

БИОСОВМЕСТИМОСТЬ И КОСТНАЯ ИНТЕГРАЦИЯ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ РАЗЛИЧНОЙ ПОРИСТОСТИ С КАЛЬЦИЙ-ФОСФАТНЫМ ПОКРЫТИЕМ И БЕЗ ПОКРЫТИЯ

DOI: 10.17691/stm2021.13.2.06

УДК 611.018.4:611.82:961.762

Поступила 17.05.2020 г.

**А.А. Корыткин**, к.м.н., директор¹;**Н.Ю. Орлинская**, д.м.н., профессор, зав. отделением патологической анатомии с консервацией тканей²;
главный научный сотрудник Университетской клиники²;**Я.С. Новикова**, к.б.н., младший научный сотрудник отдела организации научных исследований¹;**С.А. Герасимов**, к.м.н., зав. отделением ортопедии взрослых Университетской клиники²;**Д.В. Давыденко**, к.б.н., научный сотрудник отделения патологической анатомии с консервацией тканей
Университетской клиники²;**К.В. Кулакова**, к.б.н., научный сотрудник отделения патологической анатомии с консервацией тканей
Университетской клиники²;**С.И. Твердохлебов**, к.ф.-м.н., и.о. руководителя лаборатории плазменных гибридных систем³;**Е.Н. Больбасов**, к.т.н., научный сотрудник лаборатории плазменных гибридных систем³¹Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна
Минздрава России, ул. Фрунзе, 17, Новосибирск, 630091;²Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1,
Н. Новгород, 603005;³Национальный исследовательский Томский политехнический университет, проспект Ленина, 30,
Томск, 634050

Цель исследования — изучить влияние размера пор и наличия биологически активного кальций-фосфатного покрытия в пористых титановых имплантатах, изготовленных методом 3D-печати, на процесс интеграции с костной тканью.

Материалы и методы. Образцы имплантатов цилиндрической формы с тремя различными диаметрами пор (100, 200 и 400 мкм) получали на 3D-принтере Arcam (Швеция) по технологии электронно-лучевой плавки из титанового порошка. Кальций-фосфатное покрытие толщиной 20 ± 4 мкм наносили на часть изделий методом микродугового оксидирования. Цитотоксичность имплантатов определяли *in vitro* на культурах дермальных фибробластов человека. *In vivo* образцы имплантировали в бедренную кость 36 кроликам. Животные были разделены на 6 групп в соответствии с образцами костных имплантатов. Изготовленные образцы и периимплантатные ткани изучали на 90-е и 180-е сутки после имплантации с использованием электронно-сканирующей микроскопии и гистологических методов исследования.

Результаты. Установлено, что все исследуемые образцы не токсичны и хорошо биосовместимы с костной тканью. У имплантатов с диаметром пор 100 и 200 мкм с наличием или отсутствием покрытия различий в гистологической структуре, интенсивности васкуляризации на ранних сроках и костеобразования на поздних сроках не выявлено. Образцы с диаметром пор 100 и 200 мкм легко извлекались из костной ткани, глубина прорастания кости в поры имплантата была ниже, чем у образцов с диаметром пор 400 мкм ($p < 0,001$). При диаметре пор 400 мкм отмечено различие между образцами с покрытием и без него, которое выражалось в более интенсивной остеоинтеграции в пользу образцов с кальций-фосфатным покрытием ($p < 0,05$).

Заключение. Оптимальными поверхностными характеристиками материала для замещения костных дефектов являются диаметр пор 400 мкм и наличие кальций-фосфатного покрытия.

Ключевые слова: остеоинтеграция; пористые титановые имплантаты; цитотоксичность; дефект костной ткани; аддитивные технологии; 3D-печать.

Как цитировать: Korytkin A.A., Orlynskaya N.Yu., Novikova Ya.S., Gerasimov S.A., Davydenko D.V., Kulakova K.V., Tverdokhlebov S.I., Bolbasov E.N. Biocompatibility and osseointegration of calcium phosphate-coated and non-coated titanium implants with various porosities. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2021; 13(2): 52–58, <https://doi.org/10.17691/stm2021.13.2.06>

Для контактов: Новикова Яна Сергеевна, e-mail: novikova_jana@mail.ru

Biocompatibility and Osseointegration of Calcium Phosphate-Coated and Non-Coated Titanium Implants with Various Porosities

A.A. Korytkin, MD, PhD, Director¹;

N.Yu. Orlinskaya, MD, DSc, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy with Tissue Conservation, University Clinic²; Chief Researcher, University Clinic²;

Ya.S. Novikova, PhD, Junior Researcher, Scientific Research Department¹;

S.A. Gerasimov, MD, PhD, Head of Adult Orthopedics Department, University Clinic²;

D.V. Davydenko, PhD, Researcher, Department of Pathological Anatomy with Tissue Conservation, University Clinic²;

K.V. Kulakova, PhD, Researcher, Department of Pathological Anatomy with Tissue Conservation, University Clinic²;

S.I. Tverdokhlebov, PhD, Acting Head of the Laboratory for Plasma Hybrid Systems³;

E.N. Bolbasov, PhD, Researcher, Laboratory for Plasma Hybrid Systems³

¹Novosibirsk Scientific Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsvivan of the Ministry of Health of the Russian Federation, 17 Frunze St., Novosibirsk, 630091, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

³National Research Tomsk Polytechnic University, 30 Prospect Lenina, Tomsk, 634050, Russia

The aim of the investigation was to study the influence of pore size and the presence of a biologically active calcium phosphate coating in porous 3D printed titanium implants on the process of integration with the bone tissue.

Materials and Methods. Samples of cylindrical implants with three different pore diameters (100, 200, and 400 μm) were fabricated from titanium powder on the Arcam 3D printer (Sweden) using electron beam melting technology. A calcium phosphate coating with a thickness of 20 ± 4 μm was applied to some of the products by microarc oxidation. Cytotoxicity of the implants was determined *in vitro* on human dermal fibroblast cultures. The samples were implanted in the femoral bones of 36 rabbits *in vivo*. The animals were divided into 6 groups according to the bone implant samples. The prepared samples and peri-implant tissues were studied on days 90 and 180 after implantation using scanning electron microscopy and histological methods.

Results. All samples under study were found to be non-toxic and well biocompatible with the bone tissue. There were revealed no differences between coated and non-coated implants of 100 and 200 μm pore diameters in terms of their histological structure, intensity of vascularization in the early stages, and bone formation in the later stages. Samples with pore diameters of 100 and 200 μm were easily removed from the bone tissue, the depth of bone growth into the pores of the implant was lower than in the samples with pore diameter of 400 μm ($p < 0.001$). There were differences between coated and non-coated samples of 400 μm pore diameter, which was expressed in a more intensive osseointegration of samples with calcium phosphate coating ($p < 0.05$).

Conclusion. The optimal surface characteristics of the material for repairing bone defects are a pore diameter of 400 μm and the presence of a calcium phosphate coating.

Key words: osseointegration; porous titanium implants; cytotoxicity; bone defect; additive technologies; 3D printing.

Введение

Производство имплантатов суставов с использованием аддитивных технологий позволяет формировать индивидуальные изделия сложной формы, сочетающие высокие физико-механические и медико-биологические свойства. Развитие аддитивных технологий открывает практикующим ортопедам и травматологам широкие возможности для восстановления функции поврежденной костной ткани [1].

Титан обладает высокой прочностью и хорошей биологической совместимостью с тканями при имплантации [2, 3]. Индивидуальные имплантаты, изготовленные из титана и его сплавов методом 3D-печати, позволяют замещать сложные костные де-

фекты, в том числе благодаря возможности регулирования размера и формы пор при их производстве, а также общей открытой пористости [2–6].

При экспериментальном замещении монокортикального диафизарного дефекта бедра животных отмечены высокие osteoconductive свойства 3D-пористого материала на основе фосфата кальция и его способность к биодеградации [7]. Однако изделия, полностью изготовленные из материала на основе трикальциевого фосфата, не обладают достаточными прочностными свойствами и не подходят в качестве имплантатов суставов.

Известно, что кальций-фосфатные покрытия, сформированные методом микродугового оксидирования (МДО) на поверхности титановых имплантатов,

существенно улучшают остеоиндуктивные свойства изделий, используемых для накостного и чрескостного остеосинтеза [8, 9]. В то же время применение таких имплантатов, полученных методом 3D-печати, в широкой клинической практике ограничено. Установлено, что процесс интеграции имплантата с костной тканью, а также его остеоиндуктивные и остеокондуктивные свойства во многом определяются размером пор и химическим составом поверхности имплантата [10–13]. Благодаря регуляции этих параметров можно управлять процессом гистогенеза тканей. Однако открытыми остаются вопросы влияния размера пор и кальций-фосфатного покрытия в индивидуальных титановых имплантатах на способность интеграции с костной тканью. Ответы на них помогут определить характеристики материала для производства имплантатов с наиболее оптимальными свойствами, что позволит достичь прочной первичной и в последующем — вторичной фиксации.

Цель данной работы — изучить влияние размера пор и наличия биологически активного кальций-фосфатного покрытия в пористых титановых имплантатах на процесс интеграции с костной тканью.

Материалы и методы

Образцы имплантатов цилиндрической формы с тремя различными диаметрами пор (100, 200 и 400 мкм) получали на 3D-принтере Agamat (Швеция) по технологии электронно-лучевой плавки (electron beam melting) из титанового порошка. Все образцы имели упорядоченную гексагональную структуру с расположением наружных страт вдоль оси имплантата. Чтобы исключить scratch-fit-эффект при фиксации имплантатов, их создавали без агрессивного шероховатого покрытия на поверхности. Кальций-фосфатное покрытие толщиной 20 ± 4 мкм наносили на часть образцов методом МДО [8] на опытной установке в Национальном исследовательском Томском политехническом университете. Далее проводили стерилизацию влажным паром при температуре 134°C в течение 5 мин по ГОСТ Р ИСО 17665-1 с последующей укладкой образцов в тройную стерильную упаковку. Цитотоксичность изучали по ГОСТ Р ИСО 10993.5 на модели *in vitro* (тестовая культура — диплоидные фибробласты человека).

Т а б л и ц а 1

Характеристика образцов имплантатов

Номер образца имплантата	Диаметр пор, мкм	Изначальная пористость, %	Кальций-фосфатное покрытие	Количество имплантатов, шт.
1	100	55	+	6
2	100	55	—	6
3	200	62	+	6
4	200	62	—	6
5	400	70	+	6
6	400	70	—	6

Исследования *in vivo* проведены в отделении экспериментальной медицины с вивариумом Приволжского исследовательского медицинского университета (Н. Новгород) на 36 самцах кроликов породы советская шиншилла в возрасте 6 ± 1 мес с массой тела 4675 ± 258 г. Эксперимент был одобрен Этическим комитетом Приволжского исследовательского медицинского университета.

Животные были разделены на 6 групп в соответствии с образцами костных имплантатов (табл. 1). Диаметр основания образцов — 3,2 мм, высота — 8 мм.

Согласно общепринятым этическим нормам («Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Research Council, 2011), а также в соответствии с этическими принципами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006), все болезненные манипуляции осуществляли под общим и местным обезболиванием.

После обработки операционного поля антисептическими средствами выполняли разрез кожных покровов в проекции наружного мыщелка бедренной кости и разведение мягких тканей. При помощи дрели и сверла диаметром 3 мм перпендикулярно оси бедра формировали стандартизированный костный дефект цилиндрической формы, соответствующий размеру образца имплантата. В образовавшийся дефект имплантировали костный образец, после чего операционную рану санировали и послойно ушивали. Проводили рентгеноконтроль с использованием С-дуги (установка рентгенодиагностическая хирургическая передвижная РТС-612 в. 4.2, Россия). В послеоперационном периоде в течение 10 дней выполняли перевязки и осуществляли контроль операционной раны. Через 90 и 180 сут после имплантации животных выводили из эксперимента с забором участков бедренных костей в зоне непосредственного контакта с образцами имплантатов.

Дальнейшую подготовку экспериментального материала для исследований осуществляли с использованием оборудования производства компании Thermo Fisher Scientific (США). После фиксации участков бедренных костей в 10% формалине и декальцинации образцы имплантатов осторожно удаляли из костной ткани и отправляли на электронную микроскопию, а костную ткань — в стандартную гистологическую проводку на аппарате Excelsior ES. Далее осуществляли заливку в парафиновые блоки с использованием заливочной станции HistoStar. Серийные срезы толщиной 4–6 микрон получали на микротоме Microm HM 325. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином при помощи станции для окраски Gemini AS. Для морфометрической обработки использовали микроскоп Leica 2500 (Leica Microsystems, Германия). При гистоло-

гическом исследовании оценивали морфологические изменения костной ткани.

Электронно-микроскопические исследования образцов имплантатов были выполнены в центре коллективного пользования «Новые материалы и ресурсосберегающие технологии» Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского на сканирующем электронном микроскопе JSM-IT300LV (JEOL, Япония) в режиме высокого вакуума и при низких значениях тока зонда (<0,1 нА), чтобы уменьшить воздействие электронного пучка на исследуемые образцы (диаметр электронного зонда до 3 нм). Фотодокументирование осуществляли на увеличениях от 27–30 (для обзорных изображений) до 2500–3700 (для оценки поверхности имплантатов с покрытием и без покрытия, а также пор и отдельных информативных включений в структуре поверхности исследуемых образцов).

При микроскопическом исследовании образцов имплантатов проводили полуколичественную морфометрическую оценку изменений костной ткани с использованием четырехбалльной оценочной шкалы. При оценке воспалительной реакции препарату присуждали баллы от 0 (нет признаков воспаления) до 3 (выраженное воспаление); при оценке васкуляризации — от 0 (нет признаков) до 3 (выраженная васкуляризация); при оценке интенсивности остеогенеза — от 0 (нет признаков остеогенеза) до 3 (интенсивно выраженный остеогенез, большая площадь занята зрелой костной тканью); при оценке склерозирования — от 0 (нет признаков) до 3 (выраженное склерозирование). Глубину прорастания костной ткани в поры имплантата выражали в относительных единицах: 0 — прорастание отсутствует, 1 — слабое прорастание, 2 — умеренное прорастание, 3 — выраженное прорастание.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и Statistica 6.1. Результаты исследования обрабатывали методами непараметрической статистики: при парных сравнениях использовали критерий Манна–Уитни, при множественных сравнениях — критерий Краскела–Уоллиса. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На модели *in vitro* установлено отсутствие цитотоксического действия материала, используемого для изготовления образцов. Результаты

исследований *in vivo* показали, что у основной части экспериментальных животных все изучаемые параметры, включая общее состояние (вес, шерсть, кожный покров и т.д.), гематологические и биохимические показатели, на 90-е и 180-е сутки после имплантации образцов находились в пределах нормы.

При микроскопическом исследовании образцов имплантатов проводили полуколичественную морфометрическую оценку изменений костной ткани, результаты которой представлены в табл. 2.

Гистологическое исследование показало, что после имплантации образцов признаков воспаления периимплантатных тканей не обнаружено ни в одном случае. В группах 5 и 6 по периферии области внедрения имплантатов наблюдались зрелые костные трабекулы, распространенность которых была больше, чем при использовании изделий 1–4 ($p < 0,05$). Склерозирование менее выражено при имплантации образцов 1, 2 и совсем не выражено у образцов 5, 6 ($p < 0,001$) (рис. 1).

При электронно-микроскопическом исследовании образцов, изъятых через 90 сут после имплантации, отмечено, что в группах 1 и 2 поры заполнены по всей площади костными структурами различной степени зрелости, однако глубина их заполнения несколько ниже, чем в группах 3–6. В области внедрения имплантатов в группах 5, 6 по сравнению с другими группами зрелые трабекулы с четко выраженным остеоцитарным строением, присущим зрелой структуре, занимали большую площадь ($p < 0,001$). На сроке исследования 180 сут, площадь, занимаемая новообразованной зрелой костной тканью в

Таблица 2

Полуколичественная морфометрическая оценка изменений костной ткани на разных сроках после установки образцов имплантатов, в баллах

Номер образца имплантата	Воспаление	Васкуляризация	Остеогенез	Склерозирование	Глубина прорастания костной ткани
90 сут					
1	0	2	1	0	1
2	0	2	1	1*	1
3	0	2	1	1*	1
4	0	1	1	1*	1
5	0	3*#	2*#	0	2*
6	0	2	1	0	2*
180 сут					
1	0	1	2	0	2
2	0	1	2	0	2
3	0	1	2	1*	2
4	0	1	2	1*	2
5	0	0	3*#	0	3*
6	0	0	2	0	3*

* — $p < 0,001$ (различия между группами, критерий Краскела–Уоллиса); # — $p < 0,05$ (различия между группами при сравнении групп с одинаковым диаметром пор с наличием или отсутствием покрытия, критерий Манна–Уитни).

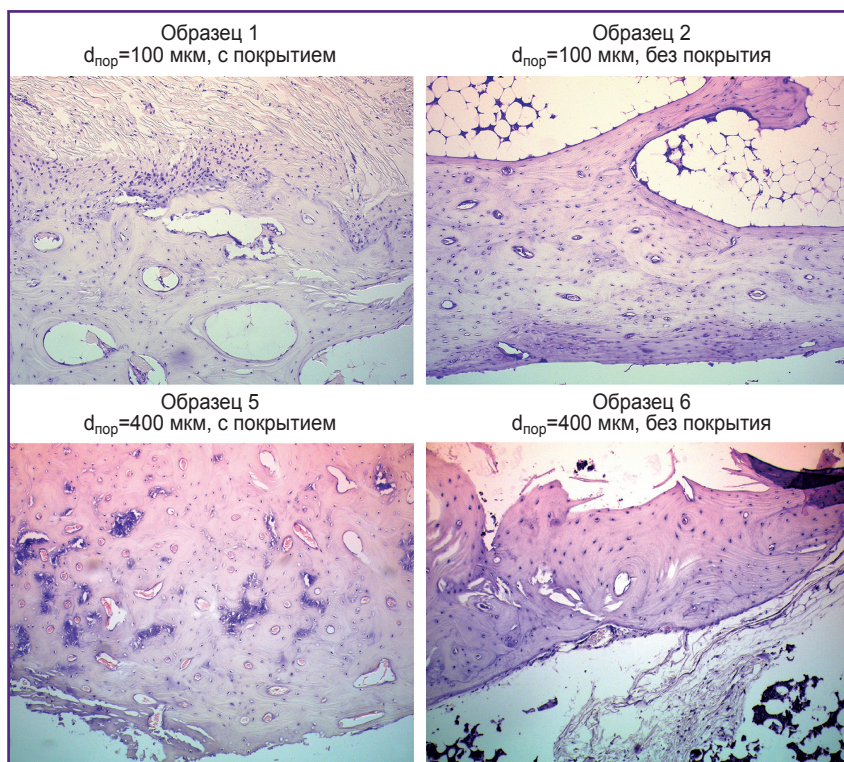


Рис. 1. Гистологическая картина периимплантатных тканей через 180 сут после установки образцов имплантатов
Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

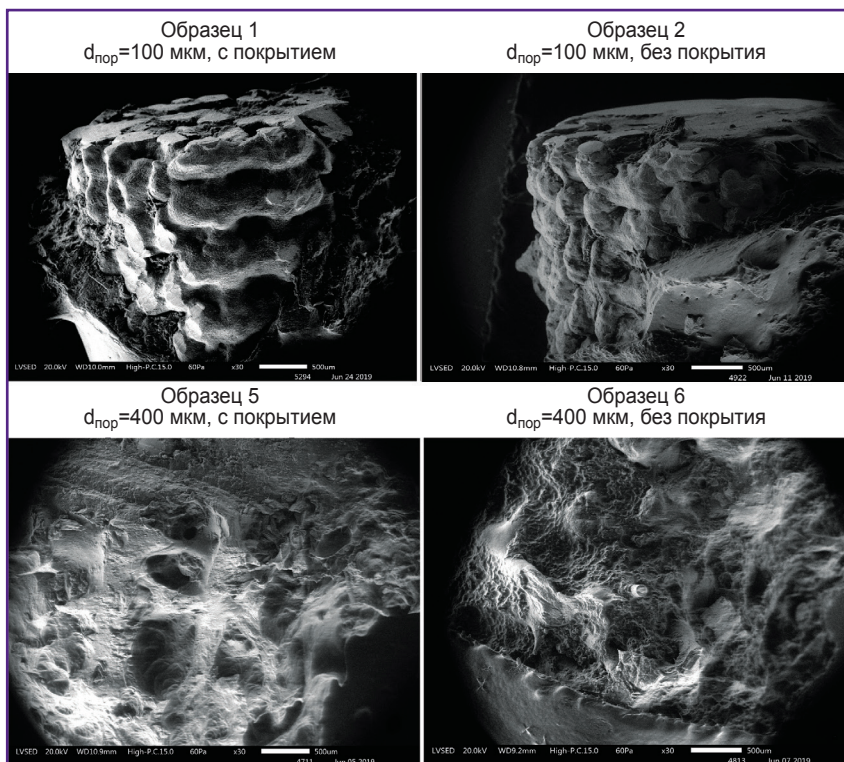


Рис. 2. Обзорный вид образцов имплантатов через 180 сут после установки
Наличие массивного слоя новообразованной кости на поверхности имплантата; электронная микроскопия, $\times 30$

порах имплантатов, увеличилась: в группах 5, 6 увеличение площади было больше по сравнению с имплантатами из групп 1–4 ($p < 0,001$). Обзорные электронно-микроскопические изображения и поверхность образцов имплантатов представлены на рис. 2.

При сравнительной характеристике имплантатов установлено, что у образцов с диаметром пор 100 и 200 мкм наличие или отсутствие покрытия не имеет значения, так как различий в гистологической структуре, интенсивности васкуляризации на ранних сроках и костеобразования на поздних сроках не выявлено. Образцы с диаметром пор 100 и 200 мкм на всех сроках исследования достаточно легко извлекались из костной ткани, так как глубина прорастания кости в поры имплантата была ниже, чем у образцов 5 и 6 ($p < 0,001$). При диаметре пор 400 мкм отмечено различие между образцами 5 и 6 на различных сроках исследования, которое выражалось в более интенсивной остеоинтеграции в пользу образца номер 5, имеющего покрытие ($p < 0,001$ и $p < 0,05$ через 90 и 180 сут после имплантации соответственно).

Мнения различных авторов относительно биоразлагаемых кальций-фосфатных покрытий титановых имплантатов сходятся: покрытия существенно улучшают их остеоиндуктивные свойства и способствуют остеогенезу [6, 8, 9, 14]. S.G. Kalinichenko и соавт. [14] изучали влияние на остеогенез биоразлагаемого покрытия из фосфата кальция и гидроксиапатита, нанесенного на титановые имплантаты методом плазменного электролитического оксидирования, при моделировании закрытого перелома бедренной кости крысы. Установлено, что биоразлагаемые покрытия имплантатов способствуют пролиферации и экспрессии генов BMP-2, VEGF и TGF- $\beta 2$ и усиливают регуляторные эффекты факторов роста на разных стадиях репаративного остеогенеза. Авторы также заключили, что в условиях биомеханических нагрузок рельефная поверхность имплантата способствует

прикреплению и удержанию на ней остеобластов. Фосфаты кальция являются источником биологически активных ионов, которые создают благоприятную химическую среду для остеогенных клеток и обеспечивают стабильность пролиферации клеток новообразованной костной ткани.

Нами показано, что наличие кальций-фосфатного покрытия не всегда улучшает остеогенез: у имплантатов с диаметром пор 100 и 200 мкм наличие или отсутствие покрытия не имеет значения. В свою очередь при диаметре пор 400 мкм наличие покрытия способствует более интенсивной остеоинтеграции.

Существуют разные мнения исследователей относительно оптимального размера пор для лучшей остеоинтеграции. Р.М. Тихилов с соавт. [5] исследовали костную и мягкотканную интеграцию пористых титановых имплантатов с размером пор 100–200 мкм. Такие изделия способствовали прорастанию кости на глубину 2–3 мм и обеспечивали хорошую фиксацию имплантата. Авторы считают данный диаметр пор оптимальным для интеграции как костной ткани, так и мягких тканей.

Другой группой исследователей [15] было установлено, что среди изучаемых ими пористых титановых имплантатов, изготовленных методом 3D-печати, показатели остеогенеза имплантатов с фактическим размером пор около 600 мкм превосходили показатели двух других групп с размерами пор 400 и 800 мкм.

Некоторые авторы делают выводы, что чем больше размер пор, тем лучше происходит остеоинтеграция. D. Zhao и соавт. [16] установили, что полилактидные скаффолды с крупными размерами пор показывают лучший результат регенерации костной ткани. Большой размер пор (2 мм) более благоприятен для обмена клетками и цитокинами между надкостницей и кортикальной костью. Кроме того, остеогенез и ангиогенез — два взаимосвязанных процесса, и жизнеспособность образованной костной ткани зависит от регенерации новых сосудов. Авторами показано, что васкуляризация новой кости усиливается с увеличением размеров пор. Однако механические свойства скаффолдов из полилактида постепенно снижались с увеличением диаметра пор. В нашем случае использование имплантатов из титанового сплава лишает их такого недостатка, как низкая прочность.

В исследовании A. Ilea и соавт. [17] титановые скаффолды с порами диаметром 800 нм показали лучшую остеоинтеграцию, чем скаффолды с порами размером 1000 нм. Сходные результаты были получены в работе F. Liu [18] с соавт. Авторы изучали остеогенез костных скаффолдов, изготовленных методом 3D-печати из фосфата кальция, обладающих пористостью 70% и крупными размерами пор — 0,8; 1,2 и 1,6 мм. Скаффолды имплантировали в дефект размером 8 мм, созданный в своде черепа новозеландских кроликов, и изучали через 4 и 8 нед после установки. Все скаффолды демонстрировали отличные механические свойства и обладали лучшей костеобразующей

способностью, чем контроль, как через 4, так и через 8 нед. Среди них скаффолд с размером пор 800 мкм превосходил остальные по всем показателям костеобразования.

Вероятной причиной того, что результаты исследований относительно оптимального для остеоинтеграции размера пор разнятся, является то, что авторы представляют усредненный размер пор, не учитывая их взаимосвязь, общую пористость. В связи с этим консенсус относительно наиболее оптимальных поверхностных характеристик материалов для производства костных имплантатов не достигнут.

Заключение

Высокопористые титановые имплантаты, изготовленные методом аддитивных технологий, являются перспективными для восстановительной и ревизионной хирургии при замещении костных дефектов. Исследуемые образцы имплантатов обладают высокой биосовместимостью, цитотоксическое действие отсутствует. Наиболее оптимальными поверхностными характеристиками материала образцов имплантатов, стимулирующими остеоинтеграцию, являются диаметр пор 400 мкм и наличие кальций-фосфатного покрытия.

Финансирование исследования. Исследование проведено при финансовой поддержке ООО «ОСТЕОМЕД-М» (договор на выполнение научно-исследовательской работы №2246/2018).

Конфликт интересов. ООО «ОСТЕОМЕД-М» (Москва) занимается разработкой и производством имплантатов и инструментов для травматологии, ортопедии, эндопротезирования и спинальной хирургии. Влияния на результаты исследования ООО «ОСТЕОМЕД-М» не оказывало.

Литература/References

1. Eltorai A.E.M., Nguyen E., Daniels A.H. Three-dimensional printing in orthopedic surgery. *Orthopedics* 2015; 38(11): 684–687, <https://doi.org/10.3928/01477447-20151016-05>.
2. Розенберг О.А., Шейкин С.Е., Сохань С.В. Перспективы применения технически чистого титана для имплантатов костной хирургии. *HMT* 2010; (2): 50–54.
3. Rosenberg O.A., Sheikin S.E., Sochan S.V. Prospects for the using of technically pure titanium for implants in bone surgery. *NMT* 2010; (2): 50–54.
4. Bondarenko S., Dedukh N., Filipenko V., Akonjom M., Badnaoui A.A., Schwarzkopf R. Comparative analysis of osseointegration in various types of acetabular implant materials. *Hip Int* 2018; 28(6): 622–628, <https://doi.org/10.1177/1120700018759314>.
5. Корыткин А.А., Захарова Д.В., Новикова Я.С., Горбатов Р.О., Ковалдов К.А., Эль Мудни Ю.М. Опыт применения индивидуальных трехфланцевых вертлужных компонентов при ревизионном эндопротезировании тазобедренного сустава. *Травматология и ортопедия*

России 2017; 23(4): 101–111, <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-4-101-111>.

Korytkin A.A., Zakharova D.V., Novikova Ya.S., Gorbato R.O., Kovaldov K.A., El Moudni Y.M. Custom triflange acetabular components in revision hip replacement (experience review). *Травматология и ортопедия России* 2017; 23(4): 101–111, <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2017-23-4-101-111>.

5. Тихилов Р.М., Шубняков И.И., Денисов А.О., Конев В.А., Гофман И.В., Михайлова П.М., Нетылько Г.И., Васильев А.В., Анисимова Л.О., Билык С.С. Костная и мягкотканная интеграция пористых титановых имплантатов (экспериментальное исследование). *Травматология и ортопедия России* 2018; 24(2): 95–107, <https://doi.org/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., Netylko G.I., Vasiliev A.V., Anisimova L.O., Bilyk S.S. Bone and soft tissues integration in porous titanium implants (experimental research). *Травматология и ортопедия России* 2018; 24(2): 95–107, <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2018-24-2-95-107>.

6. Qadir M., Li Y., Munir K., Wen C. Calcium phosphate-based composite coating by micro-arc oxidation (MAO) for biomedical application: a review. *Crit Rev Solid State* 2018; 43(5): 392–416, <https://doi.org/10.1080/10408436.2017.1358148>.

7. Dubrov V.E., Klimashina E.S., Shcherbakov I.M., Shipunov G.A., Putlyaev V.I., Evdokimov P.V., Tikhonov A.A., Zyuzin D.A., Danilova N.V., Mal'kov P.G. Experimental evaluation of the properties of 3D porous bone substitute based on calcium phosphate on the model of monocortical diaphysial femur defect in rats. *Bull Exp Biol Med* 2019; 167(3): 400–403, <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04536-7>.

8. Bolbasov E.N., Popkov D.A., Kononovich N.A., Gorbach E.N., Khlusov I.A., Golovkin A.S., Stankevich K.S., Ignatov V.P., Bouznic V.M., Anissimov Y.G., Tverdokhlebov S.I., Popkov A.V. Flexible intramedullary nails for limb lengthening: a comprehensive comparative study of three nails types. *Biomed Mater* 2019; 14(2): 025005, <https://doi.org/10.1088/1748-605x/14/2/025005>.

9. Popkov A.V., Popkov D.A., Kononovich N.A., Gorbach E.N., Tverdokhlebov S.I., Bolbasov E.N., Darvin E.O. Biological activity of the implant for internal fixation. *J Tissue Eng Regen Med* 2018; 12(12): 2248–2255, <https://doi.org/10.1002/term.2756>.

10. Albrektsson T., Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001; 10: S96–S101, <https://doi.org/10.1007/s005860100282>.

11. Gittens R.A., Olivares-Navarrete R., Schwartz Z., Boyan B.D. Implant osseointegration and the role of microroughness and nanostructures: lessons for spine implants. *Acta Biomater* 2014; 10(8): 3363–3371, <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.03.037>.

12. Hayes J.S., Klöppel H., Wieling R., Sprecher C.M., Richards R.G. Influence of steel implant surface microtopography on soft and hard tissue integration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2017; 106(2): 705–715, <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33878>.

13. Tavakoli J., Khosroshahi M.E. Surface morphology characterization of laser-induced titanium implants: lesson to enhance osseointegration process. *Biomed Eng Lett* 2018; 8(3): 249–257, <https://doi.org/10.1007/s13534-018-0063-6>.

14. Kalinichenko S.G., Matveeva N.Y., Kostiv R.Y., Edranov S.S. The topography and proliferative activity of cells immunoreactive to various growth factors in rat femoral bone tissues after experimental fracture and implantation of titanium implants with bioactive biodegradable coatings. *Biomed Mater Eng* 2019; 30(1): 85–95, <https://doi.org/10.3233/bme-181035>.

15. Ran Q., Yang W., Hu Y., Shen X., Yu Y., Xiang Y., Cai K. Osteogenesis of 3D printed porous Ti6Al4V implants with different pore sizes. *J Mech Behav Biomed Mater* 2018; 84: 1–11, <https://doi.org/10.1016/j.jmbm.2018.04.010>.

16. Zhao D., Jiang W., Wang Y., Wang C., Zhang X., Li Q., Han D. Three-dimensional-printed poly-l-lactic acid scaffolds with different pore sizes influence periosteal distraction osteogenesis of a rabbit skull. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 1–14, <https://doi.org/10.1155/2020/7381391>.

17. Ilea A., Vrabie O.G., Băbțan A.M., Miclăuș V., Ruxanda F., Sárközi M., Barbu-Tudoran L., Mager V., Berce C., Boșca B.A., Petrescu N.B., Cadar O., Câmpian R.S., Barabás R. Osseointegration of titanium scaffolds manufactured by selective laser melting in rabbit femur defect model. *J Mater Sci Mater Med* 2019; 30(2): 26, <https://doi.org/10.1007/s10856-019-6227-9>.

18. Liu F., Liu Y., Li X., Wang X., Li D., Chung S., Chen C., Lee I.S. Osteogenesis of 3D printed macro-pore size biphasic calcium phosphate scaffold in rabbit calvaria. *J Biomater Appl* 2019; 33(9): 1168–1177, <https://doi.org/10.1177/0885328218825177>.