



## Оценка приживаемости и безопасности применения оссеоинтегрированных чрескожных имплантатов из разных сплавов

А.А. Еманов, М.В. Стогов, В.П. Кузнецов, Е.В. Осипова, Н.В. Тушина, Е.А. Кирева, И.В. Шипицына, А.В. Губин

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России, Курган

Контактная информация: к.в.н. Еманов Андрей Александрович, A\_Eman@list.ru

В работе проведена оценка приживаемости и безопасности оригинального чрескожного имплантата для культы трубчатой кости, выполненного из разных сплавов. Экспериментальное исследование проведено на кроликах-самцах породы шиншилла. Животным первой группы имплантировали изделие из нержавеющей стали (марка EOS PH1), во второй группе имплантат был изготовлен из титанового сплава (марка Ti6Al4V). Оба имплантата выполнены по аддитивной технологии селективного лазерного сплавления методом послойного сплавления образцов. Срок наблюдения животных составил 90 дней после имплантации. Обнаружено, что у животных первой группы в течение эксперимента наблюдалось два случая выпадения имплантата, во второй группе таких случаев зафиксировано не было. В первой группе отмечен один случай гибели животного, а также три случая хронического воспаления возле имплантата. С одинаковой частотой у животных обеих групп отмечен рост активности трансаминаз и увеличение уровня С-реактивного белка. Результаты проведенного исследования показали, что приживаемость и безопасность чрескожного имплантата из титанового сплава были выше относительно изделия, выполненного из нержавеющей стали.

**Ключевые слова:** чрескожный имплантат, оссеоинтеграция, приживаемость, безопасность.

### Введение

Использование оссеоинтегрированных чрескожных имплантатов с целью протезирования культей конечностей является достаточной новой и активно развивающейся технологией [2]. Фундаментальное и клиническое обоснование применения такой технологии в настоящее время активно разрабатывается [3-6]. Случаи использования данной технологии в отечественной медицине

единичны [1], т.к. существенным ограничением ее использования является отсутствие доступных имплантатов.

Авторами разработан оригинальный чрескожный имплантат для культы трубчатой кости (Патент № 152558 РФ, МПК А61F 2/28. Имплантат культы трубчатой кости / Кузнецов В.П., Губин А.В., Корюков А.А., Горгоц В.Г. – 2014142216/14; заявл. 20.10.2014; опубл. 10.06.2015, бюлл. № 16), экспериментальная до-

клиническая оценка приживаемости и безопасности данного имплантата, выполненного из разных сплавов, и была **целью** данного исследования.

### Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 20-ти кроликах-самцах породы шиншилла в возрасте 6-10 мес. средней массой  $3,4 \pm 0,2$  кг. Животные получены из питомника ОАО «Акционерное Курганское общество медицинских препаратов и изделий “Синтез”» (Курган). Микробиологический статус – конвенциональные животные.

В ходе исследования животные содержались в виварии ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России. Кроликов содержали в клетках без полок, по одному животному. Все клетки были оборудованы емкостями для корма и воды. В качестве подстила использовали опилки нехвойных пород деревьев. Клетки подвергали ежедневной влажной уборке. Корм выдавался животным один раз в день, чистая стерильная питьевая вода – без ограничений. До начала эксперимента все животные выдерживались в карантине в течение 21 суток.

Содержание животных регламентировалось СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)»; ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур»; ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами».

При планировании исследования ориентировались на ГОСТ Р ИСО 10993-1-2011 «Национальный стандарт РФ. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования» и ГОСТ Р ИСО 10993-6-2011 «Национальный стандарт РФ. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации».

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 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Всем животным под общим наркозом проводили ампутацию голени на границе верхней трети. Далее рассверливали костно-мозговой канал до 4-4,5 мм, вкручивали имплантат (рис. В) в культю большеберцовой кости диаметром 4,5-5 мм (в зависимости от диаметра канала) и прикрепляли аббатмент (рис. А). Далее фиксировали сегмент аппаратом Илизарова, состоящим из двух опор. Для этого проводили перекрест спиц через проксимальный метаэпифиз большеберцовой кости и дистальную часть аббатмента, дистальные спицы были с упорной площадкой (рис. Б). Аппарат Илизарова демонтировали через 6 недель (рис. Г).

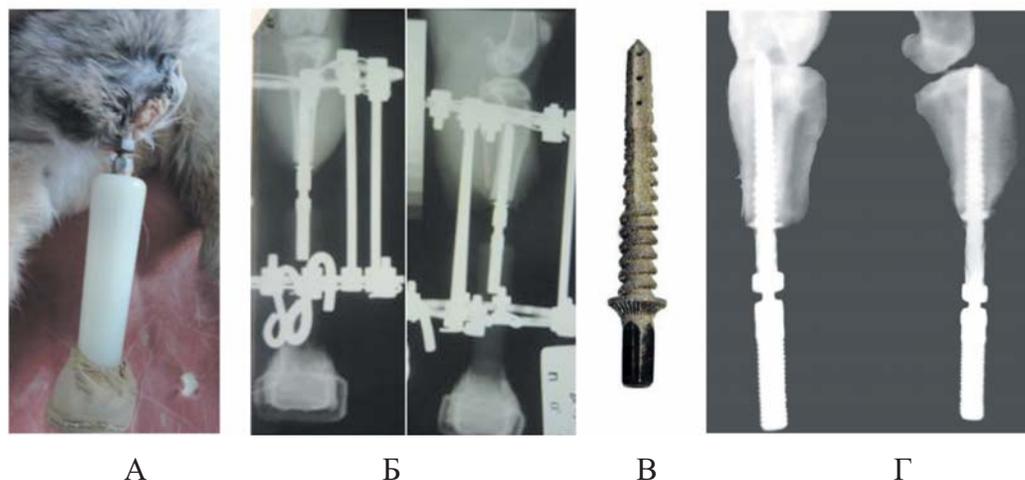


Рис. Внешний вид имплантата культи трубчатой кости и рентгенограммы прооперированной конечности на этапах эксперимента: А – пластиковый аббатмент; Б – рентгенограммы после оперативного вмешательства; В – внешний вид имплантата; Г – рентгенограммы голени кроликов через 12 недель после операции.

Использовали два типа имплантатов, выполненных из разных сплавов. Животным первой группы (n=8) имплантировали изделие из нержавеющей стали (марка EOS PH1), для второй группы (n=12) имплантат был изготовлен из титанового сплава (марка Ti6Al4V). Оба имплантата выполнены по аддитивной технологии методом селективного лазерного сплавления.

Для оценки выживаемости имплантатов осуществляли ежедневное наблюдение за животными в течение 90 сут после имплантации, после чего животных выводили из эксперимента передозировкой барбитуратов. Для дополнительной оценки эффективности изделия в сыворотке крови экспериментальных животных определяли активность ферментов-маркеров костного обмена – щелочной фосфатазы (ЩФ) и тартратрезистентной кислотной фосфатазы (ТрКФ), а также концентрацию общего кальция и неорганического фосфата.

Оценку безопасности имплантации исследуемого материала проводили на основании данных прижизненного наблюдения, гематологического и биохимического исследований крови животных.

Забор крови осуществляли из краевой вены уха на сроках до имплантации, на 28-е и 90-е сут после имплантации. В сыворотке крови определяли концентрацию общего белка (ОБ), С-реактивного белка (СРБ), глюкозы, мочевины, креатинина, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ).

Активность ферментов, а также концентрации субстратов в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе Hitachi / BM 902 (F.Hoffmann-La Roche Ltd. / Roche Diagnostics GmbH), используя наборы реагентов фирмы «Vital Diagnostic» (Россия). Гематологические показатели определяли на полуавтоматическом

гемоанализаторе АВХ PENTRA 60 («Hofiba АВХ», Франция-Япония).

Данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентиля – Me; 25÷75 перцентиль (табл. 1-3); для нежелательных событий (табл. 4) рассчитывали частоту встречаемости с расчётом доверительного интервала [ДИ, 5÷95%]. Достоверность различий между количественными лабораторными показателями животных 1-й и 2-й групп на сроках обследования была оценена с помощью непараметрического Т-критерия Манна-Уитни. Внутри групп достоверность различий количественных лабораторных показателей, полученных на сроках обследования, сравнивали с исходными значениями (дооперационный уровень) с помощью непараметрического W-критерия Уилкоксона. Достоверность различий между частотами нежелательных событий у животных 1-й и 2-й групп оценивали с применением точного критерия Фишера. Различия считали достоверными

при минимальном уровне значимости  $p < 0,05$ . В статистический анализ включены данные от всех животных, участвовавших в исследовании.

### Результаты и их обсуждение

Наблюдение за животными в течение постимплантационного периода показало, что клиническое состояние кроликов обеих групп было удовлетворительным. Опорная функция конечности, как правило, восстанавливалась на четвертые-пятые сутки после операции и присутствовала у всех животных на всем протяжении эксперимента.

У животных первой группы в течение эксперимента наблюдалось два случая выпадения имплантата (частота 0,250; доверительный интервал [ДИ, 5÷95%]: 0,031÷0,584), во второй группе таких случаев зафиксировано не было (частота 0,000; ДИ, 5÷95%: 0,000÷0,078). Следовательно, приживаемость титановых имплантатов была выше, чем имплантатов из нержавеющей стали.

Таблица 1  
Динамика показателей сыворотки крови кроликов экспериментальных групп, позволяющих оценивать эффективность изделия (Me; 25÷75 перцентиль)

Период наблюдения	Группа	ЩФ, ед/л	ТрКФ, ед/л	Кальций, ммоль/л	Фосфат, ммоль/л
До имплантации	1	50; 31÷62	28,8; 11,8÷31,0	3,71; 3,51÷3,77	1,31; 1,19÷1,64
	2	69; 45÷78	30,6; 24,2÷37,9	3,72; 3,68÷3,83	1,34; 1,23÷1,41
28-е сут после имплантации	1	30*; 26÷34	37,2*; 31,3÷43,1	3,39*; 3,07÷3,59	1,54*; 1,41÷1,63
	2	36*; 31÷45	41,9*; 27,6÷59,6	3,49*; 3,39÷3,70	1,40; 1,19÷1,45
90-е сут после имплантации	1	67; 58÷76	19,7; 13,6÷24,8	3,62; 3,60÷3,73	1,34; 1,32÷1,37
	2	44; 41÷66	24,1; 22,7÷25,0	3,63; 3,35÷3,80	1,34; 1,23÷1,36

Примечание: \* – достоверность различий со значениями дооперационного уровня при  $p < 0,05$ .

В свою очередь, показатели сыворотки крови, характеризующие костный и минеральный обмен, не имели достоверных отличий между группами в динамике эксперимента (табл. 1). Лишь на уровне тенденции можно заключить, что у кроликов первой группы на 28-е сут эксперимента отмечено более существенное нарушение кальций-фосфорного баланса (снижение кальция и рост фосфата сыворотки крови).

Клиническое наблюдение также показало, что в первые трое суток у всех животных выявлены отеки в области культи до трех-четырех дней. В течение нескольких дней отмечалось снижение аппетита. У четырех кроликов первой группы (50%) и у двух второй группы (16,7%) наблюдали острое гнойное воспаление мягких тканей вокруг имплантата в течение 10-14-ти дней после имплантации. Гнойное воспаление купировали антибиотикотерапией в течение 7-10-ти дней (цефазолин 0,05 г/кг). В первой группе отмечен один случай (16,7%) спонтанной гибели животного.

Хроническое воспаление в виде участков фибрина в зоне имплантата было выявлено у трех (37,5%) кроликов первой группы (гнойное отделяемое, повышение температуры, лейкоцитоз, снижение аппетита, вялость).

У животных обеих групп в постимплантационном периоде отмечали умеренный лейкоцитоз, снижение гемоглобина, значимое увеличение количества тромбоцитов по сравнению с дооперационными значениями (табл. 2). Значимых межгрупповых отличий не выявлено.

Обнаружено, что статистически достоверные отличия между биохимическими показателями животных сравниваемых групп отмечались на 90-е сут после имплантации (табл. 3). На данном сроке наблюдения в сыворотке крови животных первой группы статистически значимо относительно животных второй группы была выше концентрация мочевины, креатинина, СРБ и активность трансаминаз. Из этих показателей стоит выделить СРБ и креатинин, которые были достоверно выше у кроликов

Таблица 2  
Динамика гематологических показателей кроликов экспериментальных групп, позволяющих оценивать общее состояние животного (Ме; 25÷75 перцентиль)

Период наблюдения	Группа	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	Гемоглобин, г/л	Тромбоциты, 10 <sup>9</sup> /л
До имплантации	1	8,7; 6,2÷10,7	6,2; 5,7÷7,3	144; 131÷157	423; 395÷488
	2	8,8; 7,4÷9,8	6,7; 6,2÷7,1	139; 136÷149	411; 402÷438
28-е сут после имплантации	1	10,7; 9,6÷11,8	5,7; 5,3÷6,2	123; 113÷134	573*; 489÷623
	2	10,2; 9,3÷10,7	6,1; 5,4÷6,5	124; 115÷137	588*; 501÷614
90-е сут после имплантации	1	9,7; 9,2÷11,0	6,1; 5,2÷6,8	123; 114÷135	532*; 496÷589
	2	9,1; 8,5÷10,2	6,0; 5,0÷6,2	130; 123÷142	523*; 488÷587

Примечание: \* – достоверность различий со значениями дооперационного уровня при  $p < 0,05$ .

Таблица 3

Динамика биохимических показателей сыворотки крови кроликов экспериментальных групп, позволяющих оценивать безопасность применяемого изделия (Ме; 25÷75 процентиль)

Период наблюдения	Группа	ОБ, г/л	Мочевина, ммоль/л	СРБ, мг/л	Креатинин, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л	АЛТ, Е/л	АСТ, Е/л
До имплантации	1	68; 65÷72	5,7; 5,2÷6,4	0,0; 0,0÷0,2	99; 91÷114	7,60; 6,40÷7,76	49; 32÷89	28; 18÷47
	2	71; 66÷73	5,3; 4,9÷5,9	0,6; 0,0÷3,9	108; 95÷115	8,00; 7,38÷8,55	39; 31÷57	25; 23÷31
28-е сут после имплантации	1	67; 60÷68	4,7; 4,4÷5,8	34,5*; 27,9÷41,5	92; 83÷101	7,85; 7,03÷8,54	54; 37÷92	34; 24÷67
	2	65; 62÷72	4,4; 4,3÷5,4	21,7*; 10,7÷34,7	111; 98÷104	7,01; 6,66÷8,56	44; 34÷65	27; 22÷46
90-е сут после имплантации	1	70; 69÷71	6,9; 6,0÷7,9	17,7*; 15,4÷20,0	128*; 118÷137	7,55; 7,28÷7,83	88; 69÷106	56; 38÷74
	2	72; 64÷74	4,1*#; 4,0÷4,5	7,0#; 1,6÷11,2	94#; 88÷103	6,42; 6,16÷7,41	52#; 42÷63	23#; 22÷34

Примечания:

\* – достоверность различий со значениями дооперационного уровня при  $p < 0,05$ ;

# – достоверность межгрупповых различий при  $p < 0,05$ .

первой группы не только относительно сопоставимых показателей животных второй группы, но и относительно дооперационного уровня.

Сводные данные по частоте нежелательных событий (определение по

ГОСТ Р ИСО 14155-2014 «Клинические исследования. Надлежащая клиническая практика»), выявленные у животных при применении апробируемых изделий, представлены в табл. 4. В первой группе животных отмечен один случай

Таблица 4

Частоты нежелательных событий у кроликов экспериментальных групп, абсолютное число/общее число наблюдений (частота; доверительный интервал [ДИ]: 5÷95%)

Событие	Группа 1	Группа 2
Гибель	1/8 (0,125; ДИ: 0,000÷0,423)	0/12 (0,000; ДИ: 0,000÷0,078)
Признаки хронического воспаления (нагноение возле имплантата, лейкоцитоз)	3/8 (0,375; ДИ: 0,095÷0,713)	0/12# (0,000; ДИ: 0,000÷0,078)
Рост АСТ+АЛТ+креатинина	1/8 (0,125; ДИ: 0,000÷0,423)	1/12 (0,083; ДИ: 0,000÷0,296)
Рост СРБ	3/8 (0,375; ДИ: 0,095÷0,713)	5/12 (0,417; ДИ: 0,166÷0,694)

Примечание: # – достоверность межгрупповых различий при  $p < 0,05$ .

спонтанной гибели животного (частота 0,125; 95%-й ДИ, 5÷95%: 0,000÷0,423), а также три случая хронического воспаления возле имплантата (частота 0,375; ДИ, 5÷95%: 0,095÷0,713), различия по частоте случаев хронического воспаления достоверны при  $p < 0,05$ .

В обеих группах отмечено по одному случаю выявления высоких значений активности АЛТ и АСТ при повышенной концентрации креатинина. Однако, в связи с разницей в объеме сравниваемых групп, данное нежелательное событие имеет разную долю: 0,125 (0,125; ДИ 5÷95%: 0,000÷0,423) для первой группы и 0,083 (0,083; ДИ, 5÷95%: 0,000÷0,296) – для второй группы, различия между группами недостоверны. Частота повышения концентрации СРБ в сыворотке крови животных первой группы составила 0,375 (0,375; ДИ: 0,095÷0,713), у животных второй группы – 0,417 (0,417; ДИ: 0,166÷0,694), различия между группами недостоверны.

Причинно-следственная связь между всеми отмеченными в ходе исследования нежелательными событиями и тестируемыми имплантатами оценена нами как возможная (при оценке связи ориентировались на градации, принятые в письме Росздравнадзора от 28.12.2012 г. № 04И-1310/12 «О порядке проведения мониторинга безопасности медицинских изделий в ходе клинических испытаний»).

### Вывод

При оценке приживаемости и безопасности изученных имплантатов чрескожный имплантат из титанового сплава обладал большими преимуществами в части соотношения эффективность/безопасность относительно из-

делия, выполненного из нержавеющей стали.

### Список литературы

1. Корюков А.А., Губин А.В., Кузнецов В.П., Борзунов Д.Ю., Антипов А.В., Овчинников Е.Н., Резник А.В., Еманов А.А., Владимирова О.Н. Возможности улучшения функции и косметики культи пальцев кисти методом оссеоинтеграции // Гений ортопедии. – 2016. – № 4. – С. 22-28.
2. Brånemark R., Berlin O., Hagberg K., Bergh P., Gunterberg B., Rydevik B. A novel osseointegrated percutaneous prosthetic system for the treatment of patients with transfemoral amputation: A prospective study of 51 patients // Bone Joint J. – 2014. – Vol. 96-B. – No. 1. – Pp. 106-113. doi: 10.1302/0301-620X.96B1.31905.
3. Gholizadeh H., Abu Osman N.A., Eshraghi A., Ali S. Transfemoral prosthesis suspension systems: a systematic review of the literature // Am. J. Phys. med. rehabil. – 2014. – Vol. 93. – No. 9. – Pp. 809-823. doi: 10.1097/PHM.0000000000000094.
4. Hagberg K., Hansson E., Brånemark R. Outcome of percutaneous osseointegrated prostheses for patients with unilateral transfemoral amputation at two-year follow-up // Arch. phys. med. rehabil. – 2014. – Vol. 95. – No. 11. – Pp. 2120-2127. doi: 10.1016/j.apmr.2014.07.009.
5. Jeyapalina S., Beck J.P., Bloebaum R.D., Bachus K.N. Progression of bone ingrowth and attachment strength for stability of percutaneous osseointegrated prostheses // Clin. orthop. relat. res. – 2014. – Vol. 472. – No. 10. – Pp. 2957-2965. doi: 10.1007/s11999-013-3381-0.
6. Tomaszewski P.K., Verdonshot N., Bulstra S.K., Rietman J.S., Verkerke G.J. Simulated bone remodeling around two types of osseointegrated implants for direct fixation of upper-leg prostheses // J. Mech. behav. biomed. mater. – 2012. – Vol. 15. – Pp. 167-175. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.06.015.

### References

1. Korjukov A.A., Gubin A.V., Kuznecov V.P., Borzunov D.Ju., Antipov A.V., Ovchinnikov E.N., Reznik A.V., Emanov A.A., Vladimirova O.N. Vozmozhnosti uluchsheniya funkcii i kosmetiki kul'tej pal'cev kisti metodom osseointegracii [Possibilities of improving the function and cos-

- metics of the finger stumps by the method of osseointegration]. *Genij ortopedii* [Genius of orthopedics]. 2016. No. 4. Pp. 22-28. (In Russian).
2. *Brånemark R., Berlin O., Hagberg K., Bergh P., Gunterberg B., Rydevik B.* A novel osseointegrated percutaneous prosthetic system for the treatment of patients with transfemoral amputation: A prospective study of 51 patients. *Bone Joint J.* 2014. Vol. 96-B. No. 1. Pp. 106-113. doi: 10.1302/0301-620X.96B1.31905.
  3. *Gholizadeh H., Abu Osman N.A., Eshraghi A., Ali S.* Transfemoral prosthesis suspension systems: a systematic review of the literature. *Am. J. Phys. med. rehabil.* 2014. Vol. 93. No. 9. Pp. 809-823. doi: 10.1097/PHM.0000000000000094.
  4. *Hagberg K., Hansson E., Brånemark R.* Outcome of percutaneous osseointegrated prostheses for patients with unilateral transfemoral amputation at two-year follow-up. *Arch. phys. med. rehabil.* 2014. Vol. 95. No. 11. Pp. 2120-2127. doi: 10.1016/j.apmr.2014.07.009.
  5. *Jeyapalina S., Beck J.P., Bloebaum R.D., Bachus K.N.* Progression of bone ingrowth and attachment strength for stability of percutaneous osseointegrated prostheses. *Clin. orthop. relat. res.* 2014. Vol. 472. No. 10. Pp. 2957-2965. doi: 10.1007/s11999-013-3381-0.
  6. *Tomaszewski P.K., Verdonshot N., Bulstra S.K., Rietman J.S., Verkerke G.J.* Simulated bone remodeling around two types of osseointegrated implants for direct fixation of upper-leg prostheses. *J. Mech. behav. biomed. mater.* 2012. Vol. 15. Pp. 167-175. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.06.015.

## Evaluation of survival and safety of percutaneous osseointegrated implants made of various metal alloys

A.A. Emanov, M.V. Stogov, V.P. Kuznetsov, E.V. Osipova, N.V. Tushina, E.A. Kireeva, I.V. Shipitsyna, A.V. Gubin

In the work, an assessment was made of the survival and safety of the original percutaneous implant for the stump of a tubular bone made from different metal alloys. An experimental study was performed on male rabbits of the Chinchilla breed. The animals of the first group were implanted with a stainless steel product (grade EOS PH1), in the second group the implant was made of a titanium alloy (grade Ti6Al4V). Both implants are made by the additive technology of selective laser fusion by the method of layer-by-layer fusion of samples. The period of observation of the animals was 90 days after implantation. It was found that in animals of the first group two cases of implant prolapse were observed during the experiment, in the second group there were no such cases. In the first group there was one case of death of an animal, as well as three cases of chronic inflammation near the implant. With the same frequency, the animals of both groups showed an increase in the activity of transaminases and an increase in the level of the C-reactive protein. The results of the study showed that the survival rate and safety of a transdermal implant from a titanium alloy was higher relative to a product made of stainless steel.

**Key words:** percutaneous implant, osseointegration, survival, safety.