

УДК 617-089.844; 616.71-089, P.A.C.S. 87.00.00

**Implants for one-stage osteointegration
with mechanobiological stimulation of bone formation**

**Имплантаты для одноэтапной остеинтеграции с механобиологическим
стимулированием костеобразования**

*V. P. Kuznetsov¹, A. A. Emanov², E. N. Gorbach³, V. G. Gorgots⁴
В. П. Кузнецов¹, А. А. Еманов², Е. Н. Горбач³, В. Г. Горгоц⁴*

¹⁻⁴ Federal State Budgetary Institution «National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Ortopaedics» Ministry Healthcare, M. Ulyanova Str. 6, Kurgan, 640014, Russia

¹ Ural Federal University, Mira Str. 19, Ekaterinburg, 620002, Russia

¹ wpkuzn@mail.ru

¹⁻⁴ ФГБУ «НМИЦ ТО им. академика Г. А. Илизарова» Минздрава России, Россия, 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, 6

¹ Уральский федеральный университет, Россия, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19

¹ wpkuzn@mail.ru

ABSTRACT

The paper presents the results of studies of one-stage osseointegration of new threaded implants made of Ti6Al4V alloy into the leg stump of mongrel dogs. The design of the implants has a combined geometry of the surface, consisting of a leading-in cutting-gauge part and a persistent thread with a large pitch. The cutting and calibrating part is a tap with grooves in which bone chips accumulate, contributing to bone formation of the regenerate. The implant contains a support-antiseptic belt for creating a compression load with a porous structure for antiseptic preparations. The implant was made by selective laser fusion on an EOSINT M280 installation. The implants were integrated into the shin stump of three dogs with a compression load of 20 N. X-ray and morphological studies after 180 days of the experiment revealed the stability and survival of the implants with bone formation along the entire length.

KEYWORDS

Implant; one-stage osteointegration; reconstructive surgery; selective laser melting; bone tissue; adhesion.

АННОТАЦИЯ

Приведены результаты исследований одноэтапной остеинтеграции новых резьбовых имплантатов из сплава Ti6Al4V в культю голени беспородных собак. Конструктивное исполнение имплантатов имеет комбинированную геометрию поверхности, состоящей из заходной режуще-калибрующей части и упорную резьбу с крупным шагом. Режуще-калибрующая часть представляет собой метчик с канавками, в которых скапливается костная стружка, способствующая костеобразованию регенерата. Имплантат содержит опорно-антисептический пояс для создания компрессионной нагрузки с пористой структурой для антисептических препаратов. Имплантат изготовлен методом селективного лазерного сплавления на установке EOSINT M280. Имплантаты интегрированы в культю голени трех собак с компрессионной нагрузкой 20 Н. Рентгенологические и морфологические исследования после 180 суток эксперимента выявили стабильность и приживаемость имплантатов с костеобразованием по всей длине.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Имплантат; одноэтапная остеинтеграция; реконструктивная хирургия; селективное лазерное сплавление; костная ткань; адгезия.

Введение

Одной из современных технологий восстановления функций ампутированных конечностей пациентов является остеоинтеграция. К лимитирующим факторам развития данной технологии относятся нестабильность имплантатов в костном канале в послеоперационный период и высокая длительность процесса остеоинтеграции. Остеоинтеграция имплантатов существующих конструкций часто подвержена неудачам вследствие проникновения инфекций и возникновения остеопороза с последующим расшатыванием и выпадением [1]. Для решения указанных проблем предложена технология одноэтапной остеоинтеграции, построенная на механобиологическом управлении костеобразованием. Метод одноэтапной остеоинтеграции с механобиологическим стимулированием костеобразования позволяет обеспечить профилактику осложнений в раннем и отдаленном послеоперационном периоде и существенно сократить сроки реабилитации ампутантов [2]. Развитие основ одноэтапной технологии остеоинтеграции построено на решении следующих задач:

- 1) создание принципиально нового дизайна имплантатов и биомеханических систем их внешней фиксации, позволяющих реализовать управляемое механобиологическое стимулирование роста костной ткани и исключить резорбцию;
- 2) обоснование выбора материала имплантатов и технологий их изготовления;
- 3) определение нагрузок и периодичности стимуляции костеобразования в условиях биомеханического воздействия путем экспериментальных исследований на животных.

В настоящее время созданы и запатентованы конструкции вкручиваемых имплантатов, дизайн которых и применение систем внешней фиксации позволяют обеспечить высокую стабильность и приживаемость

в костном канале за счет биологического стимулирования костеобразования срезаемой костной стружкой, механического компрессионного нагружения на протезируемую кость и периодической доставки лекарственных средств на интерфейс «кость-имплантат» [3, 4].

Пример имплантатов для остеоинтеграции в костномозговой канал культы голени кролика и собаки приведен на рис. 1. Конструктивное исполнение имплантатов имеет сложную геометрию резьбовой поверхности, обеспечивающую надежную предварительную фиксацию в костном канале и создающую дополнительные возможности для ускоренного роста костного регенерата на поверхности. Впервые удалось реализовать комбинированную геометрию резьбовой поверхности, состоящей из заходной режущей-калибрующей части и упорной прямоугольной резьбы. Режущей-калибрующая часть представляет собой метчик с канавками, в которых скапливается костная стружка, способствующая костеобразованию регенерата. Прямоугольный профиль упорной резьбы создает только сжимающую распределенную нагрузку на кость, что предохраняет ее от разрушения. Принципиально новым в конструкции имплантата является опорно-антисептический пояс, обеспечивающий возможность создания компрессионной нагрузки на ампутированную кость и удержания антисептического препарата. Компьютерное моделирование дизайна имплантатов позволило создать различные варианты расположения отверстий для подвода на интерфейс «кость-имплантат» антисептических и стимулирующих остеоинтеграцию лекарственных средств.

Целью данного исследования является установление закономерностей костеобразования по длине поверхности резьбового титанового имплантата, интегрированного в культю большеберцовой кости собаки.

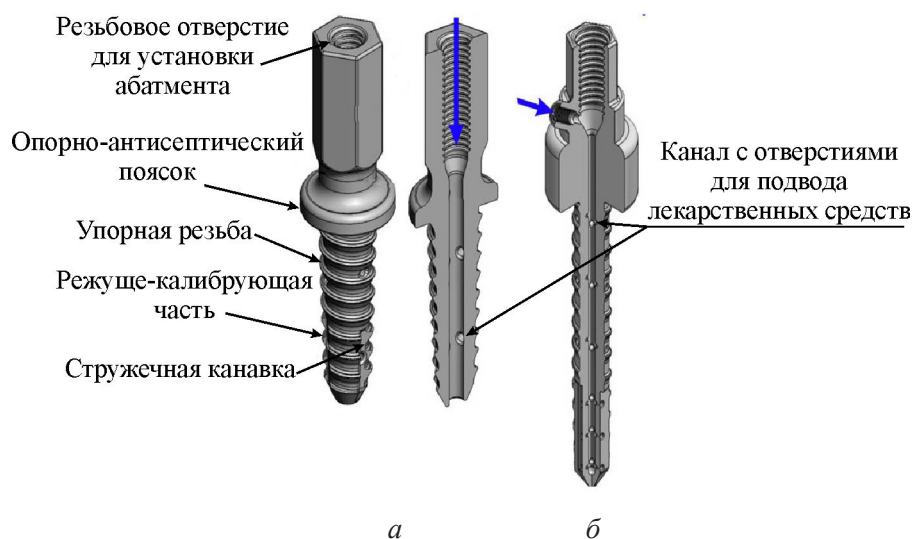


Рис. 1. Пример имплантов для остеоинтеграции в костномозговой канал культы голени кролика (а) и собаки (б)

Fig. 1. An example of implants for osseointegration into the bone medullary canal of a rabbit (a) and dog (b) tibia stump

1. Материалы и методы

На основании компьютерной томографии большеберцовой кости у трех собак было выполнено компьютерное моделирование и созданы параметрические цифровые модели для 3D-печати имплантов методом SLM на установке EOSINT M280 с использованием порошка сплава Ti6Al4V. Имплантат со сквозным каналом внутри диаметром 1,2 мм имеет шестигранную головку с размером под ключ 10 мм и внутреннюю резьбу M8 с шагом 0,75 мм. Резьбовой стержень имеет заходную часть длиной 20 мм, в которой выполнены канавки с режущими кромками. Головка содержит боковой патрубок для подвода лекарственного раствора и опорно-антисептический пояс с пористо-ячеистой структурой толщиной 10 мм. По всей длине резьбовой части стержня выполнены отверстия диаметром 1 мм с шагом 12 мм.

Собакам производили остеотомию большеберцовой кости на границе верхней и средней трети, также удаляли малоберцовую

кость на этом же уровне. На основе результатов компьютерного моделирования животным рассверливали костномозговой канал от 7 и 7,5 мм, вкручивали имплантаты диаметром 7,3 и 7,8 мм (Патент РФ № 170103 [4]) в культю большеберцовой кости в зависимости от диаметра костномозгового канала (рис. 2, б).

Мягкие ткани послойно ушивались. Всем собакам фиксация имплантата и компрессионная нагрузка на кость осуществлялась специальным устройством внешней фиксации [5], которое реализовано на базе конструктивных элементов аппарата Илизарова (рис. 2, в). Компрессионная нагрузка 20 Н задавалась на основе ранее проведенных исследований остеоинтеграции имплантата в бедренной кости кроликов [2] с перерасчетом на основе подобия масс в течение первых 42 дней после операции, после чего на срок 4,5 месяца устанавливался протез (рис. 2, г). Ежедневно в течение 5 дней после операции через каналы в имплантате вводился 1% раствор хлоргексидина.

Этические принципы. До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета. 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. На проведение исследования получено разрешение комитета по этике при

ФГБУ «НМИЦ ТО им. академика Г. А. Илизарова» Минздрава России.

Морфологическое исследование участка большеберцовой кости с интегрированным в нее имплантатом осуществляли в параформ-глутаральдегидном фиксаторе (2% параформ, 2% глутаральдегид на фосфатном буфере, pH 7,4) при 4 °С. Через 7 суток кость распиливали в продольном направлении так, чтобы в одном фрагменте остался интегрированный имплантат с обнаженной на распиле поверхность. Распилы кости с имплантатом обезживали в этаноле возрастающей концентрации (от 70 до 100%), заливали в камфен и высушивали на воздухе.

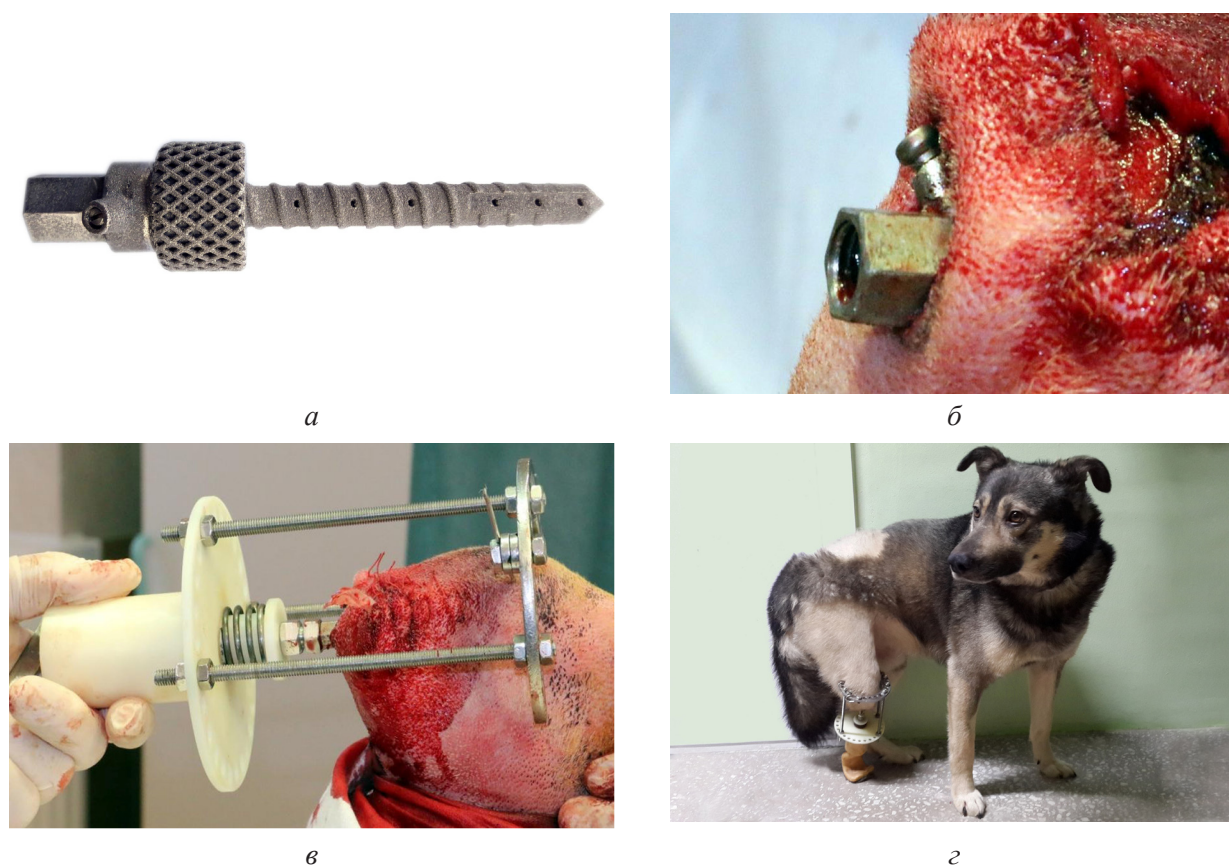


Рис. 2. Пример остеоинтеграции резьбового имплантата в культю голени собаки с устройством внешней фиксации:

а – имплантат, изготовленный методом SLM; б – имплантат в костномозговом канале; в – присоединение устройства внешней фиксации с компрессионным нагружением; г – экспериментальное животное после операции

Fig. 2. An example of osseointegration of a threaded implant into a stump of the lower leg of a dog with an external fixation device:

а – implant made by the SLM method; б – an implant in the medullary canal; в – connection of an external fixation device with compression loading; г – experimental animal after surgery

Полученные препараты монтировали на электропроводящую основу и напыляли в ионном вакуумном напылителе ИВ-6 ионами платины и палладия. Препараты исследовали в сканирующем электронном микроскопе JSM-840, получая изображение в режиме вторичных электронов. Концентрацию кальция и фосфора в тканевом субстрате, адгезированном на поверхности имплантационных металлоконструкций и элементный состав самих металлоконструкций осуществляли при помощи рентгеновского электронно-зондового микроанализатора «INKA Energy 200» (Oxford Instruments Analytical), смонтированном на сканирующем электронном микроскопе JSM-840 при ускоряющем напряжении 20 кэВ и в рабочем состоянии 15 мм. Результаты исследований получали в виде элементных карт и данных количественного элементного анализа в весовых процентах.

Распилы большеберцовой кости без имплантата декальцинировали в смеси Рихмана – Гельфанда – Хилла, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и заливали

в парафин. Продольные гистологические срезы толщиной 7–8 мкм получали на санном микротоме фирмы «Reichard» (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином.

Микроскопическое светооптическое исследование гистологических препаратов большеберцовой кости выполнено с применением стереомикроскопа AxioScope A1 и цифровой камеры AxioCam ICc 5 в комплекте с программным обеспечением Zen blue («Carl Zeiss MicroImaging GmbH», Германия).

2. Результаты исследования

Рентгенограмма голени собаки с имплантатом через 12 недель эксперимента приведена на рис. 3. Гистологически к 180 суткам эксперимента выявили стабильное положение имплантатов в костномозговом канале всех собак и отмечали формирование единого костно-имплантационного блока (рис. 4, а) за счет интеграции костной ткани в рельефные углубления имплантата. В культе большеберцовой кости сохранялась непрерывная компактная пластинка (рис. 4, б, в).

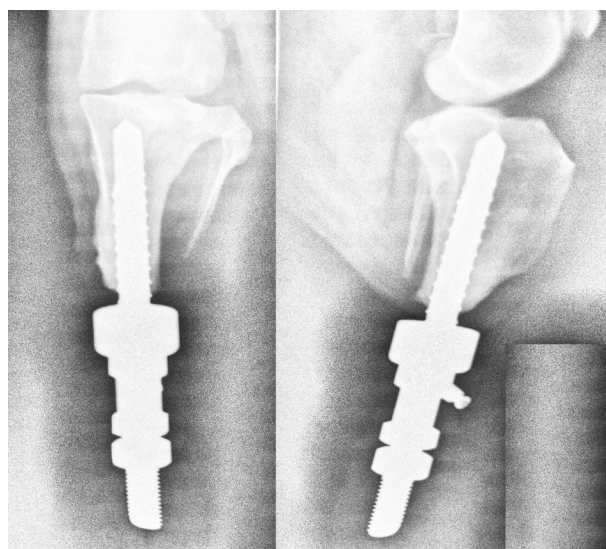


Рис. 3. Рентгенограмма голени собаки через 12 недель эксперимента

Fig. 3. X-ray of the lower leg of the dog after 12 weeks of the experiment



Рис. 4. Формирование блока «кость-имплантат» через 180 суток эксперимента:
a – распил большеберцовой кости собаки с внедренным резьбовым имплантатом;
б, в – гистотопограмма распила большеберцовой кости собаки после извлечения имплантата
 (*б* – окраска по Ван-Гизону; *в* – окраска по Массону). Увеличение $\times 1,5$

Fig. 4. Formation of the «bone-implant» block after 180 days of the experiment:
a – sawing the tibia of a dog with an embedded threaded implant; *б, в* – histotopogram of the sawing of the dog's
 tibia after removal of the implant (*б* – staining according to Van Gieson; *в* – staining according to Masson).
 Magnification $\times 1,5$

Дистальный конец костной культи обрамляла плотная волокнистая соединительная ткань. Ее тяжи достаточно глубоко в виде тяжей проникали в компактное вещество

(рис. 5, *a*). Между имплантатом и компактной пластинкой формировалась губчатая крупноячеистая кость пластинчатого строения (рис. 5, *б, в*).

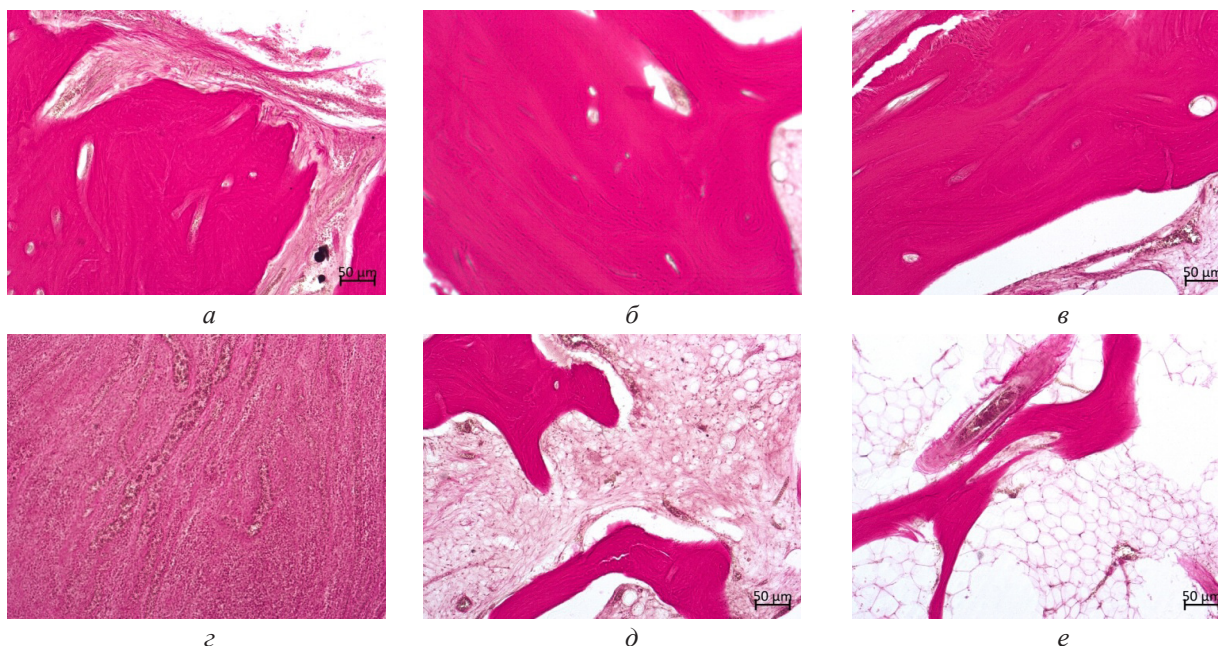


Рис. 5. Гистоструктурные особенности строения различных участков культи большеберцовой кости через 180 суток эксперимента:
a, б, в – микрофотография участков компактной пластинки; *г, д, е* – микрофотография участков костномозгового канала. Окраска по Ван-Гизону. Увеличение $\times 100$

Fig. 5. Histostuctural features of the structure of various sections of the tibial stump after 180 days of the experiment:
a, б, в – micrograph of the sections of the compact plate; *г, д, е* – micrograph of the bone marrow canal sections.
 Staining according to Van Gieson. Magnification $\times 100$

В межтрабекулярных промежутках проксимальной части обнаруживался жировой костный мозг (рис. 5, е). В средней части промежутки между трабекулами были заполнены ретикулярной тканью (рис. 5, д), в дистальной части – участками ретикулярной и грануляционной тканей (рис. 5, з). Поднадкостнично по ходу сосудов встречались воспалительные инфильтраты. В разных зонах обнаруживались участки растрескивания компактного слоя, резорбционные полости (рис. 5, б, в).

Наличие костных минерализованных трабекулярных структур на поверхности и вокруг имплантата показали электронные карты, построенные в характеристическом излучении Ca, P и Ti (рис. 6). Адгезия костных клеток, костного вещества и микрососудов определялась как на выступающих, так и в углубленных структурах.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено влияние механического ком-

прессионного нагружения и стимулирования костеобразования на поверхности резьбы имплантата. Достигнута стабильность и приживаемость имплантатов после 180-суточного эксперимента. Проведенные морфологические исследования выявили формирование единого костно-имплантационного блока. Между имплантатом и компактной пластинкой в дистальной части формировалась губчатая крупноячеистая кость пластинчатого строения. В средней части имплантата промежутки между трабекулами заполнены ретикулярной тканью. Поднадкостнично по ходу сосудов встречались воспалительные инфильтраты, в разных зонах обнаруживались участки растрескивания компактного слоя, резорбционные полости. Это связано, прежде всего, с достаточно приблизительным назначением компрессионной нагрузки 20 Н и требует проведения дальнейших исследований по оптимизации механического стимулирования костеобразования.

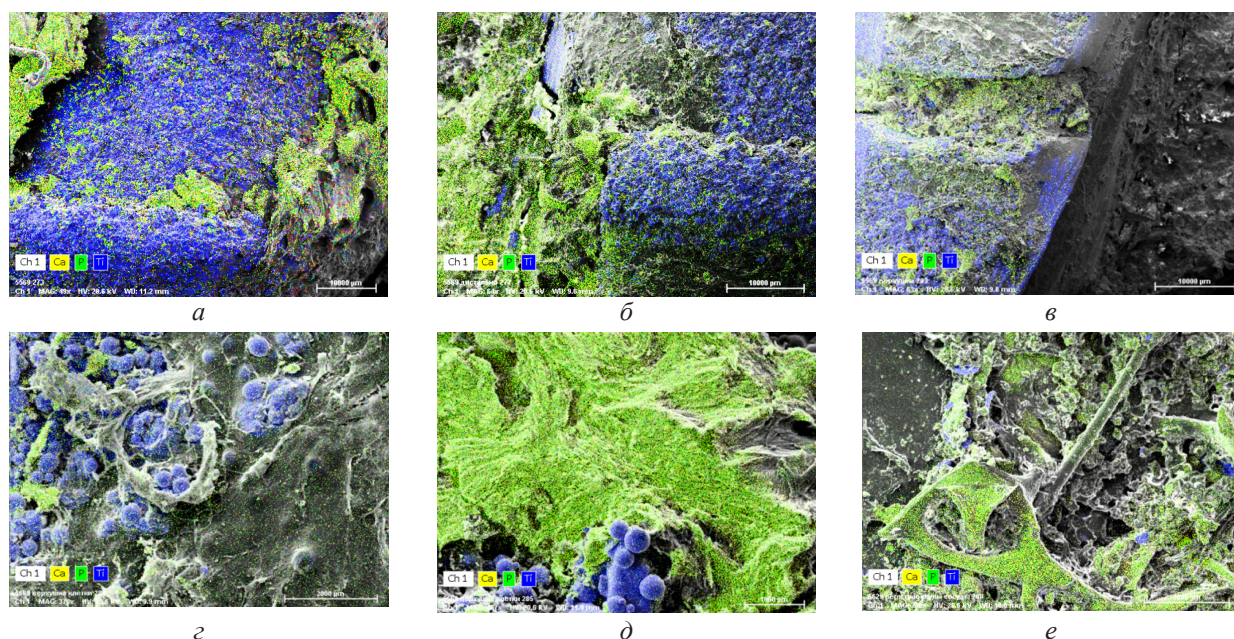


Рис. 6. Адгезия костной ткани на поверхности имплантата, интегрированного в культю большеберцовой кости собаки:

а, б, в – участки поверхности имплантата нижней, средней и верхней его трети. Электронные карты распределения Ca, P и Ti на поверхности имплантата соответственно в нижней (а, з), средней (б, д) и верхней трети (в, е). Рентгеновский электронно-зондовый микроанализ. Увеличение: ×68 (а–в); ×370 (з); ×420 (д); ×180 (е). Ca – желтый, P – зеленый, Ti – синий

Fig. 6. Bone tissue adhesion on the surface of the implant integrated into the tibial stump of the dog:
а, б, в – areas of the implant surface of its lower, middle and upper third. Electronic maps of Ca, P and Ti distribution on the implant surface, respectively, in the lower (а, з), middle (б, д) and upper third (в, е). X-ray electron probe microanalysis. Magnification: ×68 (а–в); ×370 (з); ×420 (д); ×180 (е). Ca – yellow, P – green, Ti – blue

Благодарности

Работа выполнена в рамках проекта УМНОЦ «Научно-производственный комплекс новых технологий остеointеграции ампутированных конечностей».

Список литературы

1. Challenges and Perspectives in the Use of Additive Technologies for Making Customized Implants for Traumatology and Orthopedics / A. V. Gubin et.al. // Biomedical Engineering. 2016. V. 50, Iss. 4. P. 285–289. DOI: 10.1007/s10527-016-9639-6.

2. Survival of percutaneous implants under various mechanical loading to the bone /

A. A. Emanov et al. // Genii ortopedii. 2018. V. 24, No. 4. P. 500–506. DOI: 10.18019/1028-4427-2018-24-4-500-506.

3. Имплантат культы трубчатой кости / В. П. Кузнецов и др. // Патент РФ № 152558, МПК А 61 F 2/28. Опубл. 10.06.2015.

4. Имплантат культы трубчатой кости / В. П. Кузнецов и др. // Патент РФ № 170103, МПК А61F 2/28. Опубл. 13.04.2017.

5. Устройство для остеointеграции имплантата в кость культы нижней конечности / В. П. Кузнецов и др. Патент РФ № 185647, МПК А 61 F 2/78, А 61 F 2/28, А 61 В 17/62, А 61 F 2/60. Опубл. 13.12.2018.