатов использовали клинический, рентгенографический, гистологический и статистический методы. Основными контрольными точками считали: окончание внешней фиксации аппаратом Илизарова, через 180 сут. и через 1 год после прекращения внешней фиксации. **Результаты.** На протяжении эксперимента гибели животных и осложнений не наблюдали. Пространственное расположение имплантата сохранялось. Формирование прочного костно-имплантационного блока происходило через $37,2 \pm 6,3$ сут. после операции. В этот период аппарат внешней фиксации демонтировали. Остеоинтеграция обеспечивалась в условиях достаточной первичной механической стабильности за счет ячеистой структуры имплантата, наличия пор на его стенках и остеоиндуктивных свойств нанесенного кальций-фосфатного покрытия. Достигнутая степень остеоинтеграции сохранялась и в отдаленные периоды (через 6 мес. и 1 год после прекращения внешней фиксации). Остеоиндуктивные свойства кальций-фосфатного покрытия подтверждались экспрессией клетками остеопонтина на всех этапах эксперимента. Оттока Ca и P из отломков кости не наблюдали. На поверхности имплантата была образована эластичная оболочка, по строению схожая с надкостницей. Ячейки имплантата были заполнены хорошо васкуляризированным костным субстратом. В проекции интермедиарной зоны формировалась компактная костная ткань, а в проекции костномозгового канала — ретикулофиброзный костный мозг. Это свидетельствует о возможности органотипического ремоделирования структур кости внутри имплантата. **Заключение.** Результаты исследования показали эффективность использования биоактивного ячеистого 3D-имплантата для замещения обширного дефекта диафиза кости. Архитектоника и остеоиндуктивные свойства поверхности имплантата способствовали формированию полной остеоинтеграции в короткие сроки с сохранением достигнутого результата в отдаленные периоды.

Ключевые слова: дефект кости, 3D-имплантат, аддитивные технологии, биоактивное покрытие, остеоинтеграция, аппарат Илизарова.

Источник финансирования: работа выполнена в рамках программы НИР Государственного задания на 2018–2020 гг. «Разработка и экспериментальное обоснование биоактивного кастомизированного остеосинтеза». Результаты будут использованы в качестве контроля при выполнении программы НИР Государственного задания на 2021–2023 гг. «Биоактивный остеосинтез поврежденных длинных трубчатых костей».

Попков А.В., Кононович Н.А., Горбач Е.Н., Попков Д.А. Эффективность использования 3D-имплантатов с биоактивными свойствами для замещения обширных дефектов костей: экспериментальное исследование. *Травматология и ортопедия России*. 2021;27(1):37-52. <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-1-37-52>.

Cite as: Popkov A.V., Kononovich N.A., Gorbach E.N., Popkov D.A. [Efficiency of 3D Implants with Bioactive Properties for Treatment Extensive Bone Defects: Experimental Study]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2021;27(1):37-52. (In Russian). <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2021-27-1-37-52>.

Кононович Наталья Андреевна / Natalia A. Kononovich; e-mail: n.a.kononovich@mail.ru

Рукопись поступила/Received: 01.11.2020. Принята в печать/Accepted for publication: 28.12.2020.

Efficiency of 3D Implants with Bioactive Properties for Treatment of Extensive Bone Defects: Experimental Study

Arnold V. Popkov, Natalia A. Kononovich, Elena N. Gorbach, Dmitriy A. Popkov

Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia

Abstract

Background. The problem of replacing extensive bone defects remains relevant. The use of implant structures with bioactive properties can stimulate osteogenesis, which will improve the final treatment result. **The aim of the study.** In an in vivo experiment, to study the possibility of replacing an extensive defect in the bone diaphysis with a personal bioactive cellular 3D implant and evaluate the long-term results of its use. **Materials and Methods.** In an in vivo experiment, adult large mongrel dogs ($n = 8$) were modeled with an extensive segmental defect of the tibial diaphysis measuring 4 cm. The defect was replaced with a cellular bioactive 3D implant made of titanium alloy Ti6Al4V, manufactured using the additive technology. The diameter of the cells was 1.5 mm on average. The walls of the implant had pores of 100–300 μm in size. The inner and outer surfaces were coated with a calcium phosphate layer formed by micro-arc oxidation. The primary fixation was provided with the Ilizarov apparatus. In the early postoperative period, antibiotic prophylaxis with broad-spectrum drugs was performed. Clinical, X-ray, histological and statistical methods were used to analyze the results. The main control points were considered: the end of external fixation with the Ilizarov apparatus, after 180 days and 1 year after the termination of external fixation. **Results.** During the experiment, the death of animals and complications were not observed. The spatial location of the implant was preserved. The formation of a strong bone-implantation block occurred 37.2 ± 6.3 days after the operation. During this period, the external fixation apparatus was dismantled. Osseointegration was provided under conditions of sufficient primary mechanical stability, due to the cellular structure of the implant, the presence of pores on its walls, and the osteoinductive properties of the applied calcium phosphate coating. The achieved degree of osseointegration persisted in long-term periods (6 months and 1 year after the termination of external fixation). The osteoinductive properties of the calcium phosphate coating were confirmed by the expression of osteopontin cells at all stages of the experiment. Outflow of Ca and P from bone fragments was not observed. An elastic sheath was formed on the surface of the implant, similar in structure to the periosteum. The implant cells were filled with a well-vascularized bone substrate. In the projection of the intermediate zone, compact bone tissue was formed, and in the projection of the medullary canal — reticulofibrous bone marrow. This indicates the possibility of organotypic remodeling of bone structures inside the implant. **Conclusion.** The results of the study showed the effectiveness of using a bioactive cellular 3D implant to replace an extensive defect in the shaft of the bone. The architectonics and osteoinductive properties of the implant surface contributed to the formation of complete osseointegration in a short time, while maintaining the achieved result in long-term periods.

Keywords: bone defect, 3D implant, additive technologies, bioactive coating, osseointegration, Ilizarov apparatus.

Funding: state budgetary funding.

Введение

В Российской Федерации последствия травм выходят на первое место среди причин первичной инвалидности у граждан трудоспособного возраста, не имея при этом тенденции к снижению, и сопровождаются огромными экономическими потерями для государства [1]. Данные литературы свидетельствуют, что псевдоартрозы и дефекты костей предпочитают лечить открытыми хирургическими методами с применением металлоостеосинтеза, костной аутопластики, микрохирургической техники [2]. Однако неудовлетворительные исходы лечения свободными алло- и ауто трансплантатами обусловлены отсутствием полноценного внутрикостного кровообращения [3].

Наиболее эффективны в лечении ложных суставов и дефектов костей методики чрескостного

остеосинтеза, разработанные акад. Г.А. Илизаровым и основанные на атравматичности оперативного вмешательства, стабильности фиксации, дозированном напряжении формообразовательных процессов, полноценном кровоснабжении и функциональной нагрузке [4]. Однако длительность (от 3 до 11 мес. в зависимости от локального статуса) и многоэтапность стационарного лечения, сложность и трудоемкость остеосинтеза, необходимость постоянной курации весь период лечебно-реабилитационных мероприятий, снижение качества жизни пациентов во время остеосинтеза аппаратом наружной фиксации остаются нерешенными проблемами [5, 6].

Патологические процессы нарушения костеобразования при ряде системных и хронических инфекционных поражений сопровождаются фор-

мированием участков кости с ослабленными механическими свойствами, что может наблюдаться при внутрикостных фиброзных, хондроматозных очагах, наличии кист. Подобные изменения определяют и при краевом формировании дистракционного регенерата. Это также требует длительного времени для спонтанного замещения костного дефекта даже при образовании участка кортикальной пластинки [7, 8, 9, 10]. Важной проблемой является потеря костного вещества вследствие травматических поражений с последующей консолидацией костных фрагментов, но с сохранением дефектов эпиметафизарной зоны или продольных дефектов длинных костей. Это ведет к серьезному ослаблению прочностных характеристик кости и нарушению ее формы [11, 12, 13]. Для решения подобного рода задач применяют аддитивные технологии изготовления медицинских изделий из различных материалов заданной формы и структуры поверхности. Это позволяет учитывать индивидуальные анатомические особенности пациентов и приводит к лучшим функциональным результатам лечения [14, 15, 16, 17]. Многие исследователи отмечают повышенную эффективность имплантатов, обладающих osteoconductive и osteoinductive свойствами. В данном направлении ведутся активные разработки как в России, так и за рубежом [18, 19, 20, 21]. Очевидно, что для специалистов наибольший интерес представляют отдаленные результаты доклинических и клинических испытаний таких изделий.

Цель исследования — в эксперименте *in vivo* изучить возможность замещения обширного дефекта диафиза кости персональным биоактивным ячеистым 3D-имплантатом и оценить отдаленные результаты его использования.

Материал и методы

Дизайн исследования

Проведено исследование *in vivo* на 8 взрослых беспородных собаках обоего пола, которым выполняли замещение дефекта диафиза костей голени высотой 40,0 мм индивидуальным биоактивным ячеистым 3D-имплантатом. Дефект считался критического размера, так как его величина более чем в два раза превышала диаметр замещаемого участка кости.

Критерии соответствия

Все животные были клинически здоровы, их возраст варьировал в диапазоне 1,0–2,5 года, длина большеберцовой кости составляла $18,1 \pm 0,6$ см, а диаметр в середине диафиза — $15,4 \pm 1,5$ мм. Эти данные являлись основными критериями включения животных в исследование. Перед началом эксперимента были определены критерии исклю-

чения. К ним отнесли: гибель животного и другие патологические состояния, не связанные с условиями эксперимента; ошибки, допущенные во время оперативного вмешательства, не связанные с характеристиками тестируемого изделия.

Условия проведения

Животные содержались в условиях вивария в индивидуальных боксах (по одной особи в боксе), где обеспечивался одинаковый температурный режим и условия освещения. Рацион включал в себя чистую питьевую воду без ограничений и сбалансированные по питательным веществам одинаковые корма. Все хирургические манипуляции выполнялись в условиях операционной одной хирургической бригадой. При замещении обширных дефектов тестируемыми изделиями костные отломки фиксировали аппаратом Илизарова до формирования опороспособного костно-имплантационного блока. Для предотвращения возникновения инфекционных осложнений всем животным проводили антибиотикопрофилактику препаратами класса цефалоспоринов I поколения по укороченной схеме в рекомендуемых дозах (внутривенно однократно, одновременно с введением наркозного препарата, а затем внутримышечно в течение 2 сут. после операции). После оперативного вмешательства обрабатывали швы антисептическими препаратами ежедневно до их снятия.

Перед использованием все тестируемые изделия подвергались стерилизации в автоклаве по следующей процедуре: 121°C в течение 30 мин., затем их сушка не менее 1 ч.

Продолжительность исследования

Общая продолжительность эксперимента превышала 1 год и составляла 400–407 сут. после выполнения оперативного вмешательства.

Были определены следующие периоды окончания эксперимента: конец фиксации аппаратом Илизарова (КФ), после прекращения внешней фиксации через 180 сут. (БА 180) и через 1 год (БА 1 год). В эти периоды животных эвтаназировали путем внутривенного введения летальных доз тиопентала натрия с предварительной премедикацией общепринятыми фармакологическими препаратами.

Характеристика тестируемых изделий

Для каждого животного были изготовлены имплантаты по аддитивной технологии путем лазерного спекания порошков титанового сплава Ti6Al4V с последующим нанесением кальций-фосфатного покрытия (патент на полезную модель RU 171823 U1). Для этого перед началом эксперимента животным выполняли компьютерную томографию правой голени. По трехмерным изо-

бражениям опытного сегмента изготавливали индивидуальные кастомизированные имплантаты заданных размеров.

Имплантаты были в виде цилиндров, которые состояли из центральной части и двух наружных частей (торцевых). Центральная часть (тело) представляла собой решетчатую структуру высотой 40 мм. Ее внутреннее пространство разделяли ячейки. Стенки, образующие ячейки, были величиной 1,5 мм, толщиной 0,5 мм и имели поры размером 300–500 мкм. Торцевые части имплантатов были в виде замкнутых ободков высотой 10 мм каждый, с отверстиями диаметром 1,5 мм для возможности фиксации имплантата к концам костных фрагментов при помощи шурупов. У всех изделий стенка торцевых частей была толщиной 1 мм и имела поры размером 100–300 мкм. Все поверхности имплантата (наружные и внутренние) были покрыты биоактивным слоем гидроксиапатита, сформированным по технологии микродугового оксидирования на базе Национального исследовательского Томского политехнического университета.

Техника оперативного вмешательства

Перед операцией животным удаляли шерстный покров на опытной конечности. После этого их наркотизировали. В качестве наркозного средства использовали тиопентал натрия в рекомендуемых дозировках, который вводили внутривенно.

Животных фиксировали на операционном столе в боковом положении. На опытную голень монтировали аппарат Илизарова по описанной ранее технологии [22]. Принципиальным отличием являлось лишь то, что на втором и третьем функциональном уровнях (ближе к концам костных отломков) проводили по одной спице через каждый отломок. Соответственно, общее количество чрескостно проведенных спиц составляло 6 шт, вместо 8 (при классическом варианте фиксации). Такой вариант фиксации был выбран для исключения травматизации передней и латеральной групп мышц спицами.

После этого с медиальной поверхности голени, в области средней трети диафиза большеберцовой кости, скальпелем выполняли продольный разрез мягких тканей, включая надкостницу. Надкостницу аккуратно отслаивали от компактного слоя кости хирургическим распатором и вместе с прилегающими мышцами отодвигали в латеральном направлении с целью предотвращения их повреждения во время выполнения остеотомии. Далее при помощи осциллирующей пилы выпиливали участок диафиза протяженностью 40,0 мм. В образовавшийся дефект устанавливали стерильный индивидуальный ячейчатый биоактивный 3D-имплантат таким образом, чтобы концы

костных отломков были внедрены в торцевые части имплантата (в ободки) (рис. 1). Во всех случаях надкостницу и другие мягкие ткани ушивали послойно узловыми швами.

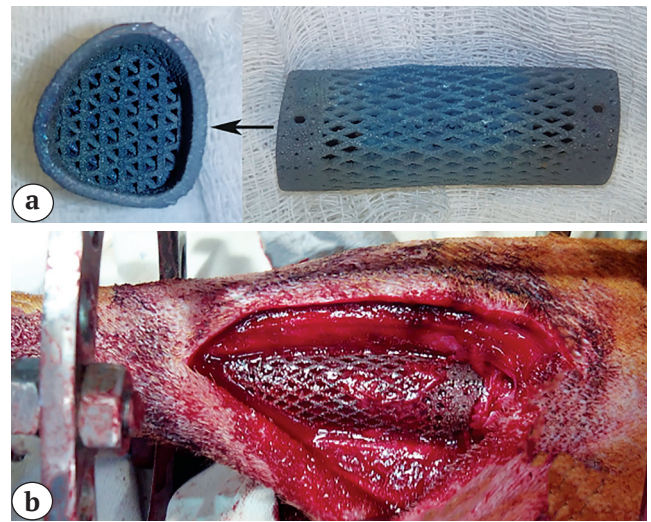


Рис. 1. Внешний вид ячейчатого биоактивного 3D-имплантата для замещения дефекта диафиза кости (а); этап операции (после установки имплантата в дефект диафиза большеберцовой кости собаки величиной 4 см) (b)

Figure 1. Cellular bioactive 3D implant for replacing a defect in the diaphysis of the bone (a); the stage of the operation (after installing the implant into the defect of the diaphysis of the tibia of a dog measuring 4 cm) (b)

Основной исход исследования

Для достижения цели в периоды, обозначенные контрольными точками, отмечали:

- опорную функцию конечности;
- пространственное положение имплантата относительно продольной оси сегмента;
- сроки формирования опороспособного костно-имплантационного блока (период прекращения фиксации аппаратом наружной конструкции);
- признаки интеграции ткани на поверхности и внутри имплантата.

Дополнительные исходы исследования

Дополнительно оценивали общее состояние животных, локальное состояние мягких тканей в области расположения имплантатов.

Методы регистрации исходов

Для получения основных исходов исследования одним из методов являлся клинический осмотр, с помощью которого пальпаторно и визуально оценивали ось опытной конечности и ее опороспособность.

Формирование прочного костно-имплантационного блока регистрировали на основании

результатов клинической пробы и рентгенографического исследования. Для проведения клинической пробы удаляли стержни, соединяющие подсистемы аппарата Илизарова. К костным отломкам руками прикладывали флекссионные и ротационные нагрузки. Отсутствие патологической подвижности и болезненности в области контакта имплантата с костными отломками свидетельствовало о достигнутой остеоинтеграции. Если определялась тугая патологическая подвижность, резьбовые стержни устанавливали обратно и фиксацию аппаратом продолжали.

Рентгенографию выполняли в прямой и боковой проекциях с помощью рентгеновского аппарата VEP X Technology Premium VET (Испания). Технические условия съемки были одинаковыми. Фокусное расстояние составляло 97 см, сила тока — 2,5–3,2 мА, напряжение на трубке — 44–46 кВ. На рентгенограммах отмечали: пространственное расположение имплантата по отношению к продольной оси сегмента; признаки костеобразования на поверхности имплантата, костных отломков и в области видимого контакта торцевых участков имплантата с концами костных отломков. Отмечали наличие или отсутствие признаков остеосклероза, костной деструкции и патологического изменения корковой пластинки.

Оценку особенностей костеобразования на поверхности имплантата и внутри ячеек выполняли гистологическими методами: световой и сканирующей электронной микроскопией. Этими методами исследованы костно-имплантационные блоки, полученные в периоды: КФ ($n = 3$), БА 180 ($n = 3$) и БА 1 год ($n = 2$).

Для этого после эвтаназии животных выпиливали костно-имплантационные блоки, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 14 сут. Затем их распиливали на фрагменты в поперечной и продольной плоскостях на прецизионном отрезном станке IsoMet 4000 (Buehler, США). С одной половины распила вырезали фрагменты тканей с поверхности имплантата и из его ячеек, дегидратировали в спиртах восходящей концентрации (от 70 до 100), заливали в парафин и в эпоксидную смолу. Парафиновые гистологические срезы готовили с помощью микротомы фирмы Reichert (Австрия) и окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, а также с постановкой иммуногистохимической реакции с применением поликлональных антител против остепонтина (протокол и реактивы фирмы Abscam, Англия). Полутонкие срезы готовили с помощью ультрамикротомы LKB Bromma Ultratome Nova (Швеция) и окрашивали метиленовым синим с предварительной постановкой ШИК-реакции. Гистологические срезы исследовали с помощью стереомикроскопа AxioScope.A1

и цифровой камеры AxioCam ICc 5 в комплекте с программным обеспечением Zen blue (Carl Zeiss, Германия).

Вторую половину костно-имплантационного блока высушивали по оригинальной технологии и исследовали при помощи энергодисперсионного рентгеновского спектрометра для электронной микроскопии QUANTEX EDS (Bruker, США), смонтированного на базе сканирующего растрового электронного микроскопа EVO 18 (Carl Zeiss, Германия). Определяли содержание кальция и фосфора, а также их соотношение в тканевом матриксе внутри ячеек и на поверхности имплантата. Для каждой исследуемой зоны одного костно-имплантационного блока анализировали по 6 полей зрения.

В качестве нормы использовали значения, полученные при исследовании интактных диафизов 10 собак аналогичного возраста и содержащихся в таких же условиях.

Дополнительные исходы определяли клиническим методом. Для этого в периоды, обозначенные контрольными точками, отмечали поведенческие реакции животных, интенсивность приема корма и воды, наличие или отсутствие инфекционных и неврологических осложнений. Визуально контролировали состояние покровных тканей в области оперативного доступа.

Статистический анализ

Количественные данные подвергали статистической обработке с использованием программы AtteStat 13.1 (Россия). Совокупности количественных показателей описывались при помощи значений медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Для сравнения независимых совокупностей использовался *U*-критерий Манна-Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Основные результаты исследования

При оценке функции опытного сегмента на следующий день после операции определили отсутствие опоры, а через 2–3 сут. животные начинали осторожно приступить на конечность. Уже к 7-м суткам эксперимента они пользовались конечностью, однако наблюдалась хромота опирающегося типа, признаки которой практически полностью исчезали к окончанию периода фиксации. На протяжении опыта визуально и пальпаторно нарушение оси сегмента (формирование деформаций) не определяли.

Сразу после операции на рентгенограммах ось сегмента была правильная. Имплантат четко визуализировался. Первые признаки формирования костно-имплантационного блока появлялись через 14 сут. фиксации. Они были в виде тонких

нечетких теней периостального происхождения (толщиной до 2 мм, протяженностью до 3 мм). Эти тяжи соединяли поверхность кости с торцевыми отделами имплантата. В проекции костномозговых полостей отломков наблюдали тени эндостальной реакции. На последующих сроках толщина, протяженность и интенсивность периостальных теней увеличивались. Они формировались не только в области контакта имплантата с костью, но и на поверхности отломков.

К окончанию периода фиксации аппаратом Илизарова тени периостальных наслоений приобретали более компактизированную и четкую структуру и в виде своеобразной «муфты» объединяли торцевые участки имплантатов с корковым слоем кости. Эндостальная реакция в костных отломках сохранялась. Сроки аппаратной фиксации составляли в среднем $37,2 \pm 6,3$ сут., из них 28–35 сут. — в 5 наблюдениях, у остальных животных — 42–47 сут. (рис. 2а). Как в данный период, так и в более поздние сроки после прекращения аппаратной фиксации (БА 180 сут., БА 1 год) не определяли участки остеосклероза или костной деструкции. В области видимого контакта торцевых отделов имплантата с костью не было признаков патологического изменения корковой пластинки (рис. 2б).

При гистологическом исследовании, когда был сформирован прочный костно-имплантационный блок (период КФ), на поверхности имплантата выявляли образование рыхлой волокнистой соединительной ткани, близкой по строению к надкостнице, в которой определялись сосуды и нервные стволы. В новообразованной надкостнице отмечали наличие клеток, экспрессирующих остеопонтин, обнаруживающихся как периваскулярно, так и в удаленных от сосудов участках (рис. 3а). При исследовании методом СЭМ на картах рентгеновского электронно-зондового микроанализа определяли интеграцию тканевого компонента со стенками имплантата во всех участках. Более минерализованная ткань отмечалась вблизи торцевых отделов имплантата. Отмечали прорас-

тание в ячейки большого количества микрососудов, на поверхности которых определяли наличие костного субстрата. Не выявили резорбции костной ткани компактной пластинки концов отломков (рис. 3б). К этому сроку ячейки имплантата были заполнены костным веществом, сходным по плотности с губчатой костью (рис. 3с).

Через 180 сут. после демонтажа аппарата наружная поверхность имплантата была покрыта белой непрозрачной эластичной оболочкой, по гистоструктурной организации представляющая собой надкостницу. Ее наружный слой был хорошо васкуляризован. Периваскулярные клетки обладали остеогенной потенцией, о чем свидетельствовала экспрессия остеопонтина некоторыми из них. При исследовании имплантатов методом сканирующей электронной микроскопии и рентгеновского электронно-зондового микроанализа обнаружено, что в ячейках, приближенных к костным концам, на расстоянии до 5–7 мм от зоны контакта обнаруживались фрагменты мелкоячеистой губчатой кости (рис. 4а, б). В проекции интермедиарной зоны срединной части имплантата внутри ячеек формировалась минерализующаяся костная ткань, о чем свидетельствовало интенсивное ШИК-положительное окрашивание межклеточного матрикса недекальцинированных полутонких срезов (рис. 4с). В ячейках, расположенных внутри срединной части имплантата, к данному периоду обнаруживался фибро-ретикулярный костный мозг с содержащимися в нем микрососудами и незрелыми костными трабекулами (рис. 4д).

Через год после демонтажа аппарата костные отломки плотно прилегали к имплантату. Резорбции костной ткани в них не выявляли (рис. 5а). В ячейках имплантата со стороны костных отломков на протяжении до 8–10 мм в проекции интермедиарной зоны обнаруживалась более минерализованная, чем в предыдущий период, костная ткань пластинчатого типа. В проекции костномозгового канала тканевой матрикс в ячейках был слабо минерализован (рис. 5б).

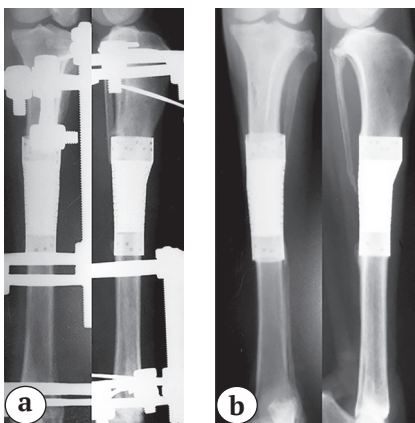


Рис. 2. Рентгенограммы опытного сегмента:
а — в период прекращения аппаратной фиксации (через 35 сут. после операции);
б — через год после прекращения наружной аппаратной фиксации

Figure 2. X-rays of the experimental segment:
а — during the period of termination of hardware fixation (35 days after surgery);
б — 1 year after the termination of external hardware fixation

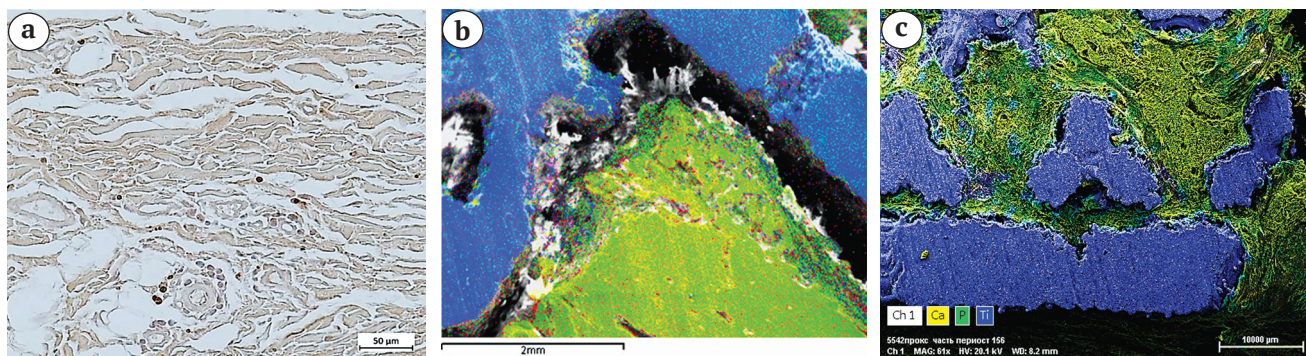


Рис. 3. Структурные особенности и минерализация тканевого субстрата внутри ячеек имплантата по окончании периода фиксации:

а — экспрессия остеопонтина в периваскулярных клетках надкостницы, формирующейся на поверхности проксимальной части имплантата (иммуногистохимическое окрашивание с применением поликлональных кроличьих антител против остеопонтина); б — контакт дистального отломка и имплантата; в — интеграция тканевого субстрата в ячейки имплантата; б, в — совмещенные карты рентгеновского электронно-зондового микроанализа, полученные в характеристическом излучении Ca, P, Ti. Синий — Ti, салатный — смешанное наложение Ca и P.

Ув.: а — $\times 400$; б, в — $\times 50$

Figure 3. Structural features and mineralization of the tissue substrate within the implant cell at the end of the fixation period:

а — expression of osteopontin in the perivascular cells of the periosteum, which forms on the surface of the proximal part of the implant (immunohistochemical staining using polyclonal rabbit antibodies against osteopontin); б — contact between the distal fragment and the implant; в — integration of the tissue substrate into the cells of the implant; б, в — aligned maps of X-ray electron probe microanalysis obtained in the characteristic radiation of Ca, P, Ti. Blue — Ti, light green — mixed overlay of Ca and P.

Mag.: а — $\times 400$; б, в — $\times 50$

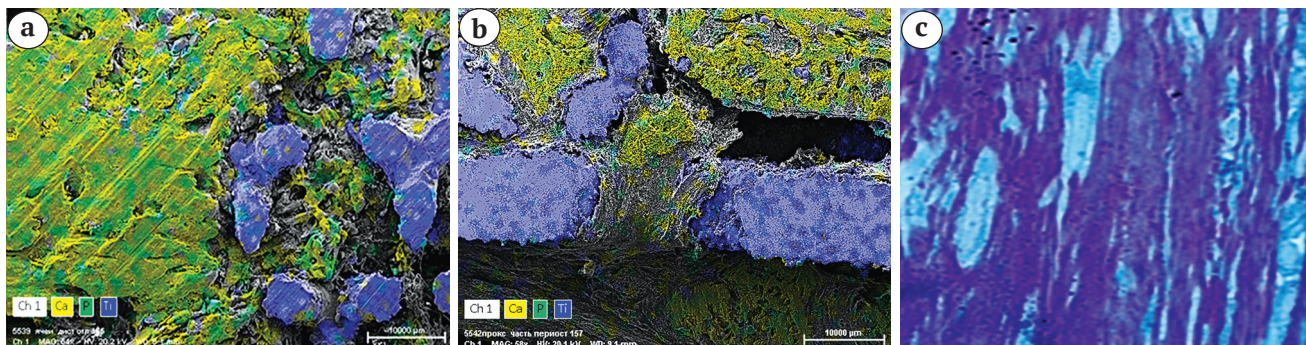


Рис. 4 (а, б, в). Особенности строения костно-имплантационного блока через 180 сут. после демонтажа аппарата. Интеграция тканевого субстрата в ячейки имплантата:

а — в области, приближенной к проксимальному костному отломку; б — в срединной части имплантата. Совмещенные карты рентгеновского электронно-зондового микроанализа, полученные в характеристическом излучении Ca, P, Ti. Синий — Ti, салатный — смешанное наложение Ca и P;

в — костная ткань в ячейках интермедиарной зоны в срединной части имплантата.

Окраска полутонких срезов метиленовым синим с постановкой ШИК-реакции.

Сканирующая электронная микроскопия. Ув.: а, б — $\times 50$; в — $\times 1000$

Figure 4 (a, b, c). Features of the structure of the bone-implantation unit 180 days after dismantling the device.

Integration of the tissue substrate into the cells of the implant: а — in the area close to the proximal bone fragment; б — in the middle part of the implant. Combined maps of X-ray electron probe microanalysis obtained in the characteristic radiation of Ca, P, Ti. Blue — Ti, light green — mixed overlay of Ca and P; в — bone tissue in the cells of the intermediate zone in the middle part of the implant. Staining of semi-thin sections with methylene blue with a PIC reaction.

Scanning Electron Microscopy. Mag.: а, б — $\times 50$; в — $\times 1000$

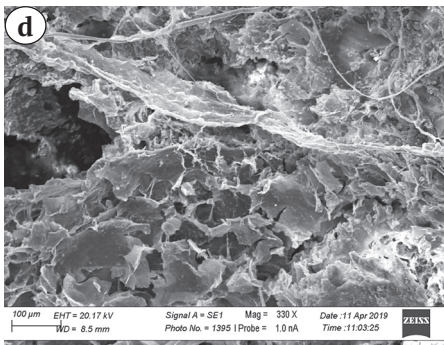


Рис. 4 (d). Особенности строения костно-имплантационного блока через 180 сут. после демонтажа аппарата. Интеграция тканевого субстрата в ячейки имплантата:

d — тканевой субстрат в ячейках имплантата в проекции средней части костномозгового канала. Сканирующая электронная микроскопия. Ув.: d — $\times 330$

Figure 4 (d). Features of the structure of the bone-implantation unit 180 days after dismantling the device. Integration of the tissue substrate into the cells of the implant: d — tissue substrate in the cells of the implant in the projection of the middle part of the medullary canal. Scanning Electron Microscopy. Mag.: d — $\times 330$

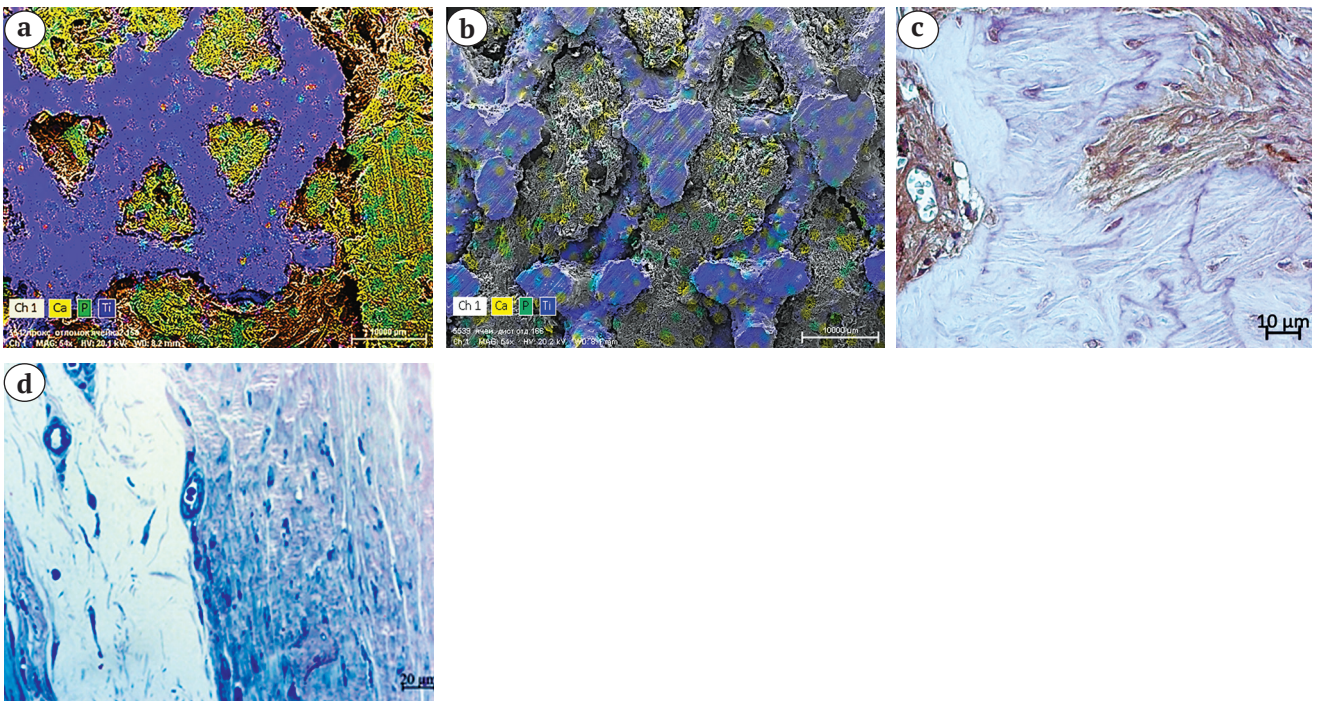


Рис. 5. Особенности строения костно-имплантационного блока через 1 год после демонтажа аппарата. Интеграция тканевого субстрата в ячейки имплантата:

a — в области, приближенной к проксимальному костному отломку; b — в срединной части имплантата. Совмещенные карты рентгеновского электронно-зондового микроанализа, полученные в характеристическом излучении Ca, P, Ti. Синий — Ti, салатный — смешанное наложение Ca и P. Сканирующая электронная микроскопия. Ув.: a, b — $\times 50$

c — надкостница и компактная кость на поверхности имплантата в проекции дистальной части имплантата. Иммуногистохимическое окрашивание с применением поликлональных кроличьих антител против остеопонтина. Ув. $\times 400$

d — сочетание ретикулярной, фиброзной и минерализующейся костной ткани внутри ячеек в проекции костномозгового канала. Окраска полутонких срезов метиленовым синим с постановкой ШИК-реакции. Ув. $\times 400$

Figure 5. Features of the structure of the bone-implantation unit 1 year after dismantling the device.

Integration of the tissue substrate into the cells of the implant:

a — in the area close to the proximal bone fragment; b — in the middle part of the implant. Combined maps of X-ray electron probe microanalysis obtained in the characteristic radiation of Ca, P, Ti. Blue — Ti, light green — mixed overlay of Ca and P. Scanning Electron Microscopy. Mag.: a, b — $\times 50$

c — periosteum and compact bone on the implant surface in the projection of the distal part of the implant. Immunohistochemical staining using polyclonal rabbit antibodies against osteopontin. Mag. $\times 400$

d — combination of reticular, fibrous and mineralizing bone tissue inside the cell in the projection of the medullary canal. Staining of semi-thin sections with methylene blue with a PIC reaction. Mag. $\times 400$

На полутонких срезах ткани, извлеченной из ячеек этой области, определялось сочетание участков ретикулярной, фиброзной и минерализующейся костной ткани (рис. 5с). Такая картина свидетельствует о возможности органотипической перестройки новообразованной кости внутри структур имплантата. Это, по нашему мнению, происходит в результате воздействия большей биомеханической нагрузки на участки имплантата, приближенные к костным отломкам и контактирующие с ними. В срединных участках имплантата всех зон тканевой субстрат был менее минерализован. Исследования тканевого детрита, формируемого на поверхности имплантата, показали наличие остеогенной надкостницы, продуцирующей слой костного вещества,

который к данному периоду приобретал строение пластинчатой кости, что подтверждается проведением иммуногистохимических исследований с выявлением экспрессии остеопонтина (рис. 5d).

Данные количественного рентгеновского электронно-зондового микроанализа показали, что наиболее минерализованный костный субстрат формировался в ячейках имплантата в проекции костных отделов к окончанию периода фиксации в области костномозгового канала, а в более поздние периоды — в проекции интермедиарной зоны (табл. 1). Оттока минеральных компонентов (Са и Р) из отломков кости во все периоды эксперимента не наблюдалось. Их содержание статистически не отличалось от показателей в норме.

Таблица 1

Содержание Са и Р в тканевом матриксе ячеистого имплантата в различные периоды эксперимента (Ме (Q1-Q3))

Зона исследования костно-имплантационного блока	Содержание (W) в вес.%		
	Срок эксперимента	Са	Р
Тканевой матрикс в ячейках проксимального отдела имплантата в проекции интермедиарной зоны	Окончание фиксации	3,68 (3,55–3,79)*	1,65 (1,58–1,67)*
	180 сут. без аппарата	14,31 (13,83–14,75)*	6,70 (6,47–7,00)*
	1 год без аппарата	18,43 (17,76–21,1)*	7,49 (7,11–7,93)*
Тканевой матрикс в ячейках центрального отдела имплантата в проекции интермедиарной зоны	Окончание фиксации	3,00 (2,86–3,13)*	1,43 (1,39–1,52)*
	180 сут. без аппарата	2,32 (2,26–2,41)*	0,48 (0,45–0,50)*
	1 год без аппарата	1,71 (1,40–2,00)*	0,50 (0,41–0,53)*
Тканевой матрикс в ячейках дистального отдела имплантата в проекции интермедиарной зоны	Окончание фиксации	3,64 (3,54–3,78)*	1,67 (1,59–1,74)*
	180 сут. без аппарата	12,30 (10,13–14,70)*	5,01 (5,07–5,47)*
	1 год без аппарата	14,77 (14,29–15,20)*	7,00 (6,58–7,46)*
Тканевой матрикс в ячейках проксимального отдела имплантата в проекции костномозгового канала	Окончание фиксации	6,58 (6,54–6,61)*	2,61 (2,47–2,72)*
	180 сут. без аппарата	2,30 (2,23–2,35)*	0,49 (0,46–0,51)*
	1 год без аппарата	1,70 (1,63–1,78)**	0,50 (0,49–0,52)*
Тканевой матрикс в ячейках центрального отдела имплантата в проекции костномозгового канала	Окончание фиксации	3,20 (3,07–3,36)*	1,53 (1,48–1,57)*
	180 сут. без аппарата	2,22 (2,09–2,35)*	0,170 (0,168–0,172)*
	1 год без аппарата	1,81 (1,73–1,86)**	0,260 (0,257–0,270)*
Тканевой матрикс в ячейках дистального отдела имплантата в проекции костномозгового канала	Окончание фиксации	3,20 (3,08–3,33)*	1,28 (1,24–1,31)*
	180 сут. без аппарата	1,67 (1,59–1,74)**	0,52 (0,49–0,53)*
	1 год без аппарата	1,55 (1,49–1,67)**	0,49 (0,46–0,50)*
Компактная пластинка проксимального костного отломка	Окончание фиксации	21,84 (20,98–22,24)**	9,35 (8,99–10,15)**
	180 суток без аппарата	21,93 (20,73–22,31)**	7,01 (6,98–7,18)*
	1 год без аппарата	22,15 (21,95–22,33)**	10,6 (9,97–10,86)**

Зона исследования костно-имплантационного блока	Содержание (W) в вес.%		
	Срок эксперимента	Ca	P
Компактная пластинка дистального костного отломка	Окончание фиксации	20,53 (20,15–21,2)**	8,91 (8,12–9,99)**
	180 сут. без аппарата	19,26 (18,60–20,10)**	10,68 (9,71–11,7)**
	1 год без аппарата	21,47 (21,41–21,69)**	7,10 (6,96–9,170)**
Костномозговая полость проксимального костного отломка	Окончание фиксации	9,97 (9,73–10,12)*	4,57 (4,37–4,91)*
	180 сут. без аппарата	4,21 (4,00–4,50)*	1,90 (1,85–2,00)*
	1 год без аппарата	2,00 (1,91–2,31)*	0,83 (0,79–0,86)*
Костномозговая полость дистального костного отломка	Окончание фиксации	9,48 (9,09–10,66)*	3,90 (3,78–4,20)*
	180 сут. без аппарата	3,84 (3,71–3,92)*	1,62 (1,53–1,69)*
	1 год без аппарата	2,30 (2,26–2,35)*	0,885 (0,885–0,905)*
Костномозговая полость интактных животных (норма)	–	1,72 (1,67–1,75)	0,71 (0,68–0,75)
Компактная пластинка интактных животных (норма)	–	22,14 (21,12–22,72)	9,79 (9,64–10,10)

* — значения статистически значимо отличимы от нормы ($p < 0,05$);

** — значения статистически значимо не отличимы от нормы ($p \geq 0,05$).

Дополнительные результаты исследования

На протяжении эксперимента не регистрировали случаев гибели животных и каких-либо неврологических и инфекционных осложнений. Со стороны основных систем организма патологических состояний не выявили. Окраска слизистых оболочек и кожного покрова не изменялась. Поведенческие реакции как непосредственно после оперативного вмешательства, так и на протяжении опыта соответствовали ожидаемому клиническому состоянию. В периоды покоя и во время передвижения собаки принимали естественное физиологическое положение (см. рис. 2).

Эпителизация послеоперационных швов происходила без особенностей. Швы снимали в общепринятые сроки (через 7–10 сут. после операции). В этот период в области разреза мягких тканей был образован рубец розового или красного цвета. В последующем он приобретал цвет окружающих мягких тканей и визуально практически не определялся.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

При замещении обширных дефектов диафиза костей отечественным персональным биоактивным ячеистым 3D-имплантатом оригинального дизайна формирование прочного костно-им-

плантационного блока происходило через $37,2 \pm 6,3$ сут. после операции. Достигнутый эффект сохранялся и в отдаленном периоде (через 6 мес. и 1 год). Опорная функция конечности не нарушалась. Остеоинтеграция обеспечивалась в условиях адекватной первичной механической стабильности за счет ячеистой структуры имплантата, наличия пор на его стенках и остеоиндуктивных свойств нанесенного кальций-фосфатного покрытия. Не было осложнений инфекционного и неврологического характера.

Обсуждение основного результата исследования

Известно, что эффективность использования различного рода биоматериалов в травматологии и ортопедии зависит от многих факторов. D.L. Williams и B.M. Isaacson в своей работе обобщили эти факторы и выделили 5 основных признаков, которые оказывают влияние на клинические результаты лечения. К ним авторы отнесли: биосовместимость материалов, из которых изготовлены имплантаты; использованную хирургическую технику во время их установки; дизайн имплантата и его первичную механическую стабильность после установки, а также профилактику инфекций [23].

Одним из биосовместимых, биологически инертных материалов, применяемых для изготовления изделий медицинского назначения, является

титан и его сплавы [24]. Современные аддитивные технологии позволяют использовать порошки этих материалов для создания поверхностей с заданной топографией (шероховатость, пористость и др.), по механическим свойствам сопоставимой с губчатой костью человека и животных. При этом нередко предпочтение отдается титановому сплаву Ti6Al4V, цитосовместимость которого была экспериментально доказана [25, 26, 27].

Как было отмечено ранее, успех использования разрабатываемых изделий зависит от их дизайна. Показано, что лучшими остеокондуктивными свойствами обладают ячеистые либо сетчатые структуры с наличием микропор на своей поверхности. Между этими параметрами должен достигаться определенный баланс, так как структуры с крупными ячейками и высокой пористостью обладают сниженной механической прочностью. В то же время такие характеристики способствуют лучшему врастанию хорошо васкуляризированной костной ткани без предшествующего формирования хряща. В этом контексте оптимальными считаются поры 100–300 мкм и более [28, 29]. Наличие пор придает поверхности имплантатов шероховатость, что позволяет с ней физически связываться (интегрироваться) не только прилегающей костной ткани, но при необходимости и мягким тканям.

Последнее свойство пористых материалов в настоящее время мало изучено. Оно было обнаружено группой отечественных ученых. Р.М. Тихилов с соавторами в эксперименте продемонстрировали возможность интеграции мягких тканей, в частности мышечной, в пористые металлические структуры. Авторы подчеркивают высокую клиническую значимость полученных результатов. Это относится к случаям, когда локализация костных дефектов захватывает участки прикрепления мышц и сухожильно-связочного аппарата [30].

Аддитивные технологии изготовления медицинских изделий позволяют с высокой точностью воспроизвести трехмерный прототип утраченного либо замещаемого участка кости. Как правило, эффективность и безопасность использования таких имплантатов предварительно оценивается путем выполнения доклинических испытаний *in vivo*. Считается, что в травматологии и ортопедии для решения большинства задач наиболее подходящими являются крупные животные (овцы, собаки, свиньи, приматы). Это обусловлено определенным сходством тканей их опорно-двигательного аппарата (по размеру, строению, особенностям метаболизма и другим) с таковыми у человека. Также появляется возможность максимально точно имитировать клинические ситуации и изучать отдаленные (6 мес. и более) результаты экспериментов [31, 32].

В нашем исследовании эксперименты выполнялись на взрослых беспородных собаках крупного размера с длиной голени не менее 17 см. Это позволило смоделировать обширный дефект диафиза берцовых костей величиной 4 см, что составляло не менее 22% от общей длины сегмента. При изготовлении имплантатов были учтены положительные свойства ячеистых и пористых конструкций. Тестируемые образцы были изготовлены из биосовместимого титанового сплава Ti6Al4V и представляли собой ячеистые цилиндры, форма которых соответствовала конфигурации замещаемого участка кости. Для лучшей адгезии остеогенных клеток стенки наружных и внутренних поверхностей имплантатов дополнительно имели оптимальные по величине поры (от 300 мкм).

Во многих работах показано, что улучшить характеристики поверхности имплантационных материалов возможно путем придания им остеоиндуктивных свойств. Для этого чаще всего изделия покрывают слоем биоактивных веществ, к которым относятся кальций-фосфатные соединения [33, 34]. Существуют разные способы нанесения таких покрытий на металлическую основу [35, 36]. В выполненном исследовании биоактивный кальций-фосфатный слой был сформирован на пористой поверхности методом микродугового оксидирования, преимущества и эффективность использования которого были доказаны и представлены в предыдущих публикациях и в других литературных источниках [37, 38, 39].

Согласно литературным данным, первичная фиксация 3D-изделий выполняется разными способами. Чаще эту функцию несут на себе элементы конструкции либо дополнительные внутренние фиксаторы, выполненные в виде балок с отверстиями, винты и шурупы [40, 41, 42]. А.М. Crovace с соавторами в эксперименте на овцах при замещении дефекта большеберцовой кости величиной 5 см 3D-биомиметическими пористыми титановыми каркасами, в качестве фиксаторов успешно применяли накостные пластины и кортикальные винты. Однако для их удаления через 9 мес. после имплантации потребовалось дополнительное оперативное вмешательство [43]. Е. Kon с соавторами с аналогичной целью применяли внешние конструкции [44].

Другие авторы для замещения костного дефекта обеих костей предплечья после резекции злокачественной опухоли у пациента использовали имплантаты, дизайн которых, кроме других элементов, включал в себя манжеты высотой 10 мм и толщиной 3 мм, в которые внедрялись концы костных фрагментов. От манжет отходили элементы, подобные накостным пластинам, которые крепились к костным отломкам винтами. В течение 12 мес. после операции каких-либо осложнений

не наблюдали [45]. Несмотря на полученный положительный результат лечения, при использовании имплантатов аналогичного дизайна для замещения дефектов костей нижних конечностей такой фиксации может быть недостаточно. Это связано с тем, что вертикальные осевые нагрузки на сегмент, испытываемые при ходьбе, могут создавать предпосылки для формирования нестабильности конструкции.

В нашем исследовании первичная стабильность тестируемых изделий обеспечивалась следующим образом. В первую очередь, концы отломков были внедрены в торцевые замкнутые ободки имплантатов на глубину по 1 см проксимально и дистально. Такой высоты ободков было достаточно, чтобы предотвратить подвижность костных отломков при флексионных нагрузках. Во вторых, дополнительно осуществляли фиксацию внешней кольцевой конструкцией. Это исключало ротационные движения. Для демонтажа наружного аппарата не требовалось проведения повторного хирургического вмешательства. Несмотря на то, что тестируемые имплантаты имели на своих торцевых концах отверстия для дополнительного закрепления шурупами, в данном исследовании такую фиксацию не выполняли.

У животных на всем протяжении эксперимента сохранялась опорная функция оперированной конечности. Пространственное расположение имплантата не изменялось. Не отмечали осложнений инфекционного характера, для предотвращения которых проводили антибиотикопрофилактику препаратами широкого спектра действия. Наличие биоактивного слоя на шероховатой (пористой) поверхности обеспечивало изделиям не только остеокондуктивные, но и остеоиндуктивные свойства, что подтверждалось экспрессией клетками остеопонтина как в раннем, так и в отдаленном периодах опыта. Некоторые авторы считают, что наличие пор и покрытия из кальция фосфата на стенках имплантационных конструкций является обязательным условием для успешного течения процессов костеобразования [46].

В проведенных экспериментах оптимальные характеристики поверхности имплантатов способствовали полной остеоинтеграции в достаточно короткие сроки. Опороспособный костно-имплантационный блок был сформирован уже через 1,0–1,5 мес., что позволило демонтировать внешнюю фиксирующую конструкцию. Все ячейки были заполнены хорошо васкуляризованным костным субстратом. Через 6 мес. сформированный костно-имплантационный блок по своему гистологическому строению приобретал некоторые свойства, характерные для нормального участка кости, а именно: 1) его поверхность была покрыта эластичной оболочкой, по строению схожей с над-

костницей; 2) в проекции контакта торцов костных отломков с имплантатом была сформирована пластинчатая кость; 3) ячейки, расположенные внутри срединной части имплантата, были заполнены тканевым субстратом, по составу схожим с фиброретикулярным костным мозгом с расположенными в нем микрососудами и костными трабекулами. Достигнутый положительный результат сохранялся и в более отдаленном периоде, в частности через год после прекращения внешней фиксации, что подтверждают клинические, рентгенологические и гистологические исследования.

Другие авторы в экспериментах на овцах при замещении обширного дефекта диафиза костей голени имплантатами со схожими характеристиками получили аналогичные результаты. Через год после операции костные отломки объединялись с каркасом имплантата костной тканью пластинчатого строения. Внутри ячейистой структуры формировался хорошо васкуляризованный костный матрикс. Определялись признаки костного ремоделирования. Признаков иммунотоксических реакций тканей не выявляли [43].

Ограничения исследования

Основным ограничением выполненного исследования можно считать отсутствие контрольной экспериментальной группы (замещение аналогичных дефектов имплантатами без биоактивного покрытия).

При разработке дизайна эксперимента в первую очередь опирались на результаты собственных ранее выполненных исследований и наличие достаточного количества известных литературных данных, в которых детально изучены эффективность и безопасность имплантатов, изготовленных из титанового сплава Ti6Al4V. Показана возможность замещения обширных костных дефектов 3D-ячейковыми конструкциями, изготовленными из данного материала, как в экспериментах на крупных животных, так и при клинических испытаниях [25, 26, 27, 37, 43, 45].

Несмотря на то, что в травматологии, ортопедии и стоматологии нередко предпочтение отдается изделиям из титанового сплава Ti6Al4V, присутствие в его составе ванадия и алюминия не исключает возможности проявления токсического действия этих элементов на ткани. Есть сведения, что даже ионы и наночастицы титана могут вызывать мутагенный эффект в клетках [47]. Минимизировать воздействие ионов металлов на ткани возможно путем нанесения на поверхность имплантируемых изделий защитных покрытий [48]. Можно предположить, что в выполненном исследовании кальций-фосфатное покрытие, нанесенное на поверхность имплантатов из титанового сплава Ti6Al4V, дополнительно выполняло

необходимую защитную функцию. Через год после операции паталогических изменений в периимплантатных тканях выявлено не было. Однако очевидно, что для подтверждения данного предположения требуются дополнительные исследования.

Заключение

Результаты выполненного исследования сопоставимы с известными данными литературы и продемонстрировали эффективность использования отечественного ячеистого биоактивного структурированного 3D-имплантата с конкретными заданными характеристиками для замещения обширного сегментарного дефекта диафиза кости. Прочный костно-имплантационный блок формировался за счет ранней интеграции костной ткани с металлической поверхностью тестируемых изделий (в течение 1,0–1,5 мес.). Это было обусловлено биосовместимостью титанового сплава, используемого для изготовления последних, их ячеистой структурой с наличием микропор оптимального размера и биоактивного кальций-фосфатного слоя, а также за счет обеспечения достаточной первичной механической стабильности.

Этическая экспертиза

Перед началом эксперимента было получено положительное решение локального этического комитета на его проведение. При выполнении экспериментов соблюдали принципы гуманного отношения к животным в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей и директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Литература [References]

1. Какорина Е.П., Огрызко Е.В., Андреева Т.М. Информационное обеспечение статистики травматизма в Российской Федерации. *Врач и информационные технологии*. 2014;(2):67-73. Kakorina E.P., Ogryzko E.V., Andreeva T.M. [Information Provision of Trauma Statistics in Russian Federation]. *Vrach i informatsionnye tekhnologii* [Information Technologies for the Physician]. 2014;(2):67-73. (In Russian).
2. Крюков Е.В., Брижань Л.К., Хоминец В.В., Давыдов Д.В., Чирва Ю.В., Севастьянов В.И. и др. Опыт клинического применения тканеинженерных конструкций в лечении протяженных дефектов костной ткани. *Гений ортопедии*. 2019;25(1):49-57. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-1-49-57. Kryukov E.V., Brizhan L.K., Khominets V.V., Davydov D.V., Chirva Yu.V., Sevastianov V.I. et al. [Clinical use of scaffold-technology to manage extensive bone defects]. *Genij Ortopedii*. 2019;25(1):49-57. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-1-49-57.
3. Hernigou P., Beaujean, F. Treatment of osteonecrosis with autologous bone marrow grafting. *Clin Orthop Relat Res*. 2002;(405):14-23. doi: 10.1097/00003086-200212000-00003.
4. Тюляев Н.В., Воронцова Т.Н., Соломин Л.Н., Скоморошко П.В. История развития и современное состояние проблемы лечения травм конечностей методом чрескостного остеосинтеза (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2011;(2): 179-190. doi: 10.21823/2311-2905-2011-0-2-179-190. Tyulyaev N.V., Vorontsova T.N., Solomin L.N., Skomoroshko P.V. [Development history and modern concern of problem of extremity injuries by external fixation (review)]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2011;(2):179-190. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2011-0-2-179-190.
5. Borzunov D.Y., Shastov A.L. Mechanical solutions to salvage failed distraction osteogenesis in large bone defect management. *Int Orthop*. 2019;43(5):1051-1059. doi: 10.1007/s00264-018-4032-6.
6. Барабаш А.П., Кесов Л.А., Барабаш Ю.А., Шпиняк С.П. Замещение обширных диафизарных дефектов длинных костей конечностей. *Травматология и ортопедия России*. 2014;(2):93-99. Barabash A.P., Kesov L.A., Barabash J.A., Shpinyak S.P. [Building of extensive diaphysis defects in long bones]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2014;(2):93-99. (In Russian).
7. Morelli I., Drago L., George D.A., Romanò D., Romanò C.L. Managing large bone defects in children: a systematic review of the 'induced membrane technique'. *J Pediatr Orthop B*. 2018;27(5):443-455. doi: 10.1097/BPB.0000000000000456.
8. Black S.R., Kwon M.S., Cherkashin A.M., Samchukov M.L., Birch J.G., Jo C.H. Lengthening in Congenital Femoral Deficiency: A Comparison of Circular External Fixation and a Motorized Intramedullary Nail. *J Bone Joint Surg Am*. 2015;97(17):1432-1440. doi: 10.2106/JBJS.N.00932.
9. Schiedel F., Rödl R. Spectrum of indications for intramedullary or external fixators for axis correction and limb lengthening. *Orthopade*. 2013;42(12):1018-1029. doi: 10.1007/s00132-012-2051-3.
10. Цискарашвили А.В., Родионова С.С., Миронов С.П., Бухтин К.М., Горбатиук Д.С., Тараскин А.Ю. Метаболические нарушения костной ткани у пациентов с переломами длинных костей, осложнённых хроническим остеомиелитом. *Гений ортопедии*. 2019;25(2):149-155. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-2-149-155. Tsiskarashvili A.V., Rodionova S.S., Mironov S.P., Bukhtin K.M., Gorbatiuk D.S., Taraskin A.Iu. [Metabolic bone tissue disorders in patients with long bone fractures complicated by chronic osteomyelitis]. *Genij Ortopedii*. 2019;25(2):149-155. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-2-149-155.
11. Giannoudis P.V., Harwood P.J., Tosounidis T., Kanakaris N.K. Restoration of long bone defects treated with the induced membrane technique: protocol and outcomes. *Injury*. 2016;47 Suppl 6:S53-S61. doi: 10.1016/S0020-1383(16)30840-3.
12. Azi M.L., Aprato A., Santi I., Kfurim Jr., Masse A., Joeris A. Autologous bone graft in the treatment of post-traumatic bone defects: a systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2016;17(1):465. doi: 10.1186/s12891-016-1312-4.
13. Faur C.I., Niculescu B. Comparative biomechanical analysis of three implants used in bicondylar tibial frac-

- tures. *Wien Med Wochenschr.* 2018;168(9-10):254-260. doi: 10.1007/s10354-017-0551-9.
14. Малаев И.А., Пивовар М.Л. Аддитивные технологии: применение в медицине и фармации. *Вестник фармации.* 2019;(2):98-107. Malayeu I.A., Pivavar M.L. [Additive technologies: application in medicine and pharmacy]. *Vestnik farmatsii* [Pharmacy Bulletin]. 2019;(2):98-107. (In Russian).
 15. Приходько А.А., Виноградов К.А., Вахрушев С.Г. Меры по развитию медицинских аддитивных технологий в Российской Федерации. *Медицинские технологии. Оценка и выбор.* 2019;2(36):10-15. doi: 10.31556/2219-0678.2019.36.2.010-015. Prikhodko A.A., Vinogradov K.A., Vakhrushev S.G. [Measures for the Development of Medical Additive Technologies in the Russian Federation]. *Meditsinskie tekhnologii. Ocenka i vybor* [Medical Technologies. Assessment and Choice]. 2019;2(36):10-15. (In Russian). doi: 10.31556/2219-0678.2019.36.2.010-015.
 16. Popovich A.A., Sufiiarov V.S., Polozov I.A., Borisov E.V., Masaylo D.V., Vopilovskiy P.N. [et al.]. Use of Additive Techniques for Preparing Individual Components of Titanium Alloy Joint Endoprostheses. *Biomed Eng.* 2016;50(3):202-205. doi: 10.1007/s10527-016-9619-x.
 17. Cai H. Application of 3D printing in orthopedics: status quo and opportunities in China. *Ann Transl Med.* 2015;3 (Suppl 1):S12. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.01.38.
 18. Федорова М.З., Надеждин С.В., Семихин А.С., Лазебная М.А., Храмов Г.В., Колобов Ю.Р. и др. Экспериментальная оценка композиционного материала на основе белково-минеральных компонентов и рекомбинантного костного морфогенетического белка-2 в качестве покрытия титановых имплантатов. *Травматология и ортопедия России.* 2011;(2):101-106. doi: 10.21823/2311-2905-2011-0-2-101-106. Fedorova M.Z., Nadezhdin S.V., Semikhin A.S., Lazebnaya M.A., Khramov G.V., Kolobov Y.R. et al. [Experimental estimation of composite material containing the protein-mineral components and recombinant bone morphogenetic protein-2 as a covering of titanium implants]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2011;(2):101-106. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2011-0-2-101-106.
 19. Kozelskaya A.I., Bolbasov E.N., Golovkin A.S., Mishanin A.I., Viknianshchuk A.N., Shesterikov E.V. et al. Modification of the ceramic implant surfaces from zirconia by the magnetron sputtering of different calcium phosphate targets: A comparative study. *Materials (Basel).* 2018;11(10):1949. doi: 10.3390/ma11101949.
 20. Morice A., Kolb F., Picard A., Kadlub N., Puget S. Reconstruction of a large calvarial traumatic defect using a custom-made porous hydroxyapatite implant covered by a free latissimusdorsi muscle flap in an 11-year-old patient. *J Neurosurg Pediatr.* 2017;19(1):51-55. doi: 10.3171/2016.8.PEDS1653.
 21. Гилев М.В., Волокитина Е.А., Антропова И.П., Базарный В.В., Кутепов С.М. Маркеры костного ремоделирования при замещении дефекттрабекулярной костной ткани резорбируемыми и нерезорбируемыми остеопластическими материалами в эксперименте. *Гений ортопедии.* 2020;26(2):222-227. doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-2-222-227. Gilev M.V., Volokitina E.A., Antropova I.P., Bazarny V.V., Kutepov S.M. [Bone remodeling markers after experimental augmentation of trabecular bone defects with resorbable and non-resorbable osteoplastic materials in rabbits]. *Genij Ortopedii.* 2020;26(2):222-227. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2020-26-2-222-227.
 22. Kononovich N.A., Petrovskaia N.V., Krasnov V.V. Treating dogs with tibial shaft fractures using the transosseous osteosynthesis method according to Ilizarov. *Eur J Comp Anim Prac.* 2014;24(2):51-58.
 23. Williams D.L., Isaacson B.M. The 5 hallmarks of biomaterials success: an emphasis on orthopaedics. *Adv Biosc Biotech.* 2014;5(4):11. doi: 10.4236/abb.2014.54035.
 24. Николаев Н.С., Малюченко Л.И., Преображенская Е.В., Карпукhin А.С., Яковлев В.В., Максимов А.Л. Применение индивидуальных вертлужных компонентов в эндопротезировании тазобедренного сустава при посттравматическом коксартрозе. *Гений ортопедии.* 2019; 25(2):207-213. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-2-207-213. Nikolaev N.S., Malyuchenko L.I., Preobrazhenskaia E.V., Karpukhin A.S., Yakovlev V.V., Maksimov A.L. [Use of customized acetabular components for hip joint arthroplasty in posttraumatic coxarthrosis]. *Genij ortopedii.* 2019;25(2):207-213. (In Russian). doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-2-207-213.
 25. Lesniewski W., Wawrylak M., Wieliczko P., Boroń Ł., Krzak I. Porous titanium materials produced using the HIP method. *Key Engineering Materials.* 2016;687:149-154. doi: 10.4028/www.scientific.net/KEM.687.149.
 26. Srivas P.K., Kapat K., Dadhich P., Pal P., Dutta J., Datta P. et al. Osseointegration assessment of extrusion printed Ti6Al4V scaffold towards accelerated skeletal defect healing via tissue in-growth. *Bioprinting.* 2017;6:8-17. doi: 10.1016/j.bprint.2017.04.002.
 27. Li X., Feng Y.F., Wang C.T., Li G.C., Lei W., Zhang Z.Y. et al. Evaluation of biological properties of electron beam melted Ti6Al4V implant with biomimetic coating in vitro and in vivo. *PLoS One.* 2012;7(12):e52049. doi: 10.1371/journal.pone.0052049.
 28. Karageorgiou V., Kaplan D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Biomaterials.* 2005;26(27):5474-5491. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.02.002.
 29. Fujibayashi S., Neo M., Kim H.M., Kokubo T., Nakamura T. Osteoinduction of porous bioactive titanium metal. *Biomaterials.* 2004; 25(3):443-450. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00551-9.
 30. 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;(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)]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2018;(2):95-107. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-2-95-107.
 31. Mills L.A., Simpson A. In vivo models of bone repair. *J Bone Joint Surg Br.* 2012;94(7):865-874. doi: 10.1302/0301-620X.94B7.27370.
 32. Buma P., Schreurs W., Verdonchot N. Skeletal tissue engineering - from in vitro studies to large animal models. *Biomaterials.* 2004;25(9):1487-1495. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00492-7.
 33. Calasans-Maia M., Rossi A.M., Dias E.P., Santos S.R.A., Áscoli F., Granjeiro J.M. Stimulatory Effect on Osseous Repair of Zinc-Substituted Hydroxyapatite: Histological Study in Rabbit's Tibia.

- Key Engineering Materials*. 2007;361-363:1269-1272. doi: 10.4028/www.scientific.net/kem.361-363.1269.
34. Blackwood D.J., Seah K.H. Influence of anodization on the adhesion of calcium phosphate coatings on titanium substrates. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93(4):1551-1556. doi: 10.1002/jbm.a.32652.
 35. Daugaard H., Elmengaard B., Bechtold J.E., Jensen T., Soballe K. The effect on bone growth enhancement of implant coatings with hydroxyapatite and collagen deposited electrochemically and by plasma spray. *J Biomed Mater Res A*. 2010;92(3):913-921. doi: 10.1002/jbm.a.32303.
 36. Fedotkin A.Y., Bolbasov E.N., Kozelskaya A.I., Useinov A.S., Tverdokhlebov S.I. Deposition of calcium phosphate coatings using radio frequency magnetron sputtering of substituted β -tricalcium phosphate targets. *J Phys: Conference Series*. 2018;1115(3):032070. doi: 10.1088/1742-6596/1115/3/032070.
 37. Popkov A.V., Gorbach E.N., Kononovich N.A., Popkov D.A., Tverdokhlebov S.I., Shesterikov E.V. Bioactivity and osteointegration of hydroxyapatite-coated stainless steel and titanium wires used for intramedullary osteosynthesis. *Strategies Trauma Limb Reconstr*. 2017;12(2):107-113. doi: 10.1007/s11751-017-0282-x.
 38. Kononovich N.A., Stogov M.V., Popkov A.V., Gorbach, E.N., Kireeva E.A., Tushina N.V. et al. Kinetics of Calcium and Phosphate Release from the Surface of Implants Coated Using Different Techniques. *Biomed Engineer*. 2019;53(3):190-193. doi: 10.1007/s10527-019-09906-z.
 39. Шаркеев Ю.П., Седельникова М.Б., Толкачева Т.В., Щеглова Н.А., Панченко А.А., Красовский И.Б. и др. Микродуговые Zn и Ag-содержащие покрытия для имплантатов со сложной поровой архитектурой, полученных методом 3D-печати из титанового сплава. *Травматология и ортопедия России*. 2020;26(2):109-119. doi: 10.21823/2311-2905-2020-26-2-109-119. Sharkeev Yu.P., Sedelnikova M.B., Tolkacheva T.V., Shcheglova N.A., Panchenko A.A., Krasovsky I.B. et al. [Micro-Arc Zn- and Ag-Containing Coatings for Implants with Complex Porous Architecture Obtained by 3D Printing Method from Titanium Alloy]. *Traumatology i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2020;26(2):109-119. (In Russian). doi: 10.21823/2311-2905-2020-26-2-109-119.
 40. Trisciuzzi R., Fracassi L., Martin H.A., Monopoli Forleo D., Amat D., Santos-Ruiz L. et al. 41 Cases of Treatment of Cranial Cruciate Ligament Rupture with Porous TTA: Three Years of Follow Up. *Vet Sci*. 2019;6(1):18. doi: 10.3390/vetsci6010018.
 41. Murr L.E. Strategies for creating living, additively manufactured, open-cellular metal and alloy implants by promoting osseointegration, osteoinduction and vascularization: An overview. *J Mater Sci Technol*. 2019;35(2):231-241. doi: 10.1016/j.jmst.2018.09.003.
 42. Chiriac A., Stan G.E., Iliescu B., Poeta I. The influence of host bone substrate in titanium mesh cranioplasty. *Dig J Nanomat Biostruct*. 2013;8:729-735.
 43. Crovace A.M., Lacitignola L., Forleo D.M., Staffieri F., Francioso E., Di Meo A. et al. 3D Biomimetic Porous Titanium (Ti6Al4V ELI) Scaffolds for Large Bone Critical Defect Reconstruction: An Experimental Study in Sheep. *Animals (Basel)*. 2020;10(8):1389. doi: 10.3390/ani10081389.
 44. Kon E., Muraglia A., Corsi A., Bianco P., Marcacci M., Martin I. et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res*. 2000;49(3):328-37. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(20000305)49:3<328::aid-jbm5>3.0.co;2-q.
 45. Lim K.M., Park J.W., Park S.J., Kang H.G. 3D-Printed Personalized Titanium Implant Design, Manufacturing and Verification for Bone Tumor Surgery of Forearm. *Biomed J Sci Tech Res*. 2018;10(3). doi: 10.26717/BJSTR.2018.10.001950.
 46. Nishiguchi S., Kato H., Neo M., Oka M., Kim H.M., Kokubo T. et al. Alkali- and heat-treated porous titanium for orthopedic implants. *J Biomed Mater Res*. 2001;54(2):198-208. doi: 10.1002/1097-4636(200102)54:2<198::aid-jbm6>3.0.co;2-7.
 47. Mombelli A., Hashim D., Cionca N. What is the impact of titanium particles and biocorrosion on implant survival and complications? A critical review. *Clin Oral Implants Res*. 2018;29 Suppl 18:37-53. doi: 10.1111/clr.13305.
 48. Майбородин И.В., Шевела А.А., Тодер М.С., Шевела А.И. Особенности взаимодействия дентальных имплантатов с живыми тканями и современные методы придания антибактериальных свойств материалам для имплантации. *Российская стоматология*. 2017;10(4):32-41. doi: 10.17116/rosstomat201710432-40. Maiborodin I.V., Shevela A.A., Toder M.S., Shevela A.I. [The features of interaction between dental implants and organism tissues and the modern methods of creation of antibacterial covering on implant surfaces]. *Rossiiskaya stomatologiya* [Russian dentistry]. 2017;10(4):32-41. (In Russian). doi: 10.17116/rosstomat201710432-40.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Попков Арнольд Васильевич — д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
apopkov.46@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5791-1989>

Кононович Наталья Андреевна — канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
n.a.kononovich@mail.ru;
<https://orcid.org/0000-0002-5990-8908>

AUTHORS' INFORMATION:

Arnold V. Popkov — Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia.
apopkov.46@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5791-1989>

Natalia A. Kononovich — Cand. Sci. (Vet.), Leading Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia
n.a.kononovich@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5990-8908>

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, Россия
gorbach.e@mail.ru;
<https://orcid.org/0000-0002-9516-748>

Elena N. Gorbach — Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia
gorbach.e@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9516-748>

Попков Дмитрий Арнольдович — д-р мед. наук, профессор РАН, член-корреспондент Французской академии медицинских наук, руководитель клиники нейроортопедии, системных заболеваний и патологии стопы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, г. Курган, Россия
dpopkov@mail.ru;
<https://orcid.org/0000-0002-8996-867X>

Dmitriy A. Popkov — Dr. Sci. (Med.), Professor RAS, Head of the Clinic for Neuro-orthopedics, Systemic Diseases and Pathology of the Foot, Traumatologist-Orthopedist of the Highest Category, Corresponding Member of the French Academy of Medical Sciences, Ilizarov National Medical Research Centre for Traumatology and Orthopedics, Kurgan, Russia
dpopkov@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8996-867X>

Заявленный вклад авторов

Попков А.В. — существенный вклад в разработку концепции и дизайна исследования, обзор литературы, подготовка и редактирование текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Кононович Н.А. — вклад в концепцию и дизайн исследования, сбор материала, анализ, подготовка и редактирование текста, обзор литературы, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

Горбач Е.Н. — сбор материала, анализ и статистическая обработка данных, подготовка и редактирование текста для важного интеллектуального содержания.

Попков Д.А. — анализ полученных данных, подготовка и редактирование текста для важного интеллектуального содержания.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.