

РАЗРАБОТКА И ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫХ ПОРИСТЫХ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ С БИОАКТИВНЫМИ ПОКРЫТИЯМИ В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

П.А. Каралкин^{1,*}, К.Г. Кудрин^{1,2}, Д.С. Святославов¹, Д.А. Усатов¹, И.В. Решетов^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
Минздрава России (Сеченовский Университет)

119991, Российская Федерация, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

² Академия постдипломного образования

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр ФМБА России»

125371, Российская Федерация, Москва, Волоколамское ш., 91

Разработана технология создания персонализированных пористых титановых имплантатов с биоактивными покрытиями, изготавливаемых с применением аддитивных технологий. Этапы создания имплантата включают получение первичных данных из области костного дефекта с помощью компьютерной томографии; 3D-моделирование области дефекта и соответствующего ей имплантата; изготовление персонализированного имплантата из титановых сплавов с использованием технологии селективного лазерного сплавления; нанесение биоактивных покрытий. Создаваемый персонализированный имплантат может иметь несколько функциональных структур. Проведены всесторонние испытания образцов титановых имплантатов с биоактивными покрытиями. Математическое моделирование и технические испытания позволили установить соответствие механических свойств разработанных структур натуральной костной ткани. Испытания *in vitro* показали отсутствие острой токсичности при высоких показателях биосовместимости исследованных образцов. Одобренные локальными этическими комитетами испытания *in vivo* на кроликах породы Советская шиншилла и обезьянах вида павиан анубис показали адекватные биомеханические и высокие остеоиндуктивные свойства исследованных образцов. Успешные результаты доклинических исследований, а также проведение токсикологических и технических испытаний в сертифицированных лабораториях позволили сформировать регистрационное досье для государственной регистрации персонализированных пористых титановых имплантатов с биоактивными покрытиями, изготавливаемых с применением аддитивных технологий.

Ключевые слова: персонализированные пористые титановые имплантаты, биоактивные покрытия, аддитивные технологии

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: работа выполнена в рамках НИОКР, финансируемой ЧУ «Наука и инновации» (ГК «Росатом»).

Для цитирования: Каралкин П.А., Кудрин К.Г., Святославов Д.С., Усатов Д.А., Решетов И.В. Разработка и доклинические испытания персонализированных пористых титановых имплантатов с биоактивными покрытиями в модельных системах. *Биомедицина*. 2023;19(3E):104–109. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-104-109>

Поступила 17.04.2023

Принята после доработки 25.04.2023

Опубликована 06.11.2023

DEVELOPMENT AND PRECLINICAL TRIALS OF CASTOMIZED POROUS TITANIUM IMPLANTS WITH BIOACTIVE COATINGS IN MODEL SYSTEMS

Pavel A. Karalkin^{1,*}, Konstantin G. Kudrin^{1,2}, Dmitry S. Svyatoslavov¹,
Dmitry A. Usatov¹, Igor V. Reshetov^{1,2}

¹ Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
119991, Russian Federation, Moscow, Trubetskaya Str., 8–2

² Academy of Postgraduate Education under Federal Scientific
and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia
125371, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoe Highway, 91

This paper presents a technology for creating customized porous titanium implants with bioactive coatings, manufactured using additive technologies. The stages of creating an implant include obtaining primary data from the bone defect area using computed tomography; 3D modeling of the defect area and the corresponding implant; production of a customized implant from titanium alloys using selective laser fusion technology; application of bioactive coatings. The as-created customized implant can have several functional structures. Samples of titanium implants with bioactive coatings were subjected to extensive testing. Mathematical modeling and experiments were used to verify the correspondence of the mechanical properties of the developed structures to natural bone tissue. *In vitro* tests of the studied samples showed the absence of acute toxicity along with high levels of biocompatibility. *In vivo* tests of the studied samples on Soviet chinchilla rabbits and Anubis baboon monkeys approved by local ethical committees showed their adequate biomechanical and high osteoinductive properties. The successful results of preclinical studies, as well as toxicological and technical tests in certified laboratories, made it possible to create a registration dossier for state registration of customized porous titanium implants with bioactive coatings, manufactured using additive technologies.

Keywords: personalized porous titanium implants, bioactive coatings, additive technologies.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: the work was carried out within the framework of R&D funded by the PI “Science and Innovation” (“Rosatom”).

For citation: Karalkin P.A., Kudrin K.G., Svyatoslavov D.S., Usatov D.A., Reshetov I.V. Development and Preclinical Trials of Castomized Porous Titanium Implants with Bioactive Coatings in Model Systems. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):104–109. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-104-109>

Submitted 17.04.2023

Revised 25.04.2023

Published 06.11.2023

Увеличение числа случаев онкологических заболеваний, травм, ранений челюстно-лицевой области как в нашей стране, так и за рубежом ведет к увеличению потребности в специализированной помощи при устранении протяженных дефектов костей лицевого скелета [2].

Несмотря на определенные достижения в разработке и применении синтетических полимерных или кальцийфосфатных остеопластических материалов, использование

имплантатов на основе металлов и их сплавов на сегодня остается безальтернативным вариантом для замещения дефектов костной ткани в нагружаемых областях, таких как: кости лицевого части черепа и нижняя челюсть, позвоночник, крупные суставы [1]. При этом среди металлических имплантатов изделия из титана являются наиболее перспективными, поскольку обладают рядом преимуществ: низкая токсичность, отсутствие выраженных аллергических и кан-

церовенных свойств, хорошие показатели механической прочности и пластичности, а также высокое сопротивление усталостным явлениям [6]. В то же время традиционные методы производства титановых имплантатов (литье, прессование и прокатка) не позволяют создавать в полной мере пористые изделия, обладающие одновременно высокими прочностными/усталостными свойствами и низким модулем упругости, близким к значениям натуральной кости; также эти методы по ряду причин не подходят для создания персонализированных изделий. Решение указанных проблем возможно благодаря применению аддитивных технологий, позволяющих получать изделия с необходимыми прочностными характеристиками с учётом анатомических особенностей, которые, помимо прочего, способны содержать как пористые, так и сплошные конструктивные элементы для наиболее полной реконструкции протяженных дефектов костей лицевого скелета [4, 7].

С точки зрения усиления регенеративных свойств титановых имплантатов весьма перспективным подходом является разработка биоактивных покрытий для их поверхностей, содержащих набор биогенных компонентов, где каждая из структурных составляющих выполняет определенную функцию, в частности обеспечивает механическую прочность, износостойкость, коррозионную стойкость, биоактивность и бактерицидность [3, 5].

Описанный выше подход был реализован при разработке технологии создания персонализированных пористых титановых имплантатов с биоактивными покрытиями, изготавливаемых с применением аддитивных технологий. Процесс создания персонализированного имплантата включает несколько этапов.

На первом этапе по данным компьютерной томографии происходит получение 3D-модели костных структур, содержащих дефект. Затем происходит реконструкция

области костного дефекта (при необходимости область дефекта корректируется в соответствии с планируемой резекцией костных тканей).

На втором этапе на основе 3D-моделей костных структур и области дефекта создают 3D-модель имплантата. В зависимости от особенностей области дефекта имплантат может содержать: сетчатые структуры в области контакта с костными тканями для биоинтеграции; ячеистые структуры, обеспечивающие необходимые механические и прочностные свойства несущей части изделия; сплошные структуры для реконструкции тонкостенных областей и других участков, требующих гладких поверхностей. При реконструкции дефектов нижней челюсти с суставным сегментом имплантат будет содержать в области суставной головки полую гладкую сферическую поверхность. При сложной конфигурации дефекта костных тканей выполняется проверка соответствия формы будущего имплантата границам сохраненным анатомическим структурам путём изготовления стереолитографических моделей с последующим их совмещением и коррекцией (при необходимости) 3D-модели имплантата, что также облегчает планирование последующей хирургической операции.

В ходе моделирования и технических испытаний в сертифицированной государственной лаборатории установлена биоадекватность механических и прочностных свойств ячеистых структур замещаемым костным тканям. Ячеистые структуры подбирались из типоразмерного ряда в соответствии с ожидаемыми механическими свойствами замещаемых костных тканей. Внедрение ячеистых структур в 3D-модель имплантата выполнялось после моделирования формы имплантата и моделирования крепёжных элементов (пластинообразные структуры с отверстиями под стандартные крепёжные винты). На заключительной фазе создания 3D-модели имплантата

та в местах контакта с костными тканями в границах дефекта размещали сетчатые структуры для управления процессами остеоинтеграции.

На третьем этапе в соответствии с 3D-моделью имплантата происходит изготовление персонализированного имплантата по технологии селективного лазерного сплавления. Образцы-свидетели, изготавливаемые совместно с каждой партией имплантатов, позволяют проводить контроль качества.

На четвёртом этапе выполняется нанесение биоактивных покрытий методом магнетронного распыления. В ходе исследований установлено, что оптимальными с точки зрения комбинации твердости, износостойкости и биоактивных свойств являются покрытия на основе TiCN, модифицированные Ca, P и O (TiCaPCON). Наличие доказанных биоактивных свойств, высокой износостойкости и возможности осаждения на поверхность с развитым рельефом делает покрытия состава TiCaPCON перспективным материалом для модификации высокопористых остеоиндуктивных имплантатов, обладающих мультимодальным распределением пор и изготовленных методом селективного лазерного сплавления. При этом дополнительные бактерицидные свойства имплантатов возможно получить благодаря имплантации ионов серебра (Ag) в структуру поверхностного напыления.

Предварительно перед доклиническими исследованиями были проведены токсикологические исследования *in vitro* специфической активности титановых образцов, созданных по описанной выше технологии.

Весь комплекс биологических исследований *in vitro* был выполнен на 3D-образцах без покрытий, а также образцах с многокомпонентным покрытием состава CaPCON или многокомпонентным покрытием состава CaPCON с ионной имплантацией Ag. В экспериментах были использованы два вида клеток: культура остеосаркомы чело-

века линии MG-63 (тест-культура) и культура мультипотентных стромальных клеток костного мозга (МСК КМ) здоровых доноров. На первом этапе методом непрямого контакта показано отсутствие острой токсичности в отношении тест-культуры как образцов исходного высокопористого титана, так и образцов с многокомпонентными биоактивными покрытиями.

Далее были изучены и сравнены процессы адгезии клеток MG-63 к поверхности опытных образцов без покрытия и с двумя типами биоактивных покрытий через 4 и 24 ч культивирования. На основании результатов конфокальной микроскопии и иммуноцитохимии с использованием МАТ к винкулину (белок фокальных контактов) и использования окраски фаллоидином установлены более выраженные адгезивные свойства покрытия состава CaPCON на пористом титане: площадь клеток и количество фокальных контактов с данной поверхностью через 24 ч культивирования в этой группе были максимальными по сравнению с образцами титана без покрытия и с покрытием состава CaPCON с ионной имплантацией Ag.

Результаты, полученные с помощью МТТ-теста и метода Live/Dead, свидетельствуют о том, что разработанные составы многокомпонентных покрытий на пористом имплантате из титана не снижают жизнеспособности и не подавляют пролиферативных потенций тест-культуры — клеток остеосаркомы человека линии MG-63. Скорость экспансии клетками поверхности этих разработанных образцов не отличалась от контроля (полистирен). Таким образом, все три типа образцов на основе сплава титана оказались цитосовместимыми и поддерживали адгезию, активную пролиферацию клеток тест-культуры MG-63 и в итоге способствовали эффективной колонизации поверхностей данных образцов.

В исследовании по оценке способности образцов поддерживать остеогенную диф-

ференцировку МСК КМ при условии их культивирования в специальных индукционных средах методом ПРЦ РВ показано, что все три типа образцов в экспериментах *in vitro* в разной степени способствовали остеогенной дифференцировке МСК КМ донора: в этих клетках была определена экспрессия двух из трех изученных маркерных генов — RunX2 и Alpl, что позволяет предполагать остеоинтеграцию образцов при имплантации их в костный дефект *in vivo*.

В целом токсикологические исследования показали безопасность титановых имплантатов, созданных по описанной выше технологии. Полученные результаты проведенных испытаний *in vitro* показали отсутствие острой токсичности при высоких показателях биосовместимости исследованных образцов. По совокупности выявленных биологических эффектов наиболее перспективными для проведения дальнейших доклинических испытаний представляются титановые имплантаты с био-активным покрытием состава CaPCON, дополненные ионами серебра.

Были проведены всесторонние доклинические исследования образцов титановых имплантатов, созданных в соответствии с описанным выше подходом. Предварительно были разработаны модельные костные дефекты для средних и крупных лабораторных животных. Доклинические исследования получили одобрение локального этического комитета.

Исследования биомеханических и остеоиндуктивных свойств имплантатов в моделях костных дефектов проведены на кроликах породы Советская шиншилла. Были сформированы разработанные модель-

ные костные дефекты и выполнено имплантирование изготовленных изделий. Отмечались хорошая переносимость оперативных вмешательств по установке имплантатов, а также начальные признаки репаративного остеогенеза. В результате рентгенографических исследований зоны имплантации выявлена удовлетворительная остеоиндукция.

Также проведены исследования биомеханических и остеоиндуктивных свойств имплантатов в моделях костных дефектов у крупных лабораторных животных. Исследования проведены на обезьянах вида павиан анубис путём имплантации индивидуальных изделий. В результате рентгенографических исследований зоны имплантации установлена удовлетворительная остеоиндукция. Костную регенерацию оценивали по набору количественных параметров: размер костной мозоли в проксимальном отделе, наличие очагов резорбции и литических изменений в проксимальном отделе, затемнение пористых структур в проксимальном отделе.

Удовлетворительные результаты моделирования, исследований *in vitro*, доклинических испытаний *in vivo* на кроликах породы Советская шиншилла и обезьянах вида павиан анубис позволили сформировать регистрационное досье персонализированных пористых титановых имплантатов с био-активными покрытиями, изготавливаемых с применением аддитивных технологий. В ходе подготовки регистрационного досье также успешно пройдены необходимые технические и токсикологические испытания в сертифицированных лабораториях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Davis R., Singh A., Jackson M.J., Coelho R.T., Prakash D., Charalambous C.P., Ahmed W., da Silva L.R.R., Lawrence A.A. A comprehensive review on metallic implant biomaterials and their subtractive manufacturing. *Int. J. Adv. Manuf. Technol.* 2022;120:1473–1530. DOI: 10.1007/s00170-022-08770-8.
2. Juncar M., Tent P.A., Juncar R.I., Harangus A., Mircea R. An epidemiological analysis of maxillo-facial fractures: a 10-year cross-sectional cohort retrospective study of 1007 patients. *BMC Oral Health.* 2021;21(1):128. DOI: 10.1186/s12903-021-01503-5.
3. Narayanan R., Seshadri S.K., Kwon T.Y., Kim K.H. Calcium phosphate-based coatings on titanium and

- its alloys. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2008;85(1):279–299. DOI: 10.1002/jbm.b.30932.
4. Park J., Zobaer T., Sutradhar A.A. Two-Scale Multi-Resolution Topologically Optimized Multi-Material Design of 3D Printed Craniofacial Bone Implants. *Micromachines*. 2021;12:101. DOI: 10.3390/mi1202 0101.
 5. Xue T., Attarilar S., Liu S., Liu J., Song X., Li L., Zhao B., Tang Y. Surface Modification Techniques of Titanium and its Alloys to Functionally Optimize Their Biomedical Properties. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2020;8:603072. DOI: 10.3389/fbioe.2020.603072.
 6. Yang J., Liu C., Sun H., Liu Y., Liu Z., Zhang D., Zhao G., Wang Q., Yang D. The progress in titanium alloys used as biomedical implants: From the view of reactive oxygen species. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2022;10:1092916. DOI: 10.3389/fbioe.2022.1092916.
 7. Zumofen L., Kopanska K.S., Bono E., Kirchheim A., De Haller E.B., Graf-Hausner U. Properties of Additive-Manufactured Open Porous Titanium Structures for Patient-Specific Load-Bearing Implants. *Front. Mech. Eng.* 2022;7:830126. DOI: 10.3389/fmech.2021.830126.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Каралкин Павел Анатольевич*, к.м.н., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: karalkin_p_o@staff.sechenov.ru

Pavel A. Karalkin*, Cand. Sci. (Med.), Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: karalkin_p_o@staff.sechenov.ru

Кудрин Константин Геннадьевич, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр ФМБА России»;
e-mail: kudrin_k@rambler.ru

Konstantin G. Kudrin, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia; Academy of Postgraduate Education under Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: kudrin_k@rambler.ru

Святославов Дмитрий Сергеевич, к.м.н., доц., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: dssvyatoslavov78@mail.ru

Dmitry S. Svyatoslavov, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: dssvyatoslavov78@mail.ru

Усатов Дмитрий Андреевич, к.м.н., доц., ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет);
e-mail: raincod@gmail.com

Dmitry A. Usatov, Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: raincod@gmail.com

Решетов Игорь Владимирович, д.м.н., проф., акад. РАН, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Академия постдипломного образования ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр ФМБА России»;
e-mail: reshetoviv@mail.ru

Igor V. Reshetov, Dr. Sci. (Med.), Prof., Acad. of the RAS, Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia; Academy of Postgraduate Education under Federal Scientific and Clinical Center of the Federal Medical and Biological Agency of Russia;
e-mail: reshetoviv@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author