

БІОСКЛО ТА ЙОГО ЗАСТОСУВАННЯ В СУЧАСНОМУ ЛІКУВАННІ ОСТЕООНКОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

С.П. Туранська¹, А.П. Кусяк¹, А.Л. Петрановська¹, В.В. Туров¹, П.П. Горбик¹,
В.А. Дубок², О.А. Бур'янов³, В.С. Чорний³, Ю.Л. Соболевський³, В.Ф. Чехун⁴

¹Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, phorbyk@ukr.net

²Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича Національної академії наук
України, вул. Кржижанівського, 3, Київ, 03142, Україна

³Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, бульвар Тараса Шевченка, 13,
Київ, 01601, Україна

⁴Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
Національної академії наук України, вул. Васильківська, 45, Київ, 03022, Україна

Пухлинні захворювання кісток є однією з основних проблем у сучасній клінічній практиці. Після хірургічного втручання може залишатися деяка частина пухлинних клітин, здатних до проліферації, що призводить до рецидиву пухлини. Крім того, хірургічне видалення пухлин кістки створює дефекти кісткової тканини. Тому проблема виготовлення специфічних біоматеріалів з подвійною функцією лікування пухлин кістки і регенерації кісткових дефектів набула пріоритетного значення.

Застосування методів адресної доставки та локального контрольованого вивільнення препаратів сприяє створенню бажаної терапевтичної концентрації ліків у вогнищі захворювання та підвищує їх біодоступність. В останні роки розроблено перспективні зразки, здатні до ефективного контрольованого вивільнення, в яких цисплатин, доксорубіцин та гемцитабін використовувалися в якості модельних хіміотерапевтичних препаратів. Вказані підходи виявилися перспективними і показали потенційну можливість знищення залишкових пухлинних клітин, однак, вони можуть набувати резистентності до таких препаратів, що призводить до невдачі лікування.

Основною метою огляду є узагальнення новітнього світового досвіду синтезу, дослідження та застосування композитів на основі біоактивних керамічних матеріалів та сучасних протипухлинних препаратів, як перспективних імплантатів, що уособлюють нове покоління комплексних лікарських засобів спрямованої доставки з остеокондуктивними та протипухлинними властивостями, пролонгованою дією, для локального використання.

Наведено приклади застосування біоскла з цитотоксичними / цитостатичними компонентами та результати розробки новітніх напрямків протипухлинної терапії кісток, в яких не спостерігається набуття резистентності пухлинних клітин. Протипухлинні функції таких мультифункціональних зразків здійснюються, наприклад, методами хіміотерапії, фототермічної терапії, магнітної гіпертермії, а також фотодинамічної терапії. Наведені дані мають науковий, практичний та методичний інтерес.

Ключові слова: біокераміка, мультифункціональне біоскло, синтез, імплантати, остеокондуктивні властивості, засоби адресної доставки, протипухлинна терапія кісток

1. Вступ

Одним з перспективних методів лікування уламкових переломів та дефектів кісток в сучасній травматології і ортопедії є використання синтетичних кальцій-фосфатних біоматеріалів [1], таких як біоскло. Ним заповнюють кісткові дефекти, що дозволяє у відділеному періоді статистично значимо підвищити міцність хворої кістки до показників, кращих за показники інтактних зразків [2].

Сучасні технології заміщення при лікуванні кісткових дефектів дозволяють значно покращити й прискорити процес загоєння ушкоджень. Сьогодні в медичній практиці застосовують велику кількість матеріалів заміщення — від алокістки до різноманітних штучних матеріалів, таких як метал [3, 4], вуглець [5], полімери [6] тощо. Одним з перспективних матеріалів для заміщення кісткових дефектів є біоскло. Це біологічно активний матеріал, що складається зі склоподібної матриці й мікрочастин. Біоактивне скло є біосумісним і належить до класу кераміки, що здатна взаємодіяти з тканинами організму [2].

Біоскло в тілі людини виділяє іони та розсмоктується (резорбує), зростається з кістками і м'якими тканинами, стимулюючи утворення кісткового матеріалу. За допомогою певних змін у хімічному складі біоскло набуває пружних властивостей. Керуючи хімічним складом біоскла отримують нові його форми – більш м'які, на дотик схожі на гуму. Є сподівання, що таке біоскло допоможе в найскладнішій частині ортопедичної хірургії – відновленні хрящової тканини [7].

Відкриття біоскла (1969 р.) здійснено професором Ларрі Генчем з університету Флориди. Процес оптимізації його складу привів до створення композиції 45S5, яка містить 45% SiO_2 –24.5% Na_2O –24.5% CaO –6% P_2O_5 (% мас.) і характеризується значними кількостями Na_2O і CaO , а також відносно високим співвідношенням $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5$, що надає поверхні матеріалу високої реакційної здатності у фізіологічному оточенні [8]. Сьогодні зрозуміло, що вибір складу скла для конкретного застосування повинен ґрунтуватися на твердому розумінні впливу всіх основних компонентів на найбільш важливі його властивості [9]. Так, як показали дослідження з використанням різних клітинних ліній [10], додавання Sr до нановолокон біоактивного скла значною мірою посилювало остеогенез (процес формування кісткової тканини) у результаті вивільнення іонів Sr^{2+} і пригнічувало активність остеокластів (клітин, що здійснюють резорбцію кісткової тканини у процесі її безперервного оновлення), у той час як додання Cu (вивільнення іонів Cu^{2+}) сприяло ангиогенезу (процес утворення нових кровоносних судин в органі або тканині). Іони кобальту додавали до біоактивного скла для посилення васкуляризації (формування нових кровоносних судин, зазвичай капілярів, всередині тканини) [11, 12], а іони срібла – для посилення антимікробних властивостей біоскла [13].

Для виготовлення біоскла і його композитів набули широкого розповсюдження технологічні методи з використанням золь-гель синтезу [8], синтезу у полум'ї, швидкого охолодження розплаву, мікрохвильового опромінення [9] та ін.

У наш час пухлинні захворювання кісток є однією з основних проблем у клінічній практиці. Після хірургічного втручання залишається деяка частина пухлинних клітин, здатних до проліферації, що призводить до рецидиву пухлини. Хірургічне видалення пухлин кістки створює дефекти кісткової тканини. Тому виготовлення специфічних біоматеріалів з подвійною функцією лікування пухлин кістки і регенерації кісткових дефектів має важливе значення [14].

Для лікування дефектів кісток в сучасній тканинній інженерії використовують пористі біосумісні матеріали з відповідними розмірами пор [15]. На цей час біокерамічні зразки на основі гідроксиапатиту [16], фосфату кальцію [17], а також біоактивне скло [18] і біокераміка на основі силікатів [19], набули широкого застосування у клінічній практиці завдяки здатності до регенерації кісток. Однак, як свідчать літературні дані,

проблема поєднання успішної регенерації кістки з контролем залишкових пухлинних клітин після операційного втручання, набуває все більшої актуальності. Сьогодні значні зусилля дослідників спрямовуються на розробку і виготовлення біокерамічних зразків, що мають здатність до знищення пухлинних клітин і одночасно сприяють регенерації кістки. Протипухлинні функції таких мультифункціональних зразків можуть здійснюватися, наприклад, шляхом хіміотерапії, фототермічної терапії, магнітної гіпертермії [20], а також фотодинамічної терапії [21]. Особливо активного і цілеспрямованого розвитку зазначені напрямки набули в минулі 20 років.

Тому актуальним завданням сьогодення постає узагальнення новітнього світового досвіду синтезу, дослідження та застосування композитів на основі біоактивних керамічних матеріалів та сучасних протипухлинних препаратів, як перспективних імплантатів, що уособлюють нове покоління комплексних лікарських засобів спрямованої доставки з остеокондуктивними та протипухлинними властивостями, пролонгованою дією, для локального використання. Вирішення вказаного завдання взято за мету цього огляду.

2. Хіміотерапія

Як відомо, хіміотерапевтичні протипухлинні лікарські засоби в живому організмі викликають порушення обміну нуклеїнових кислот, перешкоджають процесам біосинтезу і функції ДНК, пригнічують кровотворення, травлення, є кардіо-, нейро- і нефротоксичними. Тому систематичне введення хіміотерапевтичних препаратів при лікуванні онкологічних захворювань виявляє руйнівний вплив на весь організм пацієнта, це стосується і лікування раку кісток [22].

З іншого боку, застосування методів адресної доставки та локального контрольованого вивільнення препарату може сприяти створенню бажаної терапевтичної концентрації ліків у вогнищі захворювання та підвищувати їх біодоступність [23, 24]. Кількість завантажених препаратів і швидкість їх вивільнення з носія залежать від дизайну зразка. В останні роки були розроблені перспективні неорганічні зразки, здатні до ефективного контрольованого вивільнення, в яких цисплатин (ЦП), доксорубіцин (ДР) та гемцитабін (ГЦ) використовувалися в якості модельних хіміотерапевтичних препаратів. Однак, слід зазначити, хоча вказані підходи виявилися перспективними і показали потенційну можливість знищення залишкових пухлинних клітин, за певних умов вони можуть набувати резистентності до таких препаратів, що в результаті призводить до невдачі всього процесу лікування [25, 26]. Тому в цьому розділі роботи основну увагу зосереджено на прикладах застосування біоскла з альтернативними цитотоксичними/цитостатичними компонентами, при використанні яких не спостерігається набуття резистентності пухлинних клітин.

2.1. Використання сполук галію, механізм їх протипухлинної дії та ефективність

Дослідження потенційної протипухлинної активності галію були стимульовані відкриттям, що ^{67}Ga , після ін'єкції гризунам з імплантованими пухлинами, локалізується у високій концентрації в цих пухлинах. Це відкриття привело до розробки методу детекції пухлин у пацієнтів шляхом сканування ^{67}Ga і дослідження потенційної антинеопластичної активності стабільних солей галію. У Національному інституті раку (США) вивчали активність солей галію, талію, індію і алюмінію на гризунах з пухлинами. З цих сполук, нітрат галію виявив найбільшу протипухлинну активність *in vivo*. Проведено також клінічні випробування фази I і II його токсичності і антинеопластичної активності у людей. Встановлено, що нітрат галію має істотну антинеопластичну активність при деяких злоякісних новоутвореннях [27].

Галій є найбільш широко вживаним іоном металу, що застосовується для лікування раку (за винятком платини) [28]. Відомо, що іони галію ефективні проти раку навіть у простих формах, таких як нітрати чи хлориди, тоді як платина є найбільш ефективною в комплексах, таких як *цис*-діамінодихлорплатина (цисплатин), які не зберігаються при високих температурах у процесі отримання скла. Проте біодоступність галію є низькою при оральному введенні у вигляді солі. Рекомендований спосіб введення нітрату галію – безперервне внутрішньовенне вливання протягом 5-7 днів [29, 30]. Галій має здатність локалізуватися в пухлинних клітинах шляхом зв'язування з рецептором трансферину (TfR) у вигляді комплексів Tf-галій (Tf – трансферин, білок-переносник заліза) [31, 32].

Результати імуногістохімічного аналізу з використанням антитіл до рецептора трансферину 1 (TfR1) показали, що експресія TfR1 у тканинах пацієнтів була низькою в 20,8%, помірною в 35,8% і високою в 43,4% випадків остеосаркоми [33]. При дослідженні 15 остеобластичних остеосарком собак методом імуногістохімічного фарбування для підрахунку TFR-1-позитивних клітин (рецептор трансферину-1) було встановлено, що 85-95 % неопластичних клітин виявляють сильний сигнал мічення анти-TFR-1 антитілом у всіх досліджених остеосаркомах [34]. У роботі [32] було встановлено, що клітини лімфоми DoHH2, на поверхні яких виявляли втричі меншу кількість рецепторів TfR, ніж на поверхні клітин лімфоми CCRF-CEM, були в 3-4 рази більш чутливими до нітрату галію, внаслідок більш ефективного зв'язування Tf- TfR і кращого поглинання заліза і галію. Це може означати, що клітини DoHH2 потребують більшої кількості заліза для підтримки життєздатності і проліферації, ніж клітини CCRF-CEM. Ці дослідження свідчать, що на початковій стадії антинеопластичної дії галію (поглинання галію) в деяких клітинах інтенсивність функціонування TfR є більш важливим фактором, ніж кількість TfR.

Повідомлялося, що галій підвищує проникність клітинної мембрани, що призводить до дестабілізації електричних зарядів на поверхні клітини і викликає підвищений витік кальцію з мітохондрій [29]. Також у роботі [32] було показано, що нітрат галію викликає апоптоз у клітинах лімфоми через мітохондріальний шлях за участю проапоптотичного білку Bax. Крім того, комплекси Tf-галій порушують поглинання клітинами комплексів Tf-залізо і зменшують внутрішньоклітинне надходження заліза з ендосомів до клітинних компартментів. У результаті індукована галієм втрата заліза поєднується з безпосереднім впливом внутрішньоклітинного галію на залізо-залежну субодиницю R2 рибонуклеотидредуктази, що призводить до зменшення синтезу дезоксирибонуклеотидів і блокування синтезу ДНК [32].

Солі галію виявляли не лише протипухлинну активність, але й викликали інші ефекти впливу на кістки, наприклад, змінювали кальцієвий баланс [29, 30], що потрібно враховувати при лікуванні пацієнтів з кістковими метастазами. Також було показано, що тривалий період введення галію може викликати фіброз пухлини. Крім того, галій виявляє синергізм дії з іншими протипухлинними препаратами. Хоча Ga є не настільки сильнодійним, як платина, його протипухлинна активність цілеспрямовано вивчається, а нові сполуки проходили клінічні випробування [28].

Дослідження щодо доклінічної токсикології і тканинного розподілу при оральному введенні *Трис*(8-квінолінолато)галію(III) (КР46) мишам показали, що LD₅₀ (доза, яка потрібна для того, щоб викликати загибель половини членів піддослідної популяції за певний час) становила 2870 мг/кг (410 мг Ga³⁺/кг) і 2370 мг/кг (339 мг Ga³⁺/кг) для самців і самиць, відповідно, а доза 62,5 мг/кг/день протягом 14 днів була толерантною, і найбільше накопичення галію спостерігалось в кістках, а також печінці, селезінці і нирках. Додаткові дослідження, проведені на моделях тварин з пухлинами, підтвердили, що КР46 призводить до зменшення маси пухлини *in vivo*, а також зниження рівня кальцію в

сироватці. Останній факт вказує на те, що крім антинеопластичної активності, КР46 (як і нітрат галію) може також застосовуватися при лікуванні гіперкальціємії [27].

2.2. Галій у складі біоскла

Автори [35, 36] вносили оксид галію до складу біоактивного скла для антимікробного застосування.

У дослідженні [29] з'ясували потенційну можливість застосування галію, внесеного до складу біоактивного скла, при лікуванні раку кісток. Біоскло 45S5 (склад $(\text{SiO}_2)_{46,1}(\text{CaO})_{26,9}(\text{Na}_2\text{O})_{24,4}(\text{P}_2\text{O}_5)_{2,6}$) і зразки з додаванням галію отримували методом швидкого охолодження розплаву з використанням SiO_2 , CaCO_3 , Na_2CO_3 , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ і Ga_2O_3 [37]. Вихідні матеріали (зважували у відповідному молярному співвідношенні для отримання $(\text{Ga}_2\text{O}_3)_x(\text{SiO}_2)_{46,1-3x}(\text{CaO})_{26,9}(\text{Na}_2\text{O})_{24,4}(\text{P}_2\text{O}_5)_{2,6}$, де $x=1, 2$ і 3% . Склад ретельно витримували для забезпечення оптимальної біоактивності. Вихідні матеріали старанно перемішували і вносили в 90% платино- 10% родієвий тигель. Тигель поміщували в піч при кімнатній температурі, нагрівали зі швидкістю $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{хв}$ до $1450\text{ }^\circ\text{C}$ і витримували при цій температурі 90 хв. Потім розплав виливали у графітову форму, попередньо нагріту до $370\text{ }^\circ\text{C}$, для утворення скляних стрижнів. Стрижні відпалювали при цій температурі протягом ночі, повільно охолоджували до кімнатної температури. Скляні стрижні нарізали у вигляді дисків діаметром 10 мм і товщиною 2 мм та шліфували. Скло в дисперсному стані отримували з використанням планетарного кульового млина (PM100, Retsch), диспергований матеріал просіювали для забезпечення розподілу розмірів частинок від 40 до 60 мкм.

Наважки 25 мг кожного з трьох порошків (40-60 мкм) біоскла, що містили галій (1, 2 і 3 % Ga_2O_3), а також контрольний зразок біоскла 45S5, поміщували в окремі пластикові контейнери і додавали 37,5 мл модельної біологічної рідини (SBF), що відповідає за сольовим складом плазмі крові людини [38]. Зразки запечатували і витримували при $37\text{ }^\circ\text{C}$ 7 днів. Після цього зразки ополіскували дистильованою водою і ацетоном для видалення залишкових солей і зупинки реакцій, висушували при $60\text{ }^\circ\text{C}$ і оцінювали утворення апатиту на поверхні скла. Після поміщення зразків у сольовий розчин SBF при $37\text{ }^\circ\text{C}$ на 7 днів, на поверхні біоскла утворювався видимий шар аморфного фосфату кальцію/apatиту. Методом рентгенівської дифракції було підтверджено, що поверхневий шар є аморфним фосфатом кальцію. Зниження утворення апатиту для галійвмісних зразків скла, порівняно зі зразками порівняння 45S5 не спостерігалось [29].

Відомо, що відхилення від нейтрального рН має згубний вплив на життєздатність/проліферацію клітин. Дослідження показали, що *in vitro* біоскло може мати антимікробні і цитотоксичні властивості внаслідок значного зростання рН при виході зі скла іонів натрію і кальцію у малому об'ємі, а *in vivo* біоскло не має таких властивостей у зв'язку з буферними умовами в живому організмі.

Для дослідження впливу зразків біоскла на життєздатність клітин остеосаркоми людини (Saos-2) і первинних нормальних остеобластів (клітин кісткової тканини, що беруть участь у створенні і мінералізації кісток) людини (NH₄Ost) готували стандартні середовища [29], що містили біоскло в концентрації 10 мг/мл. Вимірювання рН протягом інкубації стандартного середовища, що містило 10 мг/мл біоскла 45S5, при $37\text{ }^\circ\text{C}$ у зволоженої атмосфері з 5% CO_2 72 год для підтримки рН, показали, що наявність біоскла призводить до значної зміни показника рН середовища, який на момент часу 0 становив 10,3; через 1 год – 9,4; 2 год – 8,65, 8 год – 7,85. Подібна тенденція спостерігалася й при інкубації стандартних середовищ, що містили 10 мг/мл біоскла з додаванням оксиду галію (1, 2 і 3 %): на момент часу 0 – Ga 1%, рН 9,45; Ga 2%, рН 9,26; Ga 3%, рН 9,37. Через 24 год інкубації, рН галійвмісних стандартних середовищ знижувався до фізіологічно прийнятних рівнів: Ga 1%, рН 7,77; Ga 2%, рН 7,81; Ga 3%, рН 7,87. Понад 24 год

інкубації спостерігалися незначні зміни рН. Тому для дослідження життєздатності клітин середовище витримували 24 год, потім поміщували в інкубатор на 24 год для нейтралізації перед використанням. Нейтралізація рН таким шляхом дозволяє уникнути потенційного цитотоксичного впливу біоскла *in vitro*, обумовленого його розчиненням в малому об'ємі з утворенням летального рівня рН.

Цитотоксичність стандартного середовища, що містило 10 мг/мл біоскла з 1, 2 чи 3 % оксиду галію, по відношенню до клітин остеосаркоми Saos-2 і остеобластів NH0st, досліджували з використанням 3-(4,5-диметилтіазол-2-іл)-2,5-дифенілтетразолію броміду (МТТ), який відновлюється метаболічно активними клітинами до формазану [29]. Значного зниження життєздатності клітин Saos-2 в середовищі зі склом 45S5 без додавання галію, у порівнянні з контролем (середовище без біоскла) не спостерігалось. Проте значне зменшення життєздатності клітин Saos-2 спостерігалось зі збільшенням вмісту оксиду галію (рис. 1). Через 72 год культивування в середовищі з біосклом, що містило 3 % Ga₂O₃, життєздатність клітин Saos-2 становила менше 50 %. На противагу, стандартні середовища зі зразками скла не виявляли цитотоксичного впливу на клітини остеобластів (непухлинні клітини) (рис. 2). Для порівняння у кожному експерименті використовували етопозид – відомий індуктор загибелі клітин.

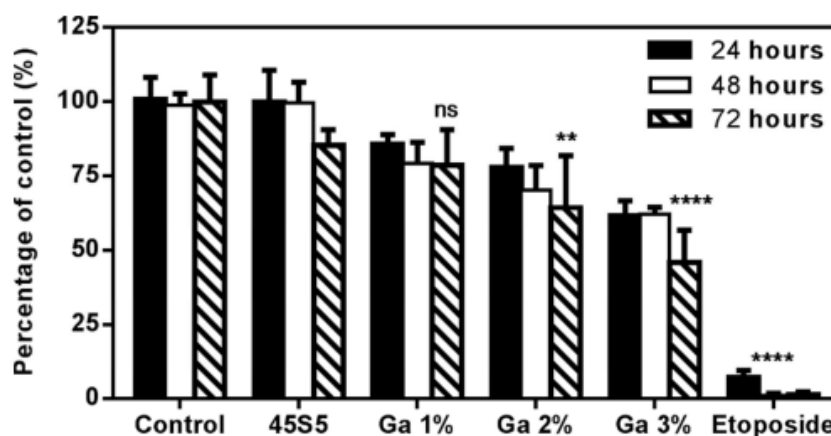


Рис. 1. Життєздатність клітин остеосаркоми людини (Saos-2) після обробки стандартним середовищем з нейтралізованим рН і вмістом біоскла 10 мг/мл протягом 24, 48 і 72 год [29]

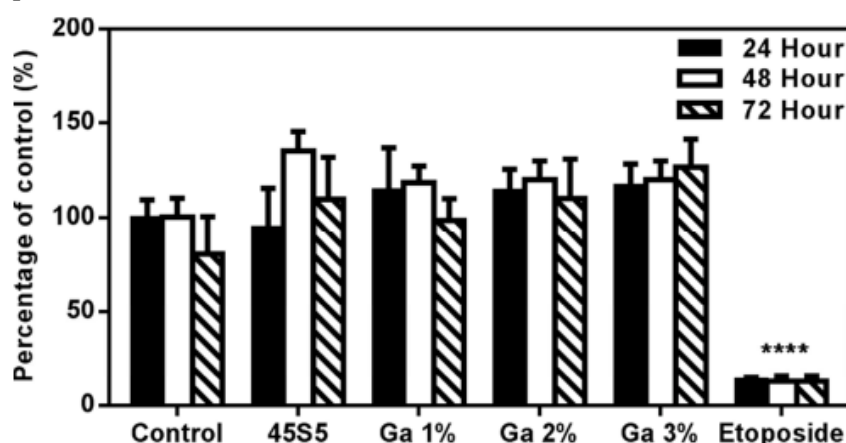


Рис. 2. Життєздатність клітин-остеобластів людини NH0st після обробки стандартним середовищем з вмістом біоскла 10 мг/мл протягом 24, 48 і 72 год [29]

Таким чином, зразки біоактивного скла, що містять галій, можуть застосовуватися для селективного ураження клітинних ліній раку кістки, зі зниженням життєздатності пухлинних клітин більш ніж на 50 %, при збереженні клітинної життєздатності і

проліферації нормальних остеобластів людини. Як відомо, іони галію локалізуються в пухлинних клітинах через рецептори трансферину. На думку авторів [29], пухлинні клітини мають значно більшу кількість рецепторів трансферину, порівняно з непухлинними типами клітин.

Крім того, зміни рН, обумовлені розчиненням біоактивного скла, потенційно можуть бути сприятливими *in vivo*. Наприклад, пухлинні ділянки остеосаркоми людини можуть мати підвищену кислотність, і витік іонів натрію і кальцію з біоактивного скла призводить до підвищення рН і зниження кислотності. Це може бути сприятливим із двох причин: по-перше, ацидоз позаклітинної рідини всередині кісткового мозку може пригнічувати проліферацію остеобластів, і по-друге, підвищення рН може запобігати утворенню метастазів [29].

2.3. Використання нанодисперсного біоскла для доставки 5-фторурацилу

Наночастинки біоактивного скла на основі $70\text{SiO}_2\text{-}26\text{CaO-}4\text{P}_2\text{O}_5$ (% мас.) синтезували модифікованим золь-гель методом [39]. Ультраристий тетраетилортосилікат (ТЕОС) додавали краплями до суміші дистильованої води, етанолу і 2 М азотної кислоти, після чого перемішували протягом 1 год для досягнення повного кислотного гідролізу ТЕОС. Потім триетилфосфат (ТЕР) і $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ додавали при перемішуванні протягом 1 год після внесення кожної речовини. Отриманий розчин поміщували в ультразвукову ванну (50–60 кГц, 100/200 Вт). Тим часом розчин амонію (2 М) додавали краплями до суміші при неперервному механічному перемішуванні для запобігання утворення об'ємного гелю. Розчин повністю перетворювався на білий гель через декілька хвилин. Приготований гель висушували при $75\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 2 днів у сушильній печі, потім зі нагрівали зі швидкістю $3\text{ }^\circ\text{C/хв}$ до $700\text{ }^\circ\text{C}$, здійснювали теплову обробку 3 год для отримання скла [39].

Були виготовлені наночастинки біоактивного скла з високими пористістю (85,59%) і питомою площею поверхні ($378,36\text{ м}^2/\text{г}$) для застосування в якості носія лікарських препаратів [39]. 0,3 г порошку скла витримували протягом 2 днів у 10 мл розчину 5-фторурацилу (5-Fu, 250 мл/л). Частинок скла навантажувалися 5-Fu, як показано на схемі (рис. 3).

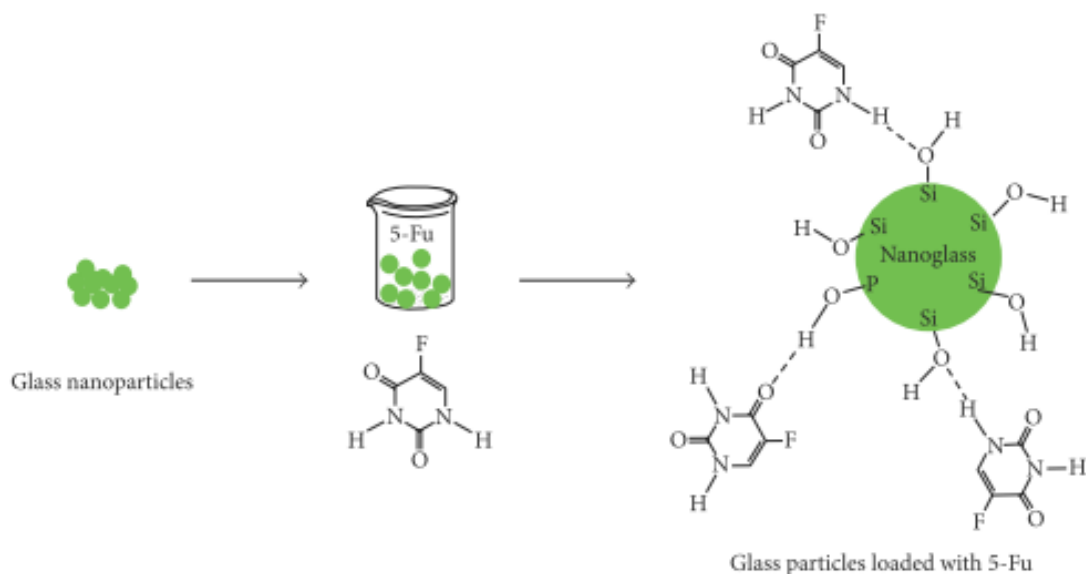


Рис. 3. Схема завантаження наночастинки біоскла як носія для доставки 5-фторурацилу [39]

Наночастинки скла відокремлювали від розчину центрифугуванням. Кількість поглинутого препарату розраховували за різницею його концентрацій у розчині до і після витримки. Концентрацію 5-Fu визначали за допомогою спектрофотометра при $\lambda = 266$ нм.

На рис. 4, а показано залежність сукупної концентрації 5-Fu, вивільненого зі зразка, від часу витримки скла в розчині при завантаженні; на рис. 4, б – як функція часу вивільнення.

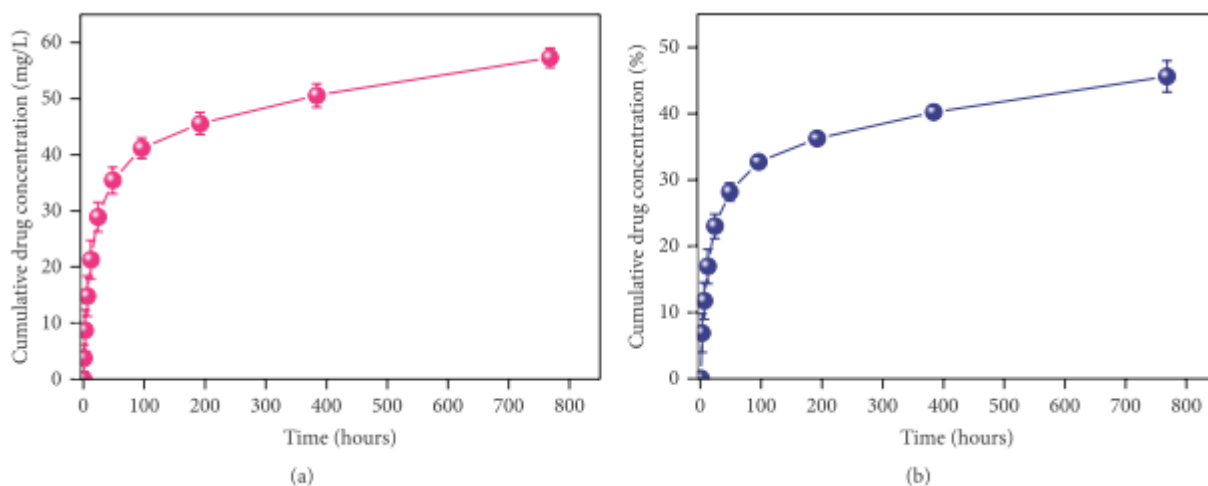


Рис. 4. Сукупна концентрація 5-фторурацилу, вивільненого зі зразка, як функція часу завантаження (а) і часу вивільнення (б) [39]

З обох рисунків видно, що крива вивільнення 5-Fu має дві ділянки: ділянку початкового швидкого вивільнення і ділянку більш повільного вивільнення. Перехід до другої стадії вивільнення відбувався через 24 год і тривав до кінця цього процесу (32 дні). Початковий стрімкий вихід препарату може бути обумовлений молекулами, прикріпленими до поверхні наночастинок скла. З іншого боку, наступне більш повільне вивільнення відбувалося за рахунок повільної дифузії молекул препарату, розташованих всередині пористої структури наночастинок скла. Більш повільний вихід препарату тривав до кінця періоду вивільнення (до 32 днів). У перші дні вивільнялося близько 23% загальної кількості завантаженого 5-Fu (28,92 мг/л); кінцевий кумулятивний вміст 5-Fu, вивільненого протягом 32 днів, становив близько 45,6% загальної кількості завантаженого 5-Fu (57,31 мг/л). Це вказує на те, що наприкінці експерименту з вивільнення препарату (32 дні), наночастинки скла мали 54,4% від загальної кількості завантаженого 5-Fu (68,44 мг/л) і тому були здатними забезпечувати ефект пролонгованої дії препарату більше 32 днів.

Експеримент з вивільнення препарату *in vitro* вказує на те, що наночастинки скла можуть слугувати в якості системи доставки для тривалого лікування 5-Fu. Ці наночастинки можуть застосовуватися для локального лікування раку. Початкове стрімке вивільнення 5-Fu у прооперованій ділянці може знищувати пухлинні клітини, що залишилися після хірургічного втручання. З іншого боку, тривале пролонговане вивільнення препарату може ефективно вирішити проблему рецидиву після резекції.

Застосуванням математичних моделей встановлено, що вивільнення 5-Fu відбувалося за дифузійним механізмом, крива вивільнення виявляла залежність від розчинення частинок скла, зміни їх площі поверхні і діаметра, а також концентрації завантаженого препарату.

Після занурення дисків скла в модельну біологічну рідину (SBF) на 1, 3 і 7 днів, спостерігали зародження (нуклеацію) і ріст сферичних частинок над поверхнею скляних

дисків. Розмір і кількість частинок зростали зі збільшенням часу занурення в SBF. Дослідження методом EDX показали, що ці сферичні частинки являли собою карбонізований гідроксиапатит зі співвідношенням атомів Ca/P 1,68. Крім того, рентгенівським аналізом тонких плівок було підтверджено, що поверхня скляних дисків покривалася шаром апатиту після одного тижня занурення в SBF. Реакційний механізм утворення апатиту на поверхні скла може включати наступні стадії: 1) швидкий обмін іонів-модифікаторів сітки у склі з H^+ чи H_3O^+ у розчині; 2) перехід розчинного кремнезему у вигляді $Si(OH)_4$ в розчин і утворення груп Si–OH на міжфазній поверхні скло/розчин; 3) конденсація і реполімеризація поверхневих силанольних груп і утворення шару, збагаченого SiO_2 , на поверхні скла; 4) міграція з розчину іонів Ca^{2+} і PO_4^{3-} до поверхні скла через шар, збагачений SiO_2 , призводить до утворення і росту аморфної плівки, збагаченої CaO– P_2O_5 ; 5) кристалізація цієї аморфної плівки шляхом приєднання аніонів OH^- і CO_3^{2-} з розчину веде до утворення карбонізованого гідроксиапатиту [39].

2.4. Цитотоксичні властивості та біологічна безпека протипухлинних магнітних рідин на основі магнетиту та цисплатину

В Інституті хімії поверхні НАН України синтезовано магніточутливі наноструктури на основі магнетиту та цисплатину [40-44], які у складі магнітних рідин (МР) [45] використані, зокрема, при створенні нового вітчизняного онкологічного лікарського засобу «Фероплат» [46-49], вперше експериментально обґрунтованого в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України. Сьогодні «Фероплат» пройшов доклінічні випробування, отримав необхідну документацію та рекомендації щодо клінічних випробувань і перебуває на стадії впровадження у виробництво. Ідея фероплату полягає в стратегії подолання резистентності злоякісних пухлин до цисплатину шляхом фармакологічної корекції обміну ендогенного заліза, що забезпечується застосуванням залізовмісного наноконкомпозиту та цисплатину.

«Фероплат» являє собою кон'югат наночастинок МР з цисплатином. Він є стандартизованим засобом для підвищення ефективності хіміотерапії та подолання медикаментозної резистентності злоякісних новоутворень і призначений для доставки цитостатика безпосередньо до пухлинної тканини, що забезпечує максимальне надходження його у клітини і сприяє підвищенню терапевтичного ефекту. Його здатність до вибіркового накопичення в пухлині поліпшує протипухлинний ефект цисплатину за підвищення рівня біологічної безпеки. На відміну від відомих хіміопрепаратів, «Фероплат» активніший відносно пухлин, резистентних до цисплатину, і виявляє меншу токсичність щодо нормальних клітин. Не має аналогів у світі.

Біологічну безпеку МР у порівнянні з ЦП (контроль) оцінювали за загальними та біохімічними показниками крові щурів лінії Wistar після завершення курсу терапії. Встановлено, що цисплатин та феромагнітний наноконкомпозит призводять до підвищення рівня креатиніну у сироватці крові піддослідних тварин. За іншими біохімічними показниками сироватки крові ці агенти не відрізняються від даних контролю. За загальними показниками крові ці агенти також не відрізняються від контролю. Зазначимо, що у тварин обох груп (ті, яким вводили цисплатин, і ті, яким вводили МР) було виявлено подібні зміни у структурі печінки та нирок. Отже, показано, що використання МР за загальними і біохімічними показниками крові не створює більш токсичного впливу на організм, в порівнянні з офіційним протипухлинним препаратом цисплатин.

На цей час провадяться цілеспрямовані дослідження з метою інтеграції фероплату з біоактивним склом [50].

Актуальним і перспективним з наукової і прикладної точок зору є поєднання властивостей лектинів і магніточутливих залізовмісних наноконкомпозитів для застосування

в онкології. Метою досліджень роботи [51] є синтез та дослідження нових залізовмісних НК та магнітних рідин, що містять біоактивний бактеріальний лектин, перспективних для використання як нових ефективних протипухлинних векторних систем для адресної доставки лікарських засобів та комплексної локальної терапії онкологічних захворювань з мінімізованими проявами побічного впливу на організм та покращеною сумісністю з іншими лікарськими засобами.

3. Фототермічна терапія

Фототермічна терапія (ФТТ) – сучасний перспективний метод лікування захворювань, зокрема, пухлинних, який ґрунтується на перетворенні енергії електромагнітного випромінювання в теплову та дозволяє уникнути хірургічного втручання. В минуле десятиліття особливо активно вивчали можливість усунення уражених метастазами лімфовузлів. Як відомо, виділення тепла при поглинанні світла руйнує хворі клітини. Щоб не пошкодити здорові клітини, використовують електромагнітне випромінювання в ближньому ІЧ-діапазоні (NIR), наприклад, лазерне випромінювання з довжиною хвилі 808 нм.

Для поглинання електромагнітної енергії в клінічній практиці застосовують фототермічні агенти – природні або штучні наноматеріали.

Найбільш відомими напівпровідниковими фототермічними агентами є CuS , WS_2 , Cu_{2-x}Se , Bi_2S_3 , Cu_3BiS_3 , P , TiO_2 тощо. У порівнянні з іншими неорганічними фототермічними агентами, такими як системи плазмонних нанокристалів металічних Au , Ag ; наносистемами на основі вуглецю (графені, вуглецеві нанотрубки), та органічними, такими як поліанілін, поліпірол, полідопамін; халькогеніди на основі міді в якості фототермічних агентів мають багато переваг, наприклад, низьку вартість, легкість виготовлення, можливість регулювання розміру і складу частинок, сильне поглинання в ближній інфрачервоній області, високу ефективність фототермічного перетворення, хорошу стабільність [14].

3.1. Біфункціональний композит біоскло/нанокристали CuFeSe_2

Дослідження [14] відкриває новий перспективний напрямок в області протипухлинної терапії кісток і тканинної інженерії (технології), що полягає у поєднанні трикомпонентного I-III-VI₂ халькогеніду з біоактивним склом/керамікою.

Порошки біоактивного скла складу $25\text{CaO}-70\text{SiO}_2-2,5\text{P}_2\text{O}_5$ синтезували за методом золь-гель. Тетраетилортосилікат ($(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4\text{Si}$, TEOS) гідролізували в деіонізованій воді, що містила 2M HNO_3 30 хв при постійному перемішуванні на магнітній мішалці. Після гідролізу, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і триетилфосфат ($(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO}$, TEP) додавали до розчину TEOS у молярному співвідношенні 14:5:1 (Si : Ca : P) для подальшої реакції. Через 5 год суміш переносили в піч на повітрі при $60\text{ }^\circ\text{C}$ і витримували 48 год для утворення вологого скляного золю. Потім цей золь висушували в печі на повітрі при $120\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 24 год. Висушений скляний золь перемелювали 5 год у планетарному кульовому млині високої енергії при швидкості 500 об/хв. Перемелений порошок прожарювали при $800\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 3 год в електропечі енергозберігаючого типу (SSJ-14, Китай), потім фільтрували крізь 400-отвірний відсівач для отримання кінцевих порошків біоскла (розмір менше 37 мкм).

Скло-керамічну масу для 3D-принтера отримували змішуванням 5 г порошку біоскла з 3,5 г водного розчину Pluronic F-127 (20 % мас.). Після перемішування отриману однорідну масу переносили в тюрбик і пропускали через голку принтера (за стандартом 22 G) за допомогою комп'ютерної дизайнерської моделі. 3D-принтерний апарат, використаний у роботі [14], був спроектований в Інституті дослідження матеріалів і променевої технології Фраунгофера (Дрезден, Німеччина). Роздруковані вологі зразки

біоактивного скла висушували при кімнатній температурі 24 год, потім прожарювали при 1300 °C у промисловій печі (LH 15/14, Німеччина) протягом 3 год.

Зразки біоскла, функціоналізовані CuFeSe_2 (BG-CFS) готували за сольвотермічним методом. Порошки CuCl (0,5 ммоль), FeCl_3 (1 ммоль) і Se (1 ммоль) переносили в 100 мл тригорлу круглодонну колбу, що містила 10 мл олеїламіну і зразки біоскла. За теоретичними розрахунками, концентрація CuFeSe_2 , утвореного в олеїламіні, становила 0,05 моль/л. Суміш нагрівали при неперервному перемішуванні на магнітній мішалці. Швидкість нагрівання становила близько 12 °C/хв. Коли температура реакційної системи досягала 240 °C, перемішування зупиняли і реакційну систему витримували 90 хв при 240 °C. Потім збирали темно-сірі зразки, обережно занурювали їх у спирт і деіонізовану воду для відмивання олеїламіну, висушували на повітрі в печі при 60 °C протягом 1 год. Потім ці зразки нагрівали 3 год при 400 °C у промисловій печі (RHTC 80-250/15, Німеччина) в атмосфері Ar для видалення залишків олеїламіну. Наприкінці отримували зразки біоактивного скла, функціоналізовані 0,05 моль/л CuFeSe_2 (BG-5CFS). Також отримували зразки біоскла, функціоналізовані 0,03 і 0,07 моль/л CuFeSe_2 (BG-3CFS і BG-7CFS), подібним чином за відповідних концентрацій CuCl , FeCl_3 і Se .

Отримували також контрольну групу зразків біоскла, оброблених гарячим олеїламіном без CuCl , FeCl_3 і Se при 240 °C за подібних умов приготування. Після відбору зразків BG-CFS з круглодонної колби, залишковий реакційний продукт у колбі центрифугували, висушували і збирали.

Нанокристали CuFeSe_2 мали здатність добре рости *in situ* на поверхні біоскла. Фототермічні властивості зразків BG-CFS залежали від вмісту CuFeSe_2 і потужності лазерного випромінювання (щоб не виникали опіки). Біоскло, функціоналізоване CuFeSe_2 , імплантували точно в пухлинні ділянки з високим фототермічним ефектом і знищенням пухлини кістки з меншими побічними явищами.

Для дослідження фототермічних властивостей зразків BG-CFS, їх поміщували у 24-лунковий планшет (а також зразки вихідного біоскла), потім додавали 2 мл натрій-фосфатного буферу (PBS) для отримання водно-сольового середовища, а зразки без розчину PBS перебували в сухому середовищі. Випромінювання лазера у ближній інфрачервоній області (діаметр пучка 12 мм) спрямовували на зразки (8 мм × 3 мм) у сухому середовищі протягом 5 хв, а водно-сольовому – 10 хв.

Зі збільшенням вмісту CuFeSe_2 температура зразків зростала за подібних умов, кінцеві температури перевищували 90 °C в сухому середовищі і 49 °C – у водно-сольовому при потужності лазера 0,45 Вт/см² (рис. 5, a-b). За густини потужності лазера в діапазоні 0,25-0,65 Вт/см² кінцева температура зразків BG-5CFS може регулюватися в діапазоні 80-143 °C в сухому середовищі і 33-72 °C – у водно-сольовому (рис. 5, c-d).

З рис. 5 f, h видно, що температура і площа нагрівання зразків BG-CFS може добре регулюватися вмістом CuFeSe_2 і густиною потужності лазера. Середня площа нагрівання зразків BG-5CFS понад 48 °C становила 98,61 мм² при випромінюванні лазера у ближній інфрачервоній області (808 нм) густиною 0,25 Вт/см², у той час як середня площа нагрівання досягала 169,29 мм² за густини потужності 0,75 Вт/см².

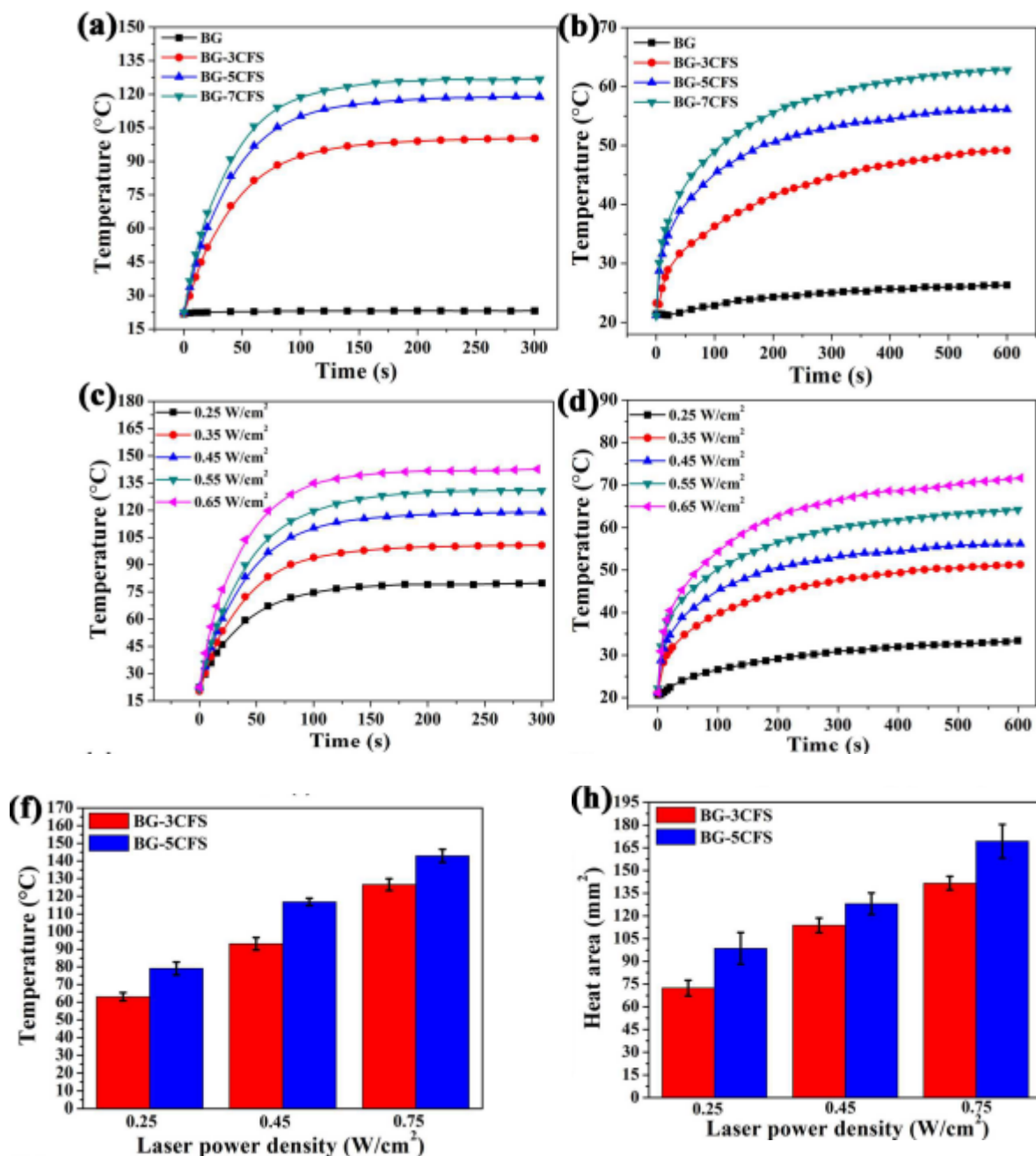


Рис. 5. Криві фототермічного нагрівання зразків BG-CFS з різним вмістом CuFeSe_2 у сухому (a) та водно-сольовому (b) середовищі при опромінюванні NIR лазером (808 нм) густиною потужності $0,45 \text{ Вт/см}^2$; криві фототермічного нагрівання зразків BG-5CFS у сухому (c) та водно-сольовому (d) середовищі за різної густини потужності лазера ($0,25$; $0,35$; $0,45$; $0,55$; $0,65 \text{ Вт/см}^2$); температура (e) зразків BG-3CFS і BG-5CFS у рівноважному стані при опроміненні лазера за різної густини потужності ($0,25$; $0,45$; $0,75 \text{ Вт/см}^2$, $n=3$); площа нагрівання (f) зразків BG-3CFS і BG-5CFS вище 48°C при опроміненні лазера за різної густини потужності ($0,25$; $0,45$; $0,75 \text{ Вт/см}^2$, $n=3$) [14]

За густини потужності $0,55 \text{ Вт/см}^2$ спостерігали, що температура зразків BG-5CFS у сухому середовищі зростала до 105°C за 1 хв, і до 131°C через 5 хв випромінювання. На противагу, температура зразків біоскла, нефункціоналізованих CuFeSe_2 , трималася на рівні кімнатної.

Прекрасні фототермічні властивості зразків BG-5CFS обумовлені інтенсивним поглинанням лазерного випромінювання у ближній інфрачервоній області нанокристаллами CuFeSe_2 , які перетворюють таке випромінювання у потужну теплову енергію з високою ефективністю фототермального перетворення – 82 %, оскільки CuFeSe_2 – непрямозонний напівпровідник із шириною забороненої зони 0,16 eV, стани в його забороненій зоні пов’язують з іоном Fe^{3+} [51-53]. Завдяки наявності нанокристалів CuFeSe_2 у зразках BG-5CFS, вони швидко нагрівалися, їх температура досягала 120 °C після 100 секунд впливу лазерного випромінювання у ближній інфрачервоній області. Температура зразків BG-CFS у водно-сольовому середовищі була нижчою, ніж сухих зразків, за подібних умов. Це пояснюється двома основними причинами: розчин PBS може поглинати частину теплової енергії, а також знижувати теплопровідність [54].

В умовах *in vitro* клітини остеосаркоми Saos-2 вирощували в лунках планшета протягом 24 год, потім у лунки обережно вносили зразки вихідного біоскла та BG-5CFS і піддавали впливу лазерного випромінювання густиною потужності 0,55 Вт/см². Життєздатність клітин Saos-2 зі зразками BG-5CFS після обробки лазером становила 26 %, у той час як життєздатність цих клітин у контрольних групах BG (зі зразками вихідного біоскла без обробки лазером, BG+лазер, BG-5CFS без обробки лазером) досягала майже 100 % (рис. 6, а). Дані рис. 6, b-d вказують, що більше клітин Saos-2 можна видалити при вдосконаленні кількості обробок лазером, їх тривалості і кінцевої температури.

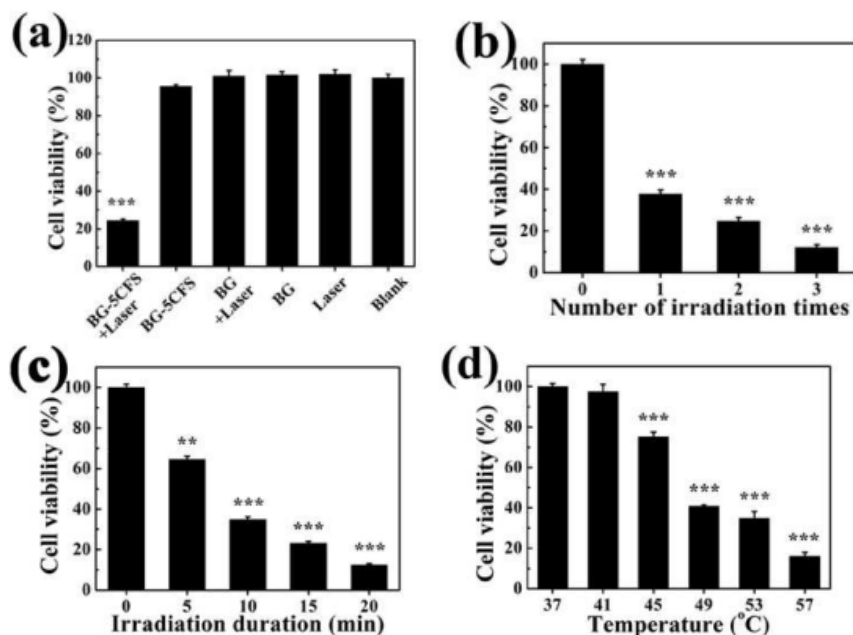


Рис. 6. Залежність життєздатності клітин остеосаркоми Saos-2 в присутності зразків BG-5CFS після обробки лазером та в контролі (а); залежність життєздатності від кількості обробок лазером (b), тривалості опромінення (c) та кінцевої температури (d) в умовах *in vitro* [14]

У досліджах *in vivo* пухлинні клітини Saos-2 ($\sim 5 \times 10^6$) вводили підшкірно на спину голим мишам (віком 4-6 тижнів). При досягненні діаметру пухлини близько 8 мм, робили надріз шкіри скраю пухлини, зразки вихідного біоскла чи BG-5CFS (5 мм × 2 мм × 1 мм) імплантували в центр пухлинної тканини. Через два дні здійснювали обробку лазером (0,55 Вт/см² протягом 10 хв), яку повторювали щодня протягом тижня. Температуру пухлинної тканини контролювали за допомогою камери FLIRTM A320 у режимі реального часу. Через 7 днів після закінчення обробки пухлинні тканини змочували 4 % розчином формаліну в нейтральному буфері, закріплювали в парафіні, отримували

ультратонкі зрізи, фарбували гематоксиліном-еозином і досліджували методом світлової мікроскопії (Leica, DM4000B). Результати свідчили, що більша кількість змін у клітинах спостерігалися в пухлинах у зразках групи BG-5CFS+лазер, у той час як в інших групах (BG, BG+лазер, BG-5CFS без обробки лазером) не виявляли чітких ознак апоптозу. Ступінь некрозу пухлинних клітин визначали за формулою: $TCNR = (1 - N/M) \times 100\%$, де N – кількість життєздатних пухлинних клітин зі зразками біоскла, імплантованими в область пухлини, і M – кількість життєздатних пухлинних клітин у зрізах нормальної пухлинної тканини без будь-якої обробки. Розрахунки показали, що ступінь некрозу пухлинних клітин у групі BG-5CFS досягав 96 %, у той час як для інших трьох груп цей показник перебував на низькому рівні – 2 % (рис. 7).

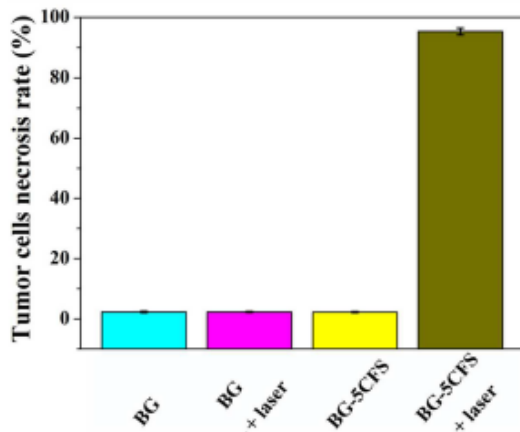


Рис. 7. Ступінь некрозу пухлинних клітин Saos-2 з імплантованими зразками біоскла у досліджах *in vivo* [14]

Результати мікроскопічних досліджень після фарбування гематоксиліном і еозином показали, що в групі BG-5CFS+лазер пухлина була майже видалена і навіть деякі локальні пухлинні тканини були обвуглені, у порівнянні з групою BG, вказуючи на те, що зразки BG-5CFS при застосуванні у якості фототермального препарату можуть бути здатними до видалення пухлини [14].

У [55, 56] показано, що біоскло $25CaO-70SiO_2-2,5P_2O_5$ має прекрасну остеогенну і ангіогенну здатність завдяки переходу в розчин іонів Ca, Si, P. Для дослідження впливу короткострокової фототермічної терапії на довготривалий процес регенерації кістки на моделі кролів, створювали два дефекти критичного розміру стегнової кістки, потім імплантували в зону дефекту зразки вихідного біоскла і BG-5CFS (7 мм × 8 мм), після чого імплантовані зразки піддавали впливу інфрачервоного лазера густиною потужності $0,55 \text{ Вт/см}^2$ протягом 10 хв, розрізи пошарово зашивали. Через 8 тижнів проводили гістологічний аналіз методом фарбування Ван Гісона, тканини досліджували під світловим мікроскопом (Leica, DM4000B), а також здійснювали комп'ютерну (обчислювальну) мікротомографію (Micro-CT). Результати Micro-CT аналізу показали, що як вихідне біоскло, так і BG-5CFS могли сприяти росту кісткової тканини від периферії до внутрішньої частини зразків, а заново сформовані кісткові тканини могли проникати у зв'язану макропористу структуру зразків. Кількісний аналіз методом Micro-CT показав, що співвідношення об'єму кістки до об'єму тканини становило 24,8 % для зразків вихідного біоскла і 23,2 % для зразків BG-5CFS на восьмий тиждень після імплантації. Методом фарбування Ван Гісона встановлено, що площа новоутвореної кісткової тканини становила 9,85 % для біоскла і 8,22 % для BG-5CFS.

Таким чином, зразки BG-5CFS мали кістко-формуючу здатність *in vivo*, подібну до зразків вихідного біоскла. Хоча після короткотривалого опромінення інфрачервоним випромінюванням могли гинути клітини оточуючих нормальних тканин, регенерація кістки є довготривалим процесом. Так, після опромінення інші кістко-формуючі клітини

можуть поступово мігрувати в зону дефектів кістки і прикріплюватися, проліферувати і диференціюватися на зразках BG-5CFS, забезпечуючи остеогенез *in vivo*. Включення нанокристалів CuFeSe_2 у зразки біоскла не впливало на його хорошу кістко-формуєчу здатність, а короткострокова фототермічна обробка не мала очевидних побічних ефектів на довготривалий процес регенерації кістки [14].

3.2. Біоактивне боросилікатне скло/нанолисти MoS_2

Зразки вихідного біоактивного боросилікатного скла отримували з використанням 3D принтерної технології [57]. Початкове біоскло готували у відповідності до методики [58]. Вихідні матеріали змішували і нагрівали при $1200\text{ }^\circ\text{C}$ 1 год до плавлення і утворення скла. Потім скло подрібнювали, перемелювали і просівали для отримання частинок з середнім розміром близько 30 мкм.

3D принтер Bioplotter™ четвертого покоління (EnvisionTEC GmbH, Німеччина) застосовували для формування зразків вихідного біоскла. До порошку біоскла додавали етилцелюлозу і етанол (3:0,12:2,5, % мас.) до утворення рідкої суміші. Отриману суміш переносили у шприц принтера. Потім роздруковували скомпоновані зразки та висушували на повітрі при кімнатній температурі 12 год. Після зразки поміщували в піч на 4 год для випалювання полімеру, витримували при $580\text{ }^\circ\text{C}$ 2 год для прожарювання вихідних зразків біоскла та ущільнення, потім охолоджували до кімнатної температури. Наприкінці, вирізали однакові циліндри (5 мм у діаметрі \times 5 мм довжини).

Для приготування MoS_2 0,1375 г $(\text{NH}_4)_2\text{MoS}_4$ змішували з 62,5 мл деіонізованої води протягом 20 хв до його повного розчинення. Після цього, додавали 0,625 мл $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ і проводили реакцію 30 хв. Нарешті, вміст виливали в політетрафторетиленовий гідротермічний автоклав-реактор і витримували при $200\text{ }^\circ\text{C}$ 12 год, потім охолоджували до кімнатної температури. Далі відмивали тричі деіонізованою водою з використанням центрифуги і висушували в печі при $60\text{ }^\circ\text{C}$ 8 год. Отримували нанолисти MoS_2 чорного кольору, які зберігали для використання.

Готували три різних концентрації (300, 500, 1000 мкг/мл) нанолистів MoS_2 у розчинах 10% мас./об. полі(лакто-*co*-гліколевої кислоти (PLGA), яка характеризується високою біосумісністю і здатністю до тривалої дії, що надає можливість інтеграції фототермічних матеріалів з матеріалами тканинної інженерії та забезпечує надання композитам протипухлинної функції. Розчин MoS_2 – PLGA отримували доданням PLGA до дихлорметану, потім піддавали магнітному перемішуванню до повного розчинення PLGA. Після цього, різні кількості MoS_2 додавали до розчинів PLGA і ретельно перемішували з використанням ультразвуку 15 хв. Отримані розчини MoS_2 – PLGA використовували для створення плівок MoS_2 – PLGA, якими покривали зразки 3D-роздрукованого біоскла.

Вихідні зразки 3D біоскла розділяли на чотири групи. Непокрите початкове біоскло відносили до контрольної групи. Зразки BGM0.3, BGM0.5 і BGM1 заливали приготованими розчинами MoS_2 –PLGA (300, 500 і 1000 мкг/мл, відповідно), центрифугували при швидкості 6000 об/хв, потім висушували при кімнатній температурі. Цю процедуру повторювали три рази, потім отримані зразки промивали водою і висушували 24 год при $60\text{ }^\circ\text{C}$, досягаючи нанесення плівки MoS_2 – PLGA на поверхню початкових зразків біоскла.

Дослідження фототермічного ефекту композитів проводили на моделі голих мишей (віком 4-6 тижнів), яким підшкірно вводили 0,1 мл суспензії пухлинних клітин остеосаркоми людини MNNG/HOS (на спину). Коли діаметр пухлин досягав 10 мм, чотири групи зразків імплантували в центр пухлинної тканини. Кожну мишу опромінювали лазером при довжині хвилі 808 нм і густині потужності 2 Вт/см^2 на відстані 15 см протягом 10 хв на день 1, 2, 4 і 8. Під час лазерного опромінювання

вимірювали зміну температури пухлини в режимі реального часу. Починаючи з дня 0 (перша лазерна обробка), розмір пухлинної тканини перевіряли кожних три дні. На 14 день пухлини зрізали і фарбували гематоксиліном-еозином для гістологічного дослідження.

Виявилось, що зразки BGM можуть ефективно знижувати життєздатність клітин остеосаркоми людини MNNG/HOS *in vitro* та пригнічувати ріст пухлини *in vivo* (рис. 8). У досліджах *in vivo* (рис. 8, B) показано, що об'єм пухлини в контрольній групі та групі BG швидко зростає протягом 14 днів, досягаючи розміру в 4 рази більше початкового, у той час як у групах BGM0.3, BGM0.5 і BGM1 значно знижувався, і пухлина майже зникла в групі BGM1, вказуючи на те, що здатність до знищення пухлини може регулюватися зміною вмісту MoS₂. Більше того, гістологічне дослідження також показало високу протипухлинну ефективність зразків BGM. Зі збільшенням вмісту MoS₂ значно зростає рівень апоптозу пухлинних клітин, у той час як загибель клітин була низькою в контрольній групі.

Встановлено також, що синтезовані зразки BGM можуть стимулювати проліферацію і диференціацію мезенхімальних стовбурових клітин кісток щурів, підвищувати експресію генів, пов'язаних з остеогенезом (Runx-2, OCN і Col-I), *in vitro*, та сприяти відновленню кісток щурів *in vivo* при дефектах критичного розміру [57].

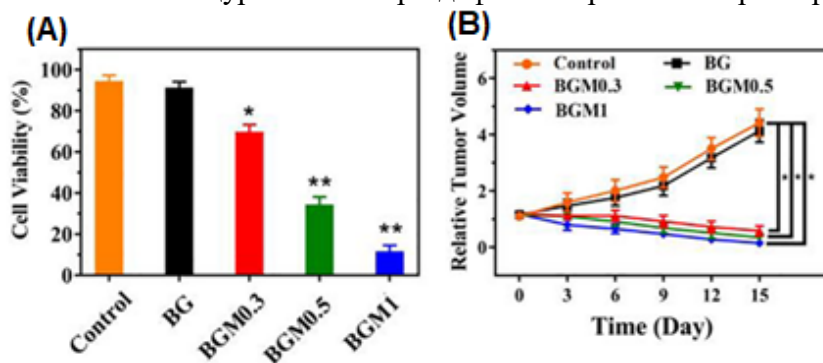


Рис. 8. Життєздатність клітин остеосаркоми людини MNNG/HOS *in vitro* (A) та відносний об'єм пухлини у досліджах *in vivo* (B) після імплантації зразків біоскла, що містять MoS₂, та в контролі, після лазерного опромінення [57]

3.3. Вісмут-вмісне скло

Всі зразки вісмут-вмісного скла в роботі [59] (рис. 9, a-f) були приготовані шляхом розплавлення і швидкого охолодження, умови плавлення адаптували до відповідних зразків. Наприклад, зразок G5AxВ містив $(95-x)\text{GeO}_2-5\text{Al}_2\text{O}_3-x\text{Bi}_2\text{O}_3$ ($x = 0.05, 0.5, 1.5, 2, 4, 6, 10$). Всі зразки скла не мали бульбашок повітря. Зразок без Ві виглядав безкольоровим. Загалом, колір зразка стає темнішим зі збільшенням вмісту Ві. Наприклад, германатне скло пурпурово-червоне при $x = 0,05$ і стає червонувато-коричневим і навіть темно-червонувато-коричневим при $x = 2$ і 10 , відповідно. Подібно до германатних зразків з додаванням Ві, Ві-вмісне силікатне скло виглядало червонувато-коричневим, у той час як Ві-вмісне фосфосилікатне – світло-коричневим. Зразки скла перемелювали і просівали крізь 400-*mesh* фільтр (розмір сторони отвору сітки 0,035 мм) для подальших біологічних експериментів.

Для фототермічної терапії, в якості джерела випромінювання, було вибрано лазер з довжиною хвилі 808 нм для запобігання поглинання випромінювання водою тканин і збільшення глибини проникнення у тканину. Фототермічний ефект Ві-вмісного германатного скла обумовлений наявністю смуг сильного поглинання у ближній інфрачервоній області спектру. При опроміненні зразків скла, фотоактивні центри, пов'язані з Ві, викликають переходи у вищі збуджені стани. Подальша релаксація може

відбуватися шляхом випромінювальних чи невипромінювальних процесів (рис. 9, b). Останні пов'язані з перенесенням енергії серед іонів Ві, мультифонною релаксацією, чи обома процесами, що призводить до генерації тепла. Таким чином, тепловий ефект може посилюватися за рахунок пригнічення фотолюмінесценції. При високих концентраціях Vi_2O_3 , центри Ві достатньо близько розташовані для перенесення енергії між іонами і, таким чином, гасіння люмінесценції.

Іншою стратегією для підвищення ефективності фототермічної терапії є деполімеризація сітки скла. Згідно до попередніх досліджень, фотолюмінесценція Ві сильно залежить від цілісності сітки скла, оскільки більш висока полімеризація може ефективно ізолювати Ві від оточуючих атомів, що призводить до посилення фотолюмінесценції. Ступінь полімеризації можна змінювати шляхом додання до складу скла таких компонентів як Na_2O , CaO чи Al_2O_3 . Дослідження ефективності фототермії здійснювали в контексті зв'язку між фотолюмінесценцією і фототермічним ефектом. Як показано на рис. 9, а, зразки скла без алюмінію, але з доданням натрію, виявляють більш сильний фототермічний ефект при такому ж освітленні, ніж зразки з алюмінієм і/чи кальцієм. Для дослідження цього явища автори [58] вимірювали спектри поглинання (рис. 9, d). Зразки S25CxAS, які не містять Na_2O , виявляють більш сильне поглинання при ~ 470 нм, і поглинання при 700 нм, що початково спостерігали в германатному склі, виникає тепер на краю піку поглинання ~ 470 нм. При доданні алюмінію, коефіцієнти поглинання знижуються, подібно до попереднього дослідження фотолюмінесценції в ближньому ІЧ-діапазоні. Це частково обумовлено окисненням Ві при підвищенні основності розплаву. Додання Al_2O_3 , як показують спектри ЯМР ^{27}Al у твердому стані, може підвищувати інтенсивність сіткового зв'язування і топологічно ізолювати атоми Ві один від одного [60]. Це підвищує імовірність радіаційних переходів і, в результаті, пригнічує ефективність фототермії. Таким чином, оксид алюмінію не рекомендується для отримання скла з кращим фототермічним ефектом. Для зразків скла, вільних від оксиду алюмінію, було виявлено, що коефіцієнт поглинання при 808 нм з ростом вмісту Na_2O підвищується від $2,09$ до $2,43 \text{ см}^{-1}$ [59], наприклад, для зразків S25C0A і S25N0A, відповідно. Це є причиною того, що зразки з натрієм мають кращі фототермічні властивості (рис. 9, а). З точки зору мікроструктури, введення натрію може ефективно деполімеризувати сітку скла шляхом утворення немісткового кисню. Це виразно полегшує здійснення фототермічних процесів і гасить фотолюмінесценцію, як показано на рис. 9, а-с.

Кальцій і фосфор використовували для заміни SiO_2 і, таким чином, зниження вмісту скло-формуєчих іонів. Таким чином, сітка скла може бути більш деполімеризована, і фототермічний ефект підсилений (рис. 9, b). Вміст фосфору і Ві злегка модулюється для досягнення найкращого співвідношення між фототермією і біоактивністю. Як показано на рис. 9, е, ефективність фототермічного нагрівання зростає зі збільшенням вмісту P_2O_5 , досягаючи температури рівноважного стану ~ 188 °C при густині потужності $1,5 \text{ Вт/см}^2$ для зразка з 10 % мол. P_2O_5 . Цей ефект може пояснюватися спектрами поглинання (рис. 9, f), де збільшення вмісту P_2O_5 призводить до сильного підвищення коефіцієнтів поглинання, і зразки буквально стають чорними. Це відбувається внаслідок зростання кислотності розплавів при додаванні фосфату, що обумовлює відновлення Ві до нижчого чи навіть металічного стану. Загалом, температура зразка швидко зростає зі збільшенням густини інтенсивності (рис. 9, е). Наприклад, температура зразка, що містить 10 % P_2O_5 , може досягати 388 °C на повітрі при потужності випромінювання $3,5 \text{ Вт/см}^2$. Такого значного підвищення температури не виявляється в комерційному біосклі 45S5 (блакитна крива на рис. 9, е).

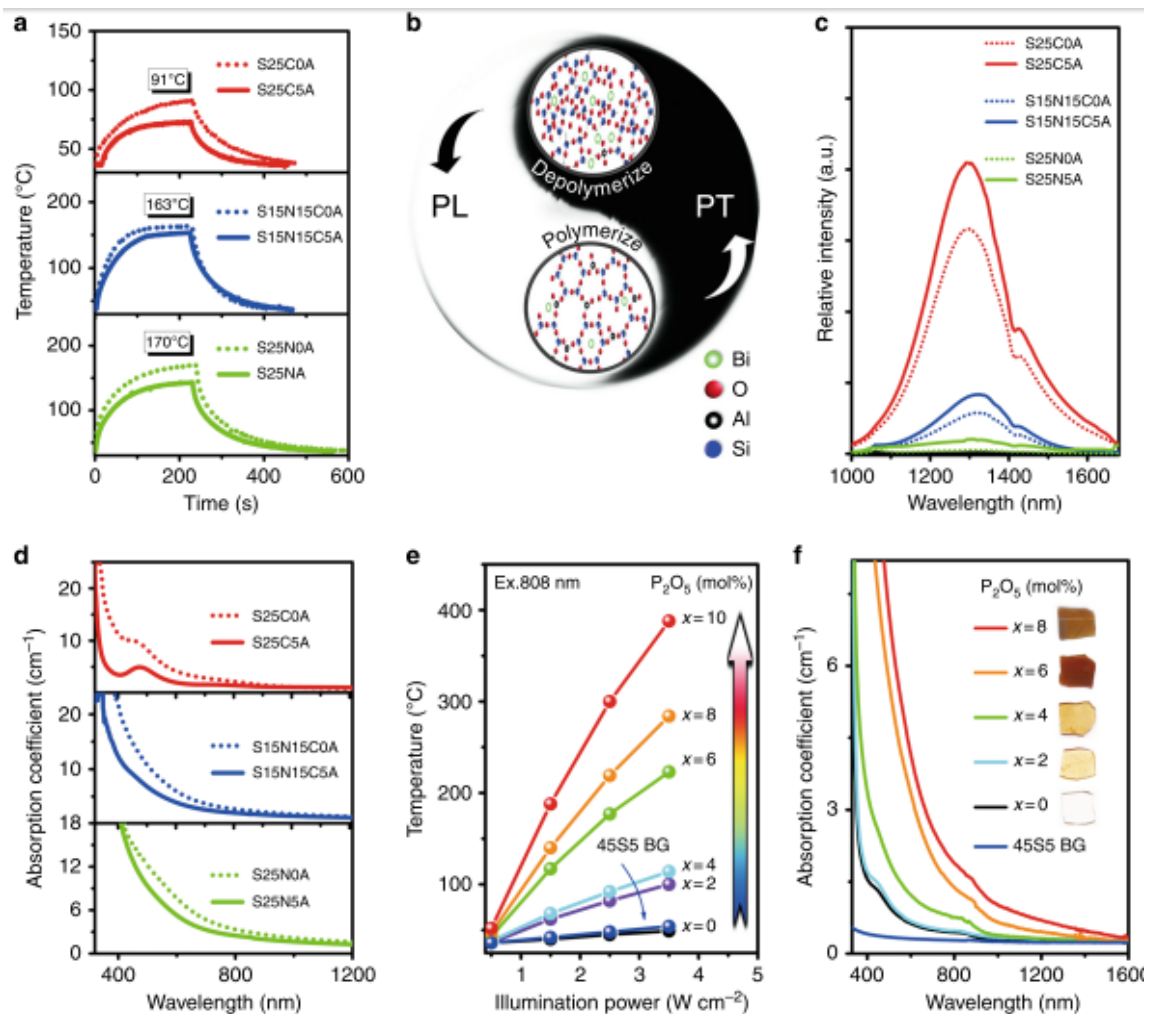


Рис. 9. Фототермічний ефект зразків силікатного скла та фосфосилікатного біоскла з доданням вісмуту [59]

Тісна залежність фототермічного ефекту від складу скла і густини інтенсивності падаючого випромінювання показує, що дуже зручно досягати відповідної температури шляхом простого регулювання цих параметрів. Це означає, що менша енергія потрібна для зразків скла, отриманих у роботі [59], для досягнення температури, достатньої для знищення клітин пухлини кістки, завдяки покращанню ефективності фототермії після дизайну скла.

Для дослідження можливого застосування отриманих зразків скла, проводили експерименти *in vivo*. Голим мишам на спину прищеплювали клітини UMR106 остеосаркоми щурів. Мишей ділили на групи, включаючи контроль, S6P0B+лазер, S6P2B і S6P2B+лазер. У групі «контроль» не використовували ні скла, ні лазерного випромінювання. Після того як остеосаркома досягала розмірів ~10 мм, зразки скла імплантували в область пухлини. Фарбування гематоксином і еозином показало, що імплантація Ві-вмісних зразків скла, як і зразків без Ві, протягом 15 днів не призводила до пошкодження чи запалення органів мишей, таких як серце, печінка, селезінка, легені чи нирки. Після опромінення пухлин лазером, температура в області пухлинної ділянки підвищувалася на 6 – 7 °C у групі S6P0B+лазер, у той час як у групі S6P2B+лазер швидко досягала ~55 °C. Опромінення лазером тривало лише 10 хв за густини потужності 1,5 Вт/см². Спостерігалися чіткі відмінності між різними групами мишей. На 15 день пухлини в групах «контроль», S6P0B+лазер і S6P2B ставали більшими (рис. 10), а пухлинні клітини були живими (на основі аналізу фарбування гематоксином-еозином). Проте

пухлини у групі S6P2B+лазер почали пропадати на перший день, і вони зникали на день 3. На день 15, всі пухлини були знищені, біоскло при цьому спостерігалось лише на початкових ділянках пухлини, нормальні м'язові тканини починали рости на поверхні скла, огортаючи її. Це свідчить про біосумісність такого скла *in vivo* і потенційну можливість його застосування для протипухлинної терапії [59].

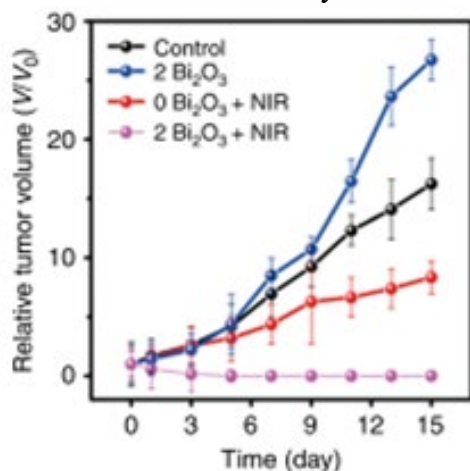


Рис. 10. Відносний об'єм пухлини (на прикладі клітин UMR106 остеосаркоми щурів, прищеплених мишам) після імплантації Ві-вмісних зразків скла та зразків без Ві, протягом 15 днів після лазерного (NIR) опромінення [59]

3.4. Композит трикальцію фосфат/ LaB₆/полі(D,L-лактид)

У [61] отримані зразки β-трикальцію фосфату, модифіковані мікро-наночастинками LaB₆/полі(D,L-лактид) (TCP-PDLLA-LB), призначені для фототермічної терапії кісткових пухлин (довжина хвилі випромінювання 808 нм). Комерційні порошки трикальцію фосфату (TCP) перемелювали у планетарному кульовому млині високої енергії при швидкості 500 об/хв 2 год, перемелений порошок пропускали крізь 300-*mesh* відсівач. 4 г відсіяного порошку TCP змішували з 4 мл розчину pluronic F-127 (20 % мас.) до отримання однорідної маси. Цю масу переносили в тубик з принтерною голкою (за стандартом 22 G) і роздруковували на 3D-пристрої (Дрезден, Німеччина) за умов 1-2 дозованих стрижнів, зі швидкістю 5 мм/с. Роздруковані зразки TCP зберігали 24 год при кімнатній температурі, потім прожарювали у промисловій печі Nabertherm (LH 15/14, Німеччина) при 1100 °C протягом 3 год.

10 г порошку LaB₆ (розмір частинок 50 мкм) перемелювали у планетарному кульовому млині високої енергії у 80 мл спирту 20 год, потім збирали за допомогою центрифуги і висушували в печі. 0,5 г PDLLA (полі(D,L-лактид), M_r = 60000) розчиняли в 10 мл дихлорметану в розрахунок для виготовлення трьох зразків, перемішували протягом 1 год, потім додавали 0,1 г, 0,3 г і 0,5 г перемелених мікро-наночастинок LaB₆, відповідно, у виготовлені розчини PDLLA, перемішували 2 год. Для повного диспергування мікро-наночастинок LaB₆ у системах трьох видів їх обробляли ультразвуком протягом 2 год. Потім зразки TCP занурювали у три види систем, відповідно, на 10 с в умовах перемішування, після чого виймали і висушували при кімнатній температурі. Зразки, приготовані в розчинах PDLLA, що містили 0,1 г, 0,3 г і 0,5 г мікро-наночастинок LaB₆, позначали, відповідно, як TCP-PDLLA-1LB, TCP-PDLLA-3LB і TCP-PDLLA-5LB. Крім того, зразки TCP занурювали в розчин PDLLA без мікро-наночастинок LaB₆ для приготування зразків контрольної групи.

У зв'язку зі складністю побудови моделі кісткової пухлини на кроликах чи більших тваринах через імунологічне відторгнення, для дослідження здатності зразків TCP-PDLLA-5LB знищувати пухлини кістки, в якості моделі були обрані голі миші (віком 4-6 тижнів), яким на спину підшкірно прищеплювали клітини Saos-2 (7 × 10⁶ клітин на кожну мишу). Коли діаметр пухлин досягав близько 8 мм, робили надріз шкіри скраю пухлини, в центр пухлинної тканини імплантували зразки TCP, TCP-PDLLA чи TCP-PDLLA-5LB (5

мм × 2 мм × 1 мм). Через два дні, мишей відповідної групи опромінювали інфрачервоним лазером (0,7 Вт/см²) протягом 10 хв, температуру пухлинної тканини контролювали за допомогою камери FLIRTM A320 у режимі реального часу. День перед лазерною обробкою рахували як день 0, кісткові пухлини опромінювали 10 хв щодня протягом тижня. Далі фототермічну обробку проводили в залежності від ситуації щодо знищення пухлини. Якщо кісткові пухлини були знищені і не росли, фототермічну обробку припиняли. Термозйомка в режимі реального часу показала, що пухлинні тканини, які містили зразки TCP-PDLLA-5LB, зазнавали гострої гіпертермії під впливом лазерного випромінювання густиною потужності 0,7 Вт/см². Температура кісткової пухлини, що містила TCP-PDLLA-5LB, швидко досягала 50 °C (в інтервалі часу 100 с) і трималася на рівні 53 °C, у той час як температури пухлин, що містили TCP і TCP-PDLLA, не зазнавали чіткого підвищення (рис. 11, А). Пухлини в п'яти модельних групах мишей (TCP, TCP+лазер, TCP-PDLLA, TCP-PDLLA+лазер, TCP-PDLLA-5LB) росли, їх об'єм у 5-6 разів перевершував початкові розміри, у той час як пухлини в групі TCP-PDLLA-5LB+лазер не виявляли ознак значного росту, навпаки, їх об'єм дещо зменшувався (рис. 11, В). Таким чином, гіпертермія на рівні 53 °C, обумовлена впливом лазера на зразки TCP-PDLLA-5LB, призводила до загибелі пухлинних клітин та інгібувала їх проліферацію і ріст. Результати фарбування гематоксиліном-еозином показали, що клітини кісткової пухлини у групі TCP-PDLLA-5LB+лазер мали ознаки апоптозу з деструктивними змінами, у той час як в інших п'яти групах тварин – інтактні клітинні структури і високу життєздатність.

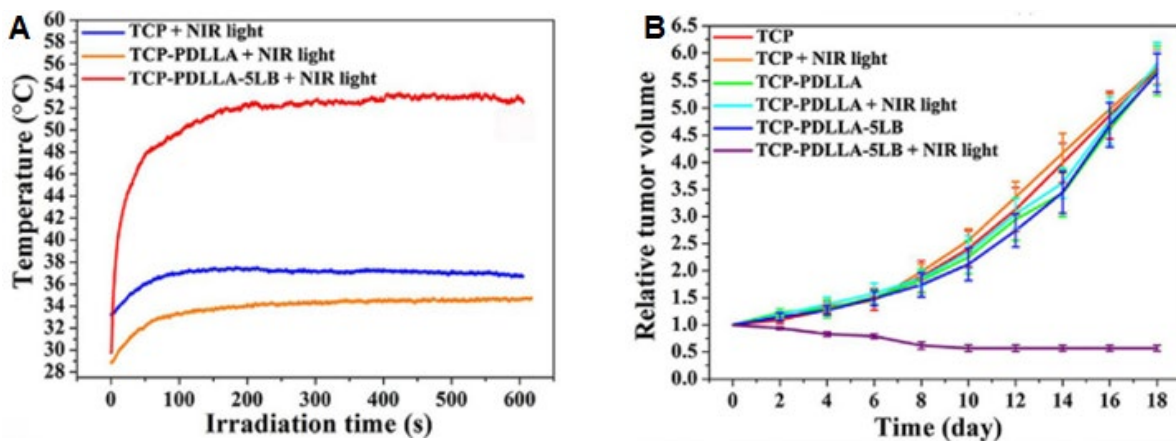


Рис. 11. Температурні криві пухлинної ділянки після імплантації зразків трикальцію фосфату і лазерного опромінення (А) і відносний об'єм пухлини в шести групах мишей (В), яким прищеплювали підшкірно клітини Saos-2 [61]

Крім того, зразки TCP-PDLLA-5LB мали здатність до вивільнення біоактивних іонів Ca²⁺, PO₄³⁻, La³⁺, BO₃³⁻, які сприяли остеогенезу та експресії остеогенних генів BMP2, RUNX2 і COL 1 *in vitro*, регенерації кісткової тканини *in vivo* [61].

3.5. Композити ларніт/С

Технологія тривимірного (3D) друкування застосовується в останні роки з метою виготовлення біокерамічних матеріалів для лікування пухлинних дефектів, але процеси введення протипухлинних засобів все ще залишаються складними та не відпрацьованими. У дослідженні [62] пористі вуглецево-ларнітні (ларніт/С) композити (ларніт – мінерал, його хімічна формула: $\beta\text{-Ca}_2[\text{SiO}_4]$) виготовлені методом 3D-друку силіконової смоли, завантаженої з наповнювачем CaCO_3 , з використанням високотемпературної обробки в інертній атмосфері.

Робочу масу для друку готували змішуванням порошків CaCO_3 (≤ 38 мкм) з силіконовою смолою в ізопропіловому спирті (0,4 мл/г силіконової смоли), молярне співвідношення Ca/Si становило 2:1. Суміш вводили у пластиковий картридж, який закріплювали на 3D-принтерній установці Bioplotter™ (EnvisionTEC GmbH, Німеччина). Циліндричний зразок діаметром 10 мм роздруковували шляхом екструзії суміші у вигляді волокна діаметром 400, 600 і 800 мкм, кут між послідовними шарами становив 60° . Отримані зразки зеленого кольору висушували при 37°C , потім здійснювали високотемпературну обробку при різних температурах (1000°C , 1100°C , 1200°C) протягом 3 год зі швидкістю нагрівання $2^\circ\text{C}/\text{хв}$ в атмосфері аргону. Отримані зразки позначали, як ларніт/С-1, ларніт/С-2 і ларніт/С-3, відповідно.

В якості контрольної групи синтезували порошки чистого ларніту з $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (тетраетилортосилікат, TEOS) методом золь-гель. 20,83 мл HNO_3 , 17,36 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і 8,5 г TEOS додавали до 130 мл деіонізованої води, суміш перемішували при 38°C на водяній бані 24 год. Отриманий золь висушували при 100°C протягом 24 год, отриманий гель прожарювали при 800°C зі швидкістю нагрівання $5^\circ\text{C}/\text{хв}$ 3 год. Після перемелювання і просіювання отримували порошки чистого ларніту з розміром частинок менше 38 мкм. Для отримання зразків чистого ларніту шляхом 3D-друкування, порошки змішували з розчином полікапролактону ($M_n=70000-90000$) в трихлорметані. Полікапролактон виконує роль зв'язувача при концентрації 5 % мас. Після 3D-друкування зразки нагрівали зі швидкістю $2^\circ\text{C}/\text{хв}$ до 1000°C і спікали на повітрі 3 год.

Порівняно зі зразками ларніту білого кольору, зразки ларніт/С виглядали сірими і чорними, що свідчить про утворення вільного вуглецю під час піролізу силіконової смоли в атмосфері аргону. При високотемпературній обробці в аргоні, силіконова смола спочатку переходить в SiOC (з утворенням Si-C зв'язку і вільного вуглецю), потім SiOC вступає в реакцію з CaO, що утворюється при розкладі CaCO_3 , формуючи ларніт, у той час як вільний вуглець утворює структури ларніт/С.

Раманівські спектри показали наявність типових смуг графітоподібного вуглецю при 1334 і 1607 см^{-1} у зразках ларніт/С, у той час як зразки ларніту не мали чітких характеристичних смуг вуглецю. Співвідношення I_D/I_G для зразків ларніт/С-1, ларніт/С-2 і ларніт/С-3 становили 1,45; 1,03 і 1,01, відповідно, вказуючи на те, що ступінь графітизації вільного вуглецю зростає зі збільшенням температури термообробки. Вміст вільного вуглецю для кожного типу зразків оцінювали методом електронно-дисперсної спектроскопії (EDS), результати показали значення 1,41 % мас., 5,57 % мас., 6,57 % мас. і 7,04 % мас. для зразків ларніту, ларніт/С-1, ларніт/С-2 і ларніт/С-3, відповідно. Зразки ларніт/С, оброблені при $1000-1200^\circ\text{C}$, виявляли подібний фототермічний ефект, що може бути пов'язано з близьким вмістом вільного вуглецю у зразках; незначні відхилення за ступенем графітизації вільного вуглецю не призводили до виразних розбіжностей.

Зразки чистого ларніту мали хорошу біосумісність, але слабкий фототермічний ефект. Вуглець є фототермічним агентом, що має високу ефективність фототермічного перетворення і здатність знищувати пухлинні клітини та інгібувати ріст пухлини. Фототермічний ефект можна було регулювати певною мірою зміною інтенсивності потужності лазерного NIR випромінювання і структури зразків. Так, фототермічний ефект

зразків з меншою пористістю (відстань між суміжними волокнами 400 мкм) був кращим, ніж зразків із значеннями 600 мкм і 800 мкм, що може бути пов'язано з різним вмістом вільного вуглецю у зразках з різною відстанню між суміжними волокнами за однакового розміру.

У дослідах *in vitro* було показано, що життєздатність клітин остеосаркоми MNNG/HOS, що культивувалися на зразках ларніт/С-3, знижувалася з підвищенням інтенсивності потужності NIR випромінювання. У порівнянні з контрольною групою, життєздатність клітин становила $70\pm 5\%$, $48\pm 4\%$, $27\pm 3\%$ і $5\pm 2\%$ при інтенсивності потужності $0,5 \text{ Вт/см}^2$, $0,75 \text{ Вт/см}^2$, 1 Вт/см^2 і $1,25 \text{ Вт/см}^2$, відповідно (рис. 12, а).

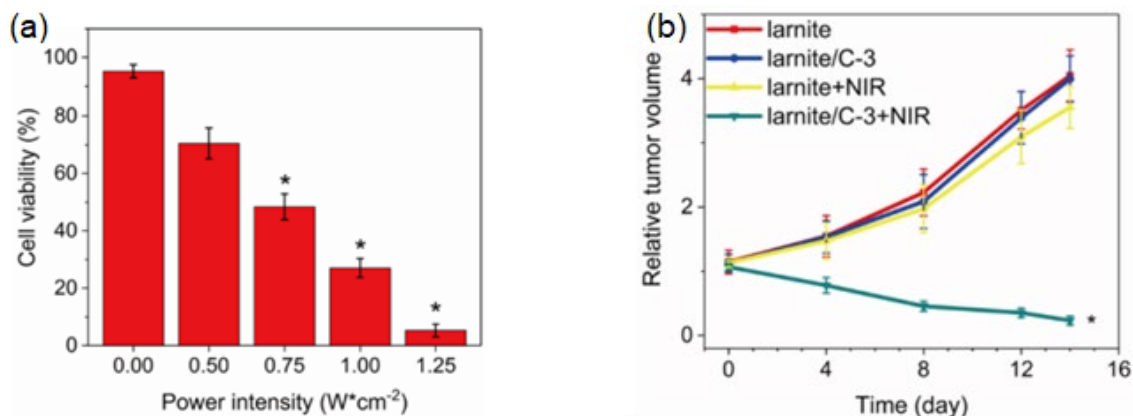


Рис. 12. Життєздатність клітин остеосаркоми людини MNNG/HOS, що культивувалися на зразках ларніт/С-3, за різної потужності лазерного випромінювання у дослідах *in vitro* (а) і криві росту пухлини, прищепленої на спину мишей (б) [62]

Створені композити ларніт/С демонстрували фототермічний ефект (при довжині хвилі лазера 808 нм) зі знищенням клітин остеосаркоми людини (MNNG/HOS) та пригніченням росту пухлини, прищепленої на спину голих мишей (рис. 12, б). Більше того, композити ларніт/С можуть стимулювати експресію генів, пов'язаних з остеогенезом (ALP, OCN та Runx-2), у мезенхімальних стовбурових клітинах кісток щурів, а також сприяти відновленню кісток щурів при дефектах критичних розмірів. Отже, при поєднанні 3D-друку із стратегією отримання кераміки на основі полімеру виникає можливість створення багатофункціональних біокерамічних матеріалів, що може бути перспективним для потенційного застосування при лікуванні пухлинних дефектів кісток [62].

3.6. Магнітні наночастинки для фототермічної терапії

Магнітні наночастинки $\text{SrFe}_{12}\text{O}_{19}$ отримували в роботі [63] методом розтоплення солей. Для цього 61,09 г $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ і 4,19 г $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ розчиняли в 200 мл деіонізованої води. Одержаний розчин додавали краплями у 250 мл розчину Na_2CO_3 . Після протікання реакції протягом 30 хв, осад промивали деіонізованою водою і висушували при 60°C протягом 48 год. Такі ж кількості попередників і частинок броміду калію перемелювали, потім прожарювали при 900°C , 1 год. Отримані наночастинки $\text{SrFe}_{12}\text{O}_{19}$ промивали і висушували при 60°C .

Мікросфери біоскла при молярному співвідношенні $\text{SiO}_2:\text{CaO}:\text{P}_2\text{O}_5$ 84:12:4 синтезували методом золь-гель самозбірки. 1,22 г броміду цетилтриметиламонію і 9,00 мл гідроксиду амонію розчиняли в суміші деіонізованої води і етанолу. 9,00 мл ортосилікату тетрагідрату, 0,69 мл триетилфосфату і 1,92 г нітрату тетрагідрату кальцію послідовно додавали до вищезазначеного розчину. Після перемішування протягом 12 год, попередник біоскла промивали водою, збирали фільтруванням і висушували при 60°C . Мікросфери

біоскла отримували після прожарювання при 650 °С протягом 3 год. Мікросфери біоскла перетворювали в мікросфери мезопористого біоскла шляхом лужної обробки. 1,00 г мікросфер біоскла додавали до розчину Na₂CO₃ (2,70 г/л), потім енергійно перемішували 1 год. Нарешті, мікросфери мезопористого біоскла промивали деіонізованою водою і висушували при 60 °С протягом 48 год.

Зразки мезопористе біоскло/хітозан, модифіковані магнітними наночастинками SrFe₁₂O₁₉ (MBCS), отримували наступним чином. 1,0 г порошку хітозану (CS) розчиняли в оцтовому розчині при механічному перемішуванні. Магнітні наночастинки SrFe₁₂O₁₉ (0,125 г чи 0,25 г) і мікросфери мезопористого біоскла (0,875 г чи 0,75 г) додавали до розчинів хітозану. Після перемішування протягом 2 год, суміші переносили в лунки 24- чи 96-лункового планшета. Зразки заморожували при -20 °С протягом 12 год під впливом сильних зовнішніх магнітних полів, потім висушували в замороженому стані з використанням спеціальної установки при -60 °С, 48 год. MBCS замочували в гідроксиді натрію (10,0 % мас.), промивали деіонізованою водою до рН = 7,0 і висушували в замороженому стані. MBCS намагнічували на магнітній установці. Отримані зразки з масовим співвідношенням SrFe₁₂O₁₉/BG 1:7 і 1:3 називали як MBCS1:7 і MBCS1:3, відповідно. Крім того, пористий зразок мезопористе біоскло/хітозан (BCS) в якості контрольної групи готували за тих же умов без додання магнітних порошків.

У досліджах *in vitro*, мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку (hBMSCs) та клітини остеосаркоми (MG-63) культивували зі зразками MBCS, проліферацію клітин підраховували з використанням набору ССК-8. Кількість клітин hBMSCs на BCS, MBCS1:7 і MBCS1:3 зростала протягом часу культивування, що свідчило про нетоксичність і хорошу цитосумісність всіх зразків.

Залежність температури від часу випромінювання NIR лазера показана на рис. 13, а, життєздатності клітин від тривалості опромінення та кількості обробок показано на рис. 13, б, с.

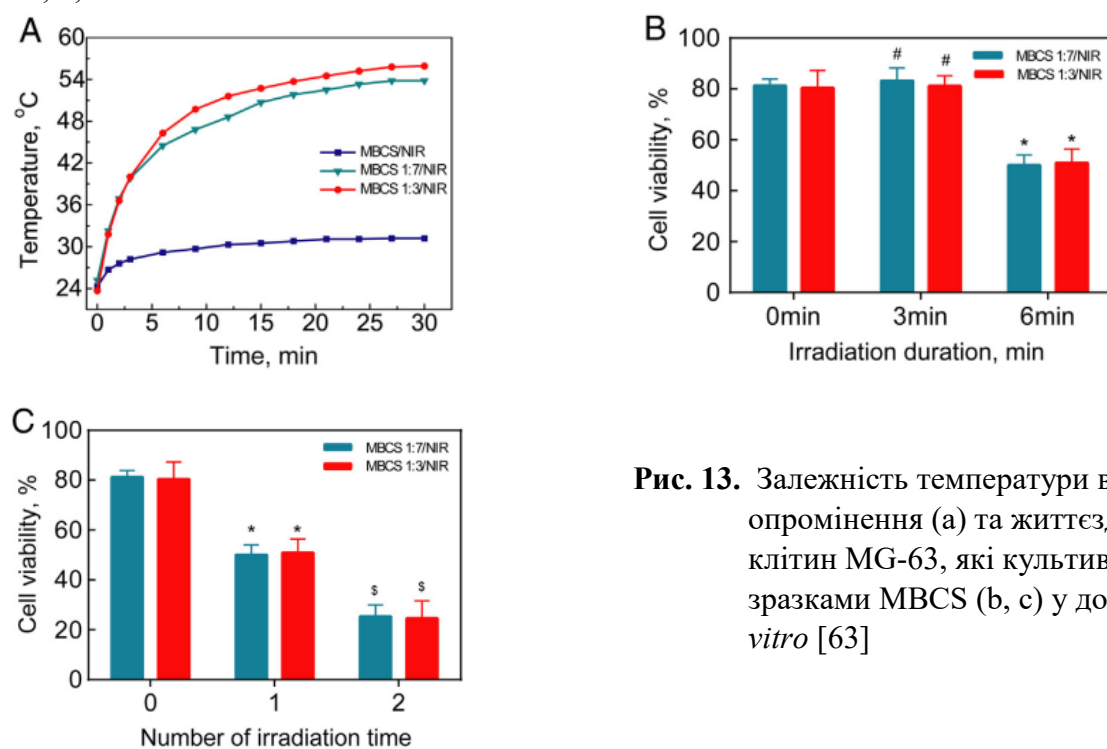


Рис. 13. Залежність температури від часу опромінення (а) та життєздатність клітин MG-63, які культивували зі зразками MBCS (б, с) у досліджах *in vitro* [63]

У досліджах *in vivo*, пухлинні клітини MNNG (5×10^6) вводили на спину голим щурам (віком 4-6 тижнів). Коли об'єм пухлини досягав $\sim 300 \text{ мм}^3$, щурів ділили на групи,

включаючи MBCS1:3 зі здійсненням чи без опромінення NIR лазером. Розріз шкіри робили скраю пухлини, і зразок імплантували біля пухлини.

Першу обробку NIR враховували як день 0. Температуру пухлин контролювали за допомогою тепловізійної ІЧ-системи. При випромінюванні лазера NIR (808 нм, 0,3 Вт/см²), температура навколо пухлин швидко зростала упродовж 2 хв, потім поступово досягала стабільного значення близько 43 °С (рис. 14). Без опромінення NIR лазером, температура трималася на рівні близько 33 °С. Флуоресцентні знімки всього тіла отримували на день 0 і день 12. Пухлини на день 12 занурювали в 4 % розчин формаліну в нейтральному буфері, закріплювали в парафіні, робили ультратонкі зрізи і фарбували гематоксиліном-еозином. Як показали результати, апоптозу пухлинних клітин у групі MBCS1:3 за відсутності опромінення NIR лазером не спостерігалось. Група MBCS1:3/NIR характеризувалася ефективним знищенням пухлинних клітин, ступінь їх некрозу досягав 84,6 %.

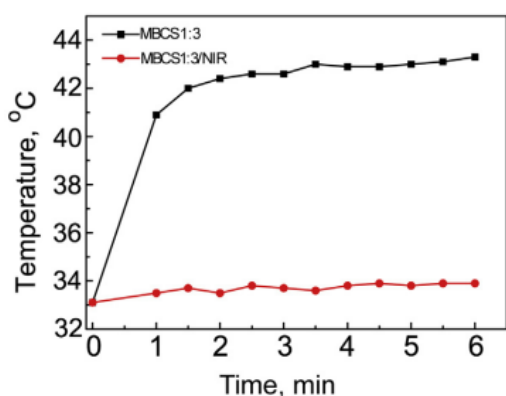


Рис. 14. Залежність температури від часу опромінення у дослідях *in vivo* (на прикладі пухлинних клітин MNNG, прищеплених на спину щурів, з імплантованими зразками MBCS1:3) [63]

Наночастинки SrFe₁₂O₁₉ виявляли добрі магнітні властивості з намагніченістю насичення M_s 60,79 Гс·см³/Г і коерцитивною силою 6040 Е. При намагніченні зразків MBCS1:3 і MBCS1:7 індукція магнітного поля складала близько 0,52 і 0,21 мТ, відповідно. Дослідження *in vitro* та *in vivo* свідчать, що наночастинки фериту в зразках значно підвищують проліферацію стовбурових клітин, їх диференціацію і регенерацію кісткової тканини. Цікаво, що більша маса нової кісткової тканини утворювалась у групах MBCS1:7 і MBCS1:3, ніж у контрольних групах, а площа та об'єм новоутвореної кістки зростали зі збільшенням вмісту SrFe₁₂O₁₉ [63].

3.7. Фототермічна терапія в поєднанні з фотодинамічною терапією

Основні труднощі на шляху широкого клінічного впровадження фототермічної терапії пов'язані з малою глибиною проникання NIR випромінювання в біологічні тканини [64]. Як видно з наведених вище даних, фототермічна терапія може ефективно знищувати поверхневі кісткові пухлини. Проте, густина потужності лазера знижується зі збільшенням глибини проникання, тому для більш глибоких пухлин кістки «м'якої» гіпертермії з використанням фототермічних агентів за низької густини потужності лазера для знищення пухлинних клітин є недостатньо. Крім того, встановлено, що збільшення експресії білків теплового шоку в пухлинних клітинах знижує терапевтичний ефект фототермічної терапії.

Багатьма дослідженнями показано, що терапевтична ефективність фототермічної терапії в комбінації з іншими стратегіями була набагато кращою, ніж при застосуванні лише фототермії. Зокрема, встановлено, що м'яка фототермічна терапія може посилити ефективність фотодинамічної терапії для досягнення оптимальних терапевтичних результатів, особливо для більш глибоких пухлин.

Отже, використання фототермічної терапії (РТТ) в поєднанні з фотодинамічною терапією (PDT) має значні перспективи для лікування пухлинних кісткових дефектів, особливо глибоких. Для PDT вкрай важливо вибрати відповідний фоточутливий агент. Хлорин еб (Ce6) – один з таких фоточутливих агентів другого покоління, який має переваги утворення великої кількості синглетного кисню ($^1\text{O}_2$) і дуже низької темної токсичності та широко застосовується в PDT.

Відомо, що Mn є необхідним мікроелементом в організмі людини, який бере участь у багатьох фізіологічних процесах, таких як обмін білків і вуглеводів. Крім того, Mn бере участь у рості твердих тканин шляхом впливу на перебудову зовнішнього матриксу і мінералізацію кістки. Тому автори [63] вважали, що введення Mn до складу біоскла може підвищити його остеогенну активність. Також Mn надає MBG (Si/Ca/P = 80/15/5) фототермічних властивостей.

Доповане марганцем мезопористе біоактивне скло (Mn-MBG) синтезували в процесі самозбірки, індукованої випарюванням (EISA). Зразки для досліджень Mn-MBG (MBG, 2Mn-MBG і 5Mn-MBG) отримували вказаним методом, зі зміною вмісту Ca і Mn. Коротко, для отримання 5Mn-MBG (Mn/Si/Ca/P = 5/80/10/5), 20 г P123 розчиняли в 300 г етилового спирту, 33,5 г TEOS, 3,65 г TEP, 4,72 г $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2,51 г $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і 5 г HCl (0,5

M) додавали до спиртового розчину і перемішували на магнітній мішалці протягом 1 дня. Суміш переливали в чашку Петрі для проведення процесу EISA. 5Mn-MBG отримували шляхом прожарювання сухого гелю при 650 °C протягом 5 год. 2Mn-MBG (Mn/Si/Ca/P = 2/80/13/5) синтезували таким же методом. Після приєднання Mn до складу MBG, питома поверхня і об'єм пор зменшувались, а діаметр пор зростав.

У процесі EISA концентрація сурфактанту зростала, зрештою перевищувала критичну концентрацію міцелоутворення. Міцели спонтанно формувалися шляхом нековалентної взаємодії. Аморфні стінки пор утворювалися внаслідок гідролізу і конденсації TEOS. Товщина стінок пор залежала від поперечного перетину гідрофільної частини міцел, а їх розмір був обумовлений головним чином гідрофобною частиною міцел. Після додавання нітрату марганцю, термодинамічний радіус, гідрофобний об'єм і гідрофільний об'єм міцел змінювалися в процесі самозбірки внаслідок його впливу, фізико-хімічні властивості виготовлених 2Mn-MBG і 5Mn-MBG також змінювалися. У [63] встановлено, що у процесі гідролізу 2Mn-MBG відбувається заміщення іонів Si^{4+} на Ca^{2+} , що призводить до зменшення зв'язаності сітки скла і збільшення кількості немісткових атомів кисню, потім частина мікропор замінювалася на мезопори, а питома поверхня 2Mn-MBG зменшувалася. Оскільки вміст $\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ зростав, термодинамічний радіус міцел P123 зменшувався, розміри пор 5Mn-MBG зменшувались, що сприяло збільшенню питомої поверхні 5Mn-MBG.

Для оцінки ємності 5Mn-MBG по відношенню до Ce6, здійснювали диспергування Ce6 в етанолі при різних концентраціях (0,1; 0,3; 0,6; 0,9 і 1,2 мг/мл). Потім по 2 мл цих розчинів додавали до 0,02 г 5Mn-MBG і диспергували ультразвуком 2 хв. Після витримки на шейкері протягом 3 год, суміші витримували при 4 °C 24 год, центрифугували і промивали 3 рази деіонізованою водою. Величину оптичного поглинання всіх зібраних надосадових рідин (супернатантів) вимірювали за допомогою спектрофотометра при 405 нм. Досліджували залежність між вихідними концентраціями Ce6 і його вмістом у 5Mn-MBG. Результати свідчили, що співвідношення Ce6/5Mn-MBG (мг/г) зростає зі збільшенням початкової концентрації Ce6.

Після періодичної обробки лазерним випромінюванням довжиною хвилі 808 нм сумарний вихід Ce6 з композитів 5Mn-MBG/Ce6 становив 29,86%, 30,75% і 34,9% при досягненні значень температури 37, 41 і 45 °C, відповідно. Характерно, що при

працюючому лазері вихід Себ з композитів 5Mn-MBG/Себ значно зростав. При вимкненні лазера процес вивільнення Себ з композиту був повільним.

Утворення синглетного кисню $^1\text{O}_2$ контролювали з використанням 1,3-дифенілізобензофурану (DPBF) в якості зонду. Відомо, що наявність $^1\text{O}_2$ може знижувати поглинання DPBF при 410 нм. Після обробки лазером ($\lambda = 660$ нм), як MBG/Себ, так і 5Mn-MBG/Себ мали здатність тривалого продукування $^1\text{O}_2$, що призводило до послідовного зниження поглинання DPBF при 410 нм. Проте зразки MBG і 5Mn-MBG не могли продукувати $^1\text{O}_2$ після лазерного опромінення 660 нм. Крім того, зразки MBG/Себ і 5Mn-MBG/Себ також не продукували $^1\text{O}_2$ без вказаного лазерного опромінення. Ці результати вказують на те, що MBG/Себ і 5Mn-MBG/Себ не мають явно вираженої темної токсичності. Як показали результати дослідження, введення Себ до складу MBG і 5Mn-MBG не призвело до зміни здатності утворення $^1\text{O}_2$.

Для досліджень на модельних тваринах, 100 мкл суспензії клітин остеосаркоми LM8 (2×10^5 клітин у середовищі DMEM) вводили підшкірно на спину голих мишей. Після досягнення діаметру пухлини LM8 ~ 4 мм, зразки MBG, 5Mn-MBG і 5Mn-MBG/Себ (розміром 6 мм) імплантували в нижню частину пухлин. У групі мишей РТТ, 5Mn-MBG і 5Mn-MBG/Себ зразки обробляли лазерним випромінюванням довжиною хвилі 808 нм (~ 50 °С, 20 хв). Зразки MBG обробляли лазером такої ж густини потужності. У групі PDT, здійснювали обробку лазером при 660 нм (50 мВт/см², 10 хв). У групі РТТ+PDT, пухлини мишей обробляли лазерним випромінюванням при 808 нм і 660 нм. Обробку NIR повторювали 7 разів.

Пухлини в групах СТР, MBG, MBG+РТТ, 5Mn-MBG, 5Mn-MBG/Себ і 5Mn-MBG/Себ+PDT виявляли швидкий ріст, вказуючи на те, що обробка PDT і самі матеріали мали незначний вплив на ріст пухлини. Швидкість пухлинного росту в групах 5Mn-MBG+РТТ і 5Mn-MBG/Себ+РТТ виразно знижувалася, що свідчить про важливе значення РТТ для знищення пухлини. Цікаво, що в групах 5Mn-MBG/Себ+РТТ+PDT пухлини майже повністю зникали, а зразки 5Mn-MBG/Себ мали синергічний ефект РТТ і PDT *in vivo*.

Результати фарбування гематоксиліном і еозином підтвердили, що синергічна терапія була значно кращою, ніж лише РТТ, у той час як лише PDT не мала терапевтичного ефекту на пухлину *in vivo*. Терапевтична ефективність PDT виявляла залежність не лише від поглинання клітинами фоточутливої речовини, але й також від глибини проникнення фоточутливої речовини в пухлинну тканину. Тому в експерименті з дослідження протипухлинної дії композитів *in vitro*, внаслідок незначної товщини пухлинних клітин на дні лунки планшета, терапевтична ефективність PDT була кращою, ніж м'яка гіпертермічна терапія (45 °С). В експерименті *in vivo*, пухлинна тканина мала деяку товщину, сама пухлина швидко росла у голих мишей, а глибина проникнення Себ у пухлинну тканину була обмежена. Тому PDT не була настільки ефективною, як РТТ (51 °С). Вважаючи, що густина потужності лазера знижувалася зі збільшенням глибини проникнення, при поверхневих кісткових пухлинах (розміщених у долонях чи ступнях), фототермічний препарат може створити гіпертермічний ефект для знищення пухлинних клітин після обробки лазерним випромінюванням низької густини потужності. При більш глибоких кісткових пухлинах (розміщених у кінцівках), м'якої гіпертермії з використанням фототермічного препарату, було недостатньо для повного знищення пухлинних клітин через ослаблення густини потужності лазера. Для подальшого підвищення терапевтичного впливу на більш глибокі кісткові пухлини, можливою стратегією вважається поєднання фототермічної і фотодинамічної терапії. З одного боку, м'яка гіпертермія, створена лазерною обробкою низької густини потужності, може підвищувати вихід фоточутливої речовини з біоскла. З іншого боку, м'яка гіпертермія

може поліпшувати проникність мембран і підвищувати поглинання фоточутливої речовини пухлинними клітинами.

Результати гістологічного аналізу свідчать, що зразки 5Mn-MBG/Себ мали хорошу кістко-утворюючу здатність. Більше того, вони могли полегшувати регенерацію кістки шляхом неперервного вивільнення біоактивних іонів, у порівнянні з контролем. Короткострокова фототермія не мала явно виражених побічних ефектів на довготривалу регенерацію кістки [64].

4. Магнітне біоскло

Магнітне біоскло розглядається як перспективний засіб з подвійною функцією лікування пухлин кістки і регенерації кісткових дефектів з використанням методу магнітної гіпертермії. Гіпертермія здійснюється при локальному нагріванні тканини до температури порядку 42-46 ° С. Суть методу магнітної гіпертермії полягає у накопиченні магнітних наночастинок в області пухлинної тканини, або введенні їх в пухлину, та подальшому нагріванні за допомогою змінного магнітного поля достатньої індукції та відповідної частоти. Магнітні наночастинок перетворюють енергію змінного магнітного поля в тепло і таким чином викликають нагрівання тканини в місці свого перебування. Параметри магнітного поля визначаються властивостями і розмірами наночастинок, а також морфофункціональними характеристиками пухлин. Як магнітних матеріалів для магнітної гіпертермії зазвичай використовують оксиди заліза – магнетит Fe_3O_4 і $\gamma-Fe_2O_3$ внаслідок їх досить хороших магнітних властивостей і біологічної сумісності.

Переваги застосування феро(фери)магнітних частинок в порівнянні з іншими внутрішньотканинними імплантатами в тому, що їх можна виробляти фрагментами, що мають різні температури Кюрі для досягнення заданих температурних профілів і саморегуляції, що дозволяє уникнути перегріву нормальних тканин. Завдяки цій технології та тривимірному керуванню нагріванням можна запобігти високотравматичного внутрішньотканинного вимірювання температури. Найбільш часто для магнітної гіпертермії використовують однодомні супермагнітні нанорозмірні (~ 10 нм) частинки оксидів заліза, терапевтично значуще поглинання енергії якими досягається в полях субмегагерцового діапазону з відносно малою (~100 Е) амплітудою. Таким чином досягається можливість точного контролю кількості виділеної в процесі гіпертермії теплової енергії та неперервного контролю температури в зоні нагріву простими і точними термоелектричними перетворювачами.

Крім того, встановлено перспективність застосування магнітної гіпертермії для посилення дії променевої терапії та хіміотерапії. При цьому метод вимагає додаткового вдосконалення, наприклад, пошуку способів рівномірного введення суспензії в пухлину, поліпшення методів знеболення та утримання магнітних наночастинок в патологічному вогнищі тощо.

На цей час, магнітна гіпертермія перейшла зі стадії експериментальної терапії в клінічну. Незважаючи на наявні недоліки, труднощі та невирішені питання, магнітна гіпертермія вважається одним з перспективних способів терапії пухлин внаслідок її вибіркового теплового впливу на локальну область тканини і доброю сумісністю з традиційними методами лікування злоякісних новоутворень, а також з фотодинамічною терапією. Ефективність і застосовність цього методу можуть підвищити модифікування поверхні магнітних наночастинок протипухлинними засобами та надання їх векторних властивостей для спрямованого транспорту та адресної доставки в пухлину [65, 66].

4.1. Наночастинок Fe_3O_4 –MBG для магнітної гіпертермії

Для отримання нанорозмірного магнетиту автори роботи [67], 10 мл водного розчину 1 М $FeCl_2 \times 4H_2O$ і 20 мл 1 М $FeCl_3 \times 6H_2O$ (3 ммоль) зливали і перемішували в

інертній атмосфері азоту. Після додавання 100 мл розчину амонію (1 М), утворювався темно-коричневий осад, який перемішували протягом 4 год. Осад промивали водою і 0,05 н НСІ та висушували при кімнатній температурі, отримували наночастинки Fe_3O_4 .

Для приготування зразків Fe_3O_4 -MBG ($51\text{SiO}_2 \times 18\text{CaO} \times 20\text{Na}_2\text{O} \times 4\text{P}_2\text{O}_5 \times 7\text{Fe}_3\text{O}_4$ % мол.), TEOS додавали до суміші 5 г P123, 10 мл 0,2 н HNO_3 , 50 мл абсолютного етанолу і 500 мл деіонізованої води. Суміш перемішували 2 год в інертній атмосфері, потім ТЕР, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ і Na_2CO_3 додавали і перемішували 45 хв для кожного компоненту. Потім додавали приготовані наночастинки Fe_3O_4 , суміш перемішували 1 год до утворення золю. Після додавання краплями розчину амонію (25%), утворювався густий гель, який далі перемішували 2 год, витримували протягом ночі при кімнатній температурі, висушували при 100 °С у вакуумній печі, прожарювали при 350 °С протягом 4 год для отримання композиту Fe_3O_4 -MBG.

Для завантаження протипухлинного препарату в склад композиту, 1 г Fe_3O_4 -MBG перемішували з 500 мг мітоміцину С (Мс) у 100 мл деіонізованої води протягом 4 год. Тверду фазу фільтрували і висушували при кімнатній температурі з отриманням наночастинок Мс- Fe_3O_4 -MBG. Для дослідження вивільнення мітоміцину С, 500 мг Мс- Fe_3O_4 -MBG поміщували у скляну пробірку, що містила 5 мл модельної фізіологічної рідини SBF. Через певний проміжок часу, 1 мл цього розчину відбирали, фільтрували, вимірювали концентрацію препарату за допомогою спектрофотометра. Такий же об'єм свіжого SBF додавали у пробірку для підтримки постійного об'єму розчину.

Для дослідження регенерації кісткової тканини, 500 мг наночастинок Fe_3O_4 -MBG занурювали в SBF та витримували при 37 °С. Через один тиждень Fe_3O_4 -MBG фільтрували, обережно промивали ацетоном і висушували при кімнатній температурі. Зразки досліджували методами рентгенівської дифракції та інфрачервоної спектроскопії з фур'є-накопиченням (FTIR) для виявлення утвореного гідроксикарбонату апатиту.

Занурення Fe_3O_4 -MBG у SBF є тестом *in vitro* для підтвердження апатит-утворюючої здатності зразків. Дослідження FTIR спектрів Fe_3O_4 -MBG показали наявність смуг поглинання при 1043, 796 cm^{-1} , що відповідають коливанням зв'язків Si–O. Після занурення в SBF протягом одного тижня, спостерігалися також коливальні смуги карбонізованого гідроксиapatиту. Коливальні максимуми при 1435 і 854 cm^{-1} відповідають зв'язкам C–O. Подвійні смуги при 603 і 575 cm^{-1} приписуються коливанням P–O фосфатних груп, при 1643 і 3421 – коливанням O–H груп.

Магнітне біоскло Fe_3O_4 -MBG виявляло високу ефективність щодо завантаження мітоміцином С (93 %). Більша частина препарату завантажувалася у внутрішні пори, деяка частина адсорбувалася на зовнішній поверхні. Препарат також утворював комплекси з іонами металів композиту. Максимальне вивільнення накопиченого препарату (69,6%) спостерігалось при рН 6,4, найнижче вивільнення (42%) спостерігалось при рН 8,4 (рис. 15). Перевагою високого вивільнення препарату при більш низькому рівні рН може бути його застосування в частинах тіла, уражених раком.

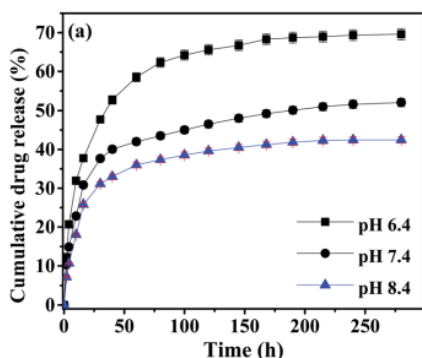


Рис. 15. Сукупне вивільнення препарату (мітоміцину С) як функція часу для зразків Fe_3O_4 -MBG при різних значеннях рН [67]

Після витримки розчину $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ у змінному магнітному полі протягом 20 хв, його температура піднімалася від 25 до 43,3 °C внаслідок магнітних втрат (температуру вимірювали за допомогою оптичного температурного зонда). $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ виявляє високий гіпертермічний ефект, температура підвищувалась на 11,5 °C в перші 6 хв нагрівання. Питома швидкість поглинання (SAR) зразків $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ становить 305,45 Вт/г. Високе значення SAR, навіть при низькій концентрації магнетиту, свідчить, що гіпертермічний ефект ($t > 41$ °C) може легко бути досягнутий протягом 3 хв.

Клітини остеосаркоми лінії MG-63 витримували у змінному магнітному полі в присутності $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ (25 мкг/мл), чашку з культурою вставляли в котушку великого розміру для забезпечення змінного магнітного поля з частотою 250 кГц протягом 20 хв, цитотоксичність оцінювали з використанням МТТ. Як свідчать дані рис. 16 (а), більша частина пухлинних клітин гинула в умовах гіпертермії, у той час як за відсутності змінного магнітного поля нормальні клітини мали високу життєздатність.

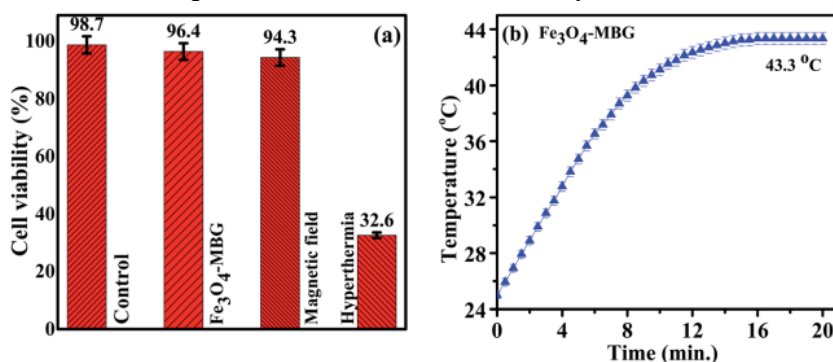


Рис. 16. Життєздатність клітин остеосаркоми MG-63 в умовах *in vitro* (а), температурна кінетика магнітної гіпертермії у дослідженні зі зразками $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ при частоті 250 кГц (b) [67]

Ці результати показують, що $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-MBG}$ має високу біосумісність, низьку цитотоксичність і є перспективним для ефективного і контрольованого магнітного гіпертермічного лікування раку [67].

4.2. Fe- та Cu-вмісне біоскло

Fe-, Cu- та FeCu-вмісне біоскло, як три мезопористі системи з масовим співвідношенням (1) і (2) SiO_2 (68%), CaO (23%), P_2O_5 (4%), X (5%) (X = Fe_2O_3 або CuO) і (3) SiO_2 (68%), CaO (18%), P_2O_5 (4%), CuO (5%), Fe_2O_3 (5%), синтезували методом золь-гель з використанням процесу самозбірки, індукованої випарюванням, та сурфактанту P123 [68]. Для виготовлення біоскла розчиняли P123 (12 г) у 180 мл етанолу і 25 мл дистильованої води з перемішуванням при 40 °C до отримання прозорого розчину. Далі 2,7 мл 2 М HNO_3 і тетраетилортосилікат додавали до розчину упродовж 40 хв для закінчення реакції кислотного гідролізу TEOS. TEP, кальцію нітрат тетрагідрат, міді нітрат тригідрат і заліза нітрат нонагідрат додавали послідовно з інтервалом 40 хв до утворення прозорого розчину. Кінцевий рН становив 3,5, суміш розмішували при 30 °C протягом 24 год. Отриманий розчин переливали в чашку Петрі і поміщували в сушильну піч при 38 °C на 7 діб. Підсушений гель прожарювали в печі в атмосфері азот/повітря при 650 °C зі швидкістю нагрівання 2,8 °C/хв, починаючи з 25 °C, для видалення органічних речовин і залишків нітрату. Азот використовували для зменшення окиснювальної здатності металічних елементів. Протягом останніх 100 хв для кращого видалення полімеру зі структури скла використовували повітря. Прожарені порошки збирали для аналітичних досліджень. Детальніше синтез біоскла наведено в роботах [69, 70].

Fe-вмісні зразки біоскла, синтезовані в роботі [68], мали скло-керамічну структуру, у той час як Cu-вмісні зразки мали структуру скла. Біоактивність синтезованих зразків підтверджено формуванням апатито-подібного шару і дослідями з визначення активності лужної фосфатази (ALP) *in vitro*, що показали можливість їх застосування для регенерації кісткової тканини. Всі синтезовані зразки були біосумісними, біоскло FeCu виявляло суперпарамагнітні властивості. Встановлено, що додання Cu разом із Fe до складу біоскла може приводити до покращення суперпарамагнітних властивостей зі зниженням кількості Fe. На противагу дослідженню [71], в якому повідомлялося про поліпшення ангиогенезу при застосуванні Cu-вмісного скла, у роботі [68] спостерігалось значне зниження проліферації клітин і ангиогенезу при доданні Cu у магнітне скло. Автори вважають, що недостатня мотивація ангиогенезу цими зразками, особливо Cu-вмісними, може розглядатися як основна перевага при обробці пухлинних клітин, оскільки ангиогенез може призводити до метастазів злоякісних пухлин. За результатами досліджень *in vitro*, мідь-вмісне магнітне біоскло може розглядатися як перспективне для лікування кісткових дефектів, обумовлених злоякісними пухлинами, з використанням методу гіпертермії [68].

Висновки

У наш час пухлинні захворювання кісток є однією з основних проблем у клінічній практиці. Після хірургічного втручання може залишатися деяка частина пухлинних клітин, здатних до проліферації, що призводить до рецидиву пухлини. Крім того, хірургічне видалення пухлин кістки створює дефекти кісткової тканини. Тому проблема виготовлення специфічних біоматеріалів з подвійною функцією лікування пухлин кістки і регенерації кісткових дефектів набула пріоритетного значення.

Застосування методів адресної доставки та локального контрольованого вивільнення препаратів сприяє створенню бажаної терапевтичної концентрації ліків у вогнищі захворювання та підвищує їх біодоступність. В останні роки розроблено перспективні зразки, здатні до ефективного контрольованого вивільнення, в яких цисплатин, доксорубіцин та гемцитабін використовувалися в якості модельних хімотерапевтичних препаратів. Вказані підходи виявилися перспективними і показали потенційну можливість знищення залишкових пухлинних клітин, однак, вони можуть набувати резистентності до таких препаратів, що призводить до невдачі лікування.

Наведено огляд наукових досліджень в напрямках застосування біоскла з альтернативними цитотоксичними / цитостатичними компонентами та результатів розробки новітніх напрямків протипухлинної терапії кісток, в яких не спостерігається набуття резистентності пухлинних клітин. Протипухлинні функції таких мультифункціональних зразків здійснюються, наприклад, шляхом хімотерапії, фототермічної терапії, магнітної гіпертермії, а також фотодинамічної терапії. Наведені дані мають науковий, практичний та методичний інтерес.

Література

1. Шимон В.М., Алфелдій С.П., Шимон М.В., Стойка В.В. Використання біоскла в лікуванні переломів та дефектів довгих кісток // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2019. – Т. 19, № 3 (63). – С. 95–99.
2. Шимон В.М., Алфелдій С.П., Шимон М.В. та ін. Експериментальне дослідження міцності кісток щурів із дефектом, заповненим біосклом // Травма. – 2019. – Т. 20, № 5. – С. 70–77.

3. Філіпенко В.А., Карпінський М.Ю., Бондаренко С.Є. та ін. Міцність кістково-металевого блоку для різних типів поверхонь імплантатів за умов нормального стану кісткової тканини та при моделюванні остеопорузу в експерименті на щурах // Травма. – 2016. – Т. 17, № 4. – С. 60–65.
4. Філіпенко В.А., Карпінський М.Ю., Карпінська О.Д. та ін. Міцність кістково-металевого блоку для різних типів поверхонь імплантатів за умов нормального стану кісткової тканини та остеопорузу в щурів // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2016. – № 1. – С. 72–77.
5. Дедух Н.В., Карпинский М.Ю., Чжоу Л., Мальшикина С.В. Регенерация и механическая прочность кости в условиях имплантации углеродного материала // Ортопедия, травматология и протезирование. – 2016. – № 3. – С. 41–47.
6. Хвусюк О.М., Павлов О.Д., Карпінський М.Ю., Карпінська О.Д. Дослідження тривалості збереження жорсткості фіксації кісткових уламків біодеградуючими накістковими пластинами на основі полілактиду // Травма. – 2018. – Т. 19, № 5. – С. 102–109.
7. <https://www.bbc.com/ukrainian/vert-fut-41244324>
8. Fiume E., Barberi J., Verné E., Baino F. Bioactive glasses: from parent 45S5 composition to scaffold-assisted tissue-healing therapies // J. Funct. Biomater. – 2018. – V. 9, No 1. – P. 24.
9. Essien E.R., Atasié V.N., Udobang E.U. Microwave energy-assisted formation of bioactive CaO–MgO–SiO₂ ternary glass from bio-wastes // Bulletin of Materials Science. – 2016. – V. 39, No 4. – P. 989–995.
10. Weng L., Boda S.K., Teusink M.J. et al. Binary doping of strontium and copper enhancing osteogenesis and angiogenesis of bioactive glass nanofibers while suppressing osteoclast activity // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2017. – V. 9, No 29. – P. 24484–24496.
11. Hoppe A., Jokic B., Janackovic D. et al. Cobalt-releasing 1393 bioactive glass-derived scaffolds for bone tissue engineering applications // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2014. – V. 6, No 4. – P. 2865–2877.
12. Azevedo M.M., Jell G., O'Donnell M.D. et al. Synthesis and characterization of hypoxia-mimicking bioactive glasses for skeletal regeneration // Journal of Materials Chemistry. – 2010. – V. 20, No 40. – P. 8854–8864.
13. Bellantone M., Williams H.D., Hench L.L. Broad-spectrum bactericidal activity of Ag₂O-doped bioactive glass // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2002. – V. 46. – P. 1940–1945.
14. Dang W., Li T., Li B. et al. A bifunctional scaffold with CuFeSe₂ nanocrystals for tumor therapy and bone reconstruction // Biomaterials. – 2018. – V. 160. – P. 92–106.
15. Zhang J.H., Zhao S.C., Zhu Y.F. et al. Three-dimensional printing of strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for bone regeneration // Acta Biomater. – 2014. – V. 10, No 5. – P. 2269–2281.
16. Pires I., Gouveia B., Rodrigues J., Fonte R. Characterization of sintered hydroxyapatite samples produced by 3D printing // Rapid Prototyp. J. – 2014. – V. 20. – P. 413–421.
17. Almela T., Brook I.M., Khoshroo K. et al. Simulation of cortico-cancellous bone structure by 3D printing of bilayer calcium phosphate-based scaffolds // Bioprinting. – 2017. – V. 6. – P. 1–7.
18. Kolan K.C., Leu M.C., Hilmas G.E. et al. Fabrication of 13-93 bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering using indirect selective laser sintering // Biofabrication. – 2011. – V. 3. – P. 025004.

19. *Jiajun X., Huifeng S., Dongshuang H. et al.* Ultrahigh strength of three-dimensional printed diluted magnesium doping wollastonite porous scaffolds // *MRS Commun.* – 2015. – V. 5, No 4. – P. 631–639.
20. *Shanshan P., Shengyang F., Yufang Z.* Multifunctional bioceramic scaffolds for tumor therapy and bone tissue engineering // *Journal of Bioanalysis & Biomedicine.* – 2019. – V. 11, No 1. – P. 120–121.
21. *Lo V.C.K., Akens M.K., Wise-Milestone L. et al.* The benefits of photodynamic therapy on vertebral bone are maintained and enhanced by combination treatment with bisphosphonates and radiation therapy // *J. Orthop. Res.* – 2013. – V. 31, No 9. – P. 1398–1405.
22. *Manzano M.* Ceramics for Drug Delivery. In: *Bio-Ceramics with Clinical Applications.* (Wiley, John Wiley & Sons, Ltd, 2014).
23. *Bigham A., Aghajanian A.H., Saudi A., Rafienia M.* Hierarchical porous Mg₂SiO₄-CoFe₂O₄ nanomagnetic scaffold for bone cancer therapy and regeneration: Surface modification and *in vitro* studies // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2020. – V. 109. – P. 110579.
24. *Paris J.L., Manzano M., Cabañas M.V., Vallet Regí M.* Mesoporous silica nanoparticles engineered for ultrasound-induced uptake by cancer cells // *Nanoscale.* – 2018. – V. 10. – P. 6402–6408.
25. *Farzin A., Fathi M., Emadi R.* Multifunctional magnetic nanostructured hardystonite scaffold for hyperthermia, drug delivery and tissue engineering applications // *Mater. Sci. Eng. C.* – 2017. – V. 70. – P. 21–31.
26. *Mondal S., Pal U.* 3D hydroxyapatite scaffold for bone regeneration and local drug delivery applications // *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* – 2019. – V. 53. – P. 101131–101140.
27. *Chitambar C.R.* Gallium-containing anticancer compounds // *Future Med. Chem.* – 2012. – V. 4, No 10. – P. 1257–1272.
28. *Collery P., Keppler B., Madoulet C., Desoize B.* Gallium in cancer treatment // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2002. – V. 42, No 3. – P. 283–296.
29. *Rana K., Souza L., Isaacs M.A. et al.* Development and characterisation of gallium-doped bioactive glasses for potential bone cancer applications // *ACS Biomater. Sci. Eng.* – 2017. – V. 3, No 12. – P. 3425–3432.
30. *Chitambar C.R.* Medical applications and toxicities of gallium compounds // *International Journal of Environmental Research and Public Health.* – 2010. – V. 7. – P. 2337–2361.
31. *Ortega R., Suda A., Devès G.* Nuclear microprobe imaging of gallium nitrate in cancer cells // *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms.* – 2003. – V. 210. – P. 364–367.
32. *Chitambar C.R., Wereley J.P., Matsuyama S.* Gallium-induced cell death in lymphoma: role of transferrin receptor cycling, involvement of Bax and the mitochondria, and effects of proteasome inhibition // *Mol. Cancer Ther.* – 2006. – V. 5, No 11. – P. 2834–2843.
33. *Hongzeng W., Jinming Z., Ruoheng D. et al.* Transferrin receptor-1 and VEGF are prognostic factors for osteosarcoma // *J. Orthop. Surg. Res.* – 2019. – V. 14. – P. 296.
34. *De Vico G., Martano M., Maiolino P. et al.* Expression of transferrin receptor-1 (TFR-1) in canine osteosarcomas // *Epub.* – 2020. – V. 6, No 3. – P. 272–276. doi: 10.1002/vms3.258
35. *Lusvardi G., Malavasi G., Menabue L., Shruti S.* Gallium-containing phosphosilicate glasses: functionalization and in-vitro bioactivity // *Materials Science and Engineering: C.* – 2013. – V. 33. – P. 3190–3196.
36. *Franchini M., Lusvardi G., Malavasi G., Menabue L.* Gallium-containing phosphosilicate glasses: Synthesis and in vitro bioactivity // *Materials Science and Engineering: C.* – 2012. – V. 32. – P. 1401–1406.

37. *Martin R.A., Twyman H.L., Rees G.J. et al.* A structural investigation of the alkali metal site distribution within bioactive glass using neutron diffraction and multinuclear solid state NMR // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2012. – V. 14, No 35. – P. 12105–12113.
38. *Saravanapavan P., Hench L.L.* Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of gel-derived glasses in the binary CaO-SiO₂ system // *Journal of biomedical materials research.* – 2001. – V. 54. – P. 608–618.
39. *El-Kady A.M., Farag M.M.* Bioactive glass nanoparticles as a new delivery system for sustained 5-fluorouracil release: characterization and evaluation of drug release mechanism // *Journal of Nanomaterials.* – 2015. – V. 2015. – P. 1–11.
40. *Абрамов М.В., Кусяк А.П., Камінський О.М. та ін.* Синтез та властивості магніточутливих поліфункціональних наноконкомпозитів для застосування в онкології // *Поверхність.* – 2017. – Вип. 9(24). – С. 165–198.
41. *Abramov M.V., Kusyak A.P., Kaminskiy O.M. et al.* Magnetosensitive nanocomposites based on cisplatin and doxorubicin for application in oncology // *Horizons in World Physics.* – 2017. – V. 293. – P. 1–56.
42. *Абрамов М.В., Петрановська А.Л., Пилипчук Є.В. та ін.* Магніточутливі поліфункціональні наноконкомпозити на основі магнетиту і гідроксиапатиту для застосування в онкології // *Поверхність.* – 2018. – Вип. 10(25). – С. 245–285.
43. *Горбик П.П.* Медико-біологічні наноконкомпозити з функціями нанороботів: стан досліджень, розробок та перспективи практичного впровадження // *Хімія, фізика та технологія поверхні.* – 2020. – Т. 11, № 1. – С. 128–143.
44. *Абрамов М.В., Туранська С.П., Горбик П.П.* Магнетні властивості наноконкомпозитів типу суперпарамагнетне ядро-оболонка // *Металофізика і новітні технології.* – 2018. – Т. 40, № 4. – С. 423–500.
45. *Абрамов М.В., Туранська С.П., Горбик П.П.* Магнітні властивості рідин на основі поліфункціональних наноконкомпозитів типу суперпарамагнетне ядро-багаторівнева оболонка // *Металофізика і новітні технології.* – 2018. – Т. 40, № 10. – С. 1283–1348.
46. Протипухлинний наноконкомпозит «Фероплат». <https://files.nas.gov.ua/NASDevelopmentsBook/PDF/0760.pdf>
47. *Лук'янова Н.Ю.* Експериментальне обґрунтування ефективності використання феромагнітного наноконкомпозиту у подоланні резистентності пухлинних клітин до цисплатину: автореф. дис. ... докт. біол. наук: 14.01.07 / ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України. – Київ, 2015. – 43 с.
48. *Пат. UA 112490.* Протипухлинний феромагнітний наноконкомпозит / Чехун В.Ф., Лук'янова Н.Ю., Горбик П.П., Тодор І.М., Петрановська А.Л., Бошицька Н.В., Божко І.В. – Опубл. 2016.
49. *Kusyak A.P., Petranovska A.L., Dubok V.A. et al.* Adsorption immobilization of chemotherapeutic drug cisplatin on the surface of sol-gel bioglass 60S // *Funct. Mater.* – 2021. – V. 28, No 1. – P. 97–105.
50. *Petranovska A.L., Kusyak A.P., Korniiichuk N.M. et al.* Antitumor vector systems based on bioactive lectin of *Bacillus subtilis* IMB B-7724. // *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni.* – 2021. – V. 12, No 3. – P. 190–200.
51. *Liub S., Su X.G.* The synthesis and application of I-III-VI type quantum dots // *RSC Adv.* – 2014. – V. 4. – P. 43415–43428.
52. *Ghosh S., Avellini T., Petrelli A. et al.* Colloidal CuFeS₂ nanocrystals: intermediate Fe d-band leads to high photothermal conversion efficiency // *Chem. Mater.* – 2016. – V. 28, No 13. – P. 4848–4858.

53. Jiang X.X., Zhang S.H., Ren F. et al. Ultrasmall magnetic CuFeSe₂ ternary nanocrystals for multimodal imaging guided photothermal therapy of cancer // ACS Nano. – 2017. – V. 11. – P. 5633–5645.
54. Ma H.S., Jiang C., Zhai D. et al. A bifunctional biomaterial with photothermal effect for tumor therapy and bone regeneration // Adv. Funct. Mater. – 2016. – V. 26. – P. 1197–1208.
55. Wu C.T., Luo Y.X., Cuniberti G. et al. Three-dimensional printing of hierarchical and tough mesoporous bioactive glass scaffolds with a controllable pore architecture, excellent mechanical strength and mineralization ability // Acta Biomaterialia. – 2011. – V. 7, No 6. – P. 2644–2650.
56. Wu C.T., Zhou Y.H., Fan W. et al. Hypoxia-mimicking mesoporous bioactive glass scaffolds with controllable cobalt ion release for bone tissue engineering // Biomaterials. – 2012. – V. 33. – P. 2076–2085.
57. Wang H., Xiangqiong Z., Libin P. et al. Integrative treatment of anti-tumor/bone repair by combination of MoS₂ nanosheets with 3D printed bioactive borosilicate glass scaffolds // Chemical Engineering Journal. – 2020. – V. 396. – P. 125081–125095.
58. Wang H., Zhao S., Zou J., Zhu K. Biocompatibility and osteogenic capacity of borosilicate bioactive glass scaffolds loaded with Fe₃O₄ magnetic nanoparticles // J. Mater. Chem. B. – 2015. – V. 3, No 21. – P. 4377–4387.
59. Wang L., Long N.J., Li L. et al. Multi-functional bismuth-doped bioglasses: combining bioactivity and photothermal response for bone tumor treatment and tissue repair // Light: Science & Applications. – 2018. – V. 7, No 1. – P. 1–13.
60. Wang L.P., Tan L.L., Yue Y.Z. et al. Efficient enhancement of bismuth NIR luminescence by aluminum and its mechanism in bismuth-doped germanate laser glass // J. Am. Ceram. Soc. – 2016. – V. 99. – P. 2071–2076.
61. Wentao D., Bing M., Zhiguang H. et al. LaB₆ surface chemistry-reinforced scaffolds for treating bone tumors and bone defects // Applied Materials Today. – 2019. – V. 16. – P. 42–55.
62. Shengyang F., Haoran H., Jiajie C. Silicone resin derived lamite/C scaffolds via 3D printing for potential tumor therapy and bone regeneration // Chemical Engineering Journal. – 2020. – V. 382. – P. 122928–122940.
63. Jia-Wei L., Fan Y., Qin-Fei K. et al. Magnetic nanoparticles modified-porous scaffolds for bone regeneration and photothermal therapy against tumors // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2018. – V. 14, No 3. – P. 811–822.
64. Yaqin L., Rongcai L., Lingling M. et al. Mesoporous bioactive glass for synergistic therapy of tumor and regeneration of bone tissue // Applied Materials Today. – 2020. – V. 19. – P. 100578–100592.
65. Улащик В.С. Локальная гипертермия в онкологии: использование магнитного поля, лазерного излучения, ультразвука // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. – 2014. - № 2. – С. 48–57.
66. Горобець С.В., Горобець О.Ю., Горбик П.П., Уварова І.В. Функціональні біо- та наноматеріали медичного призначення. – Київ: Кондор, 2018. – 479 с.
67. Rahman M.S.U., Tahir M.A., Noreen S. et al. Magnetic mesoporous bioactive glass for synergetic use in bone regeneration, hyperthermia treatment, and controlled drug delivery // RSC Advances. – 2020. – V. 10. – P. 21413–21419.
68. Koohkan R., Hooshmand T., Mohebbi-Kalhari D. et al. Synthesis, characterization and in vitro biological evaluation of copper-containing magnetic bioactive glasses for hyperthermia in bone defect treatment // ACS Biomater. Sci. Eng. – 2018. – V. 4, No 5. – P. 1797–1811.

69. Koohkan R., Hooshmand T., Tahriri M., Mohebbi-Kalhari D. Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous copper silicate bioactive glasses // *Ceramics International*. – 2018. – V. 44. – P. 2390–2399.
70. Salinas A.J., Shruti S., Malavasi G. et al. Substitutions of cerium, gallium and zinc in ordered mesoporous bioactive glasses // *Acta Biomaterialia*. – 2011. – V. 7, No 9. – P. 3452–3458.
71. Zhao S., Li L., Wang H. et al. Wound dressings composed of copper-doped borate bioactive glass microfibers stimulate angiogenesis and heal full-thickness skin defects in a rodent model // *Biomaterials*. – 2015. – V. 53. – P. 379–391.

References

1. Shymon V.M., Alfeldii S.P., Shymon M.V., Stoika V.V. Application of bioglass in treatment of fractures and defects of long bones. *Actual Problems of Contemporary Medicine: Herald of Ukrainian Medical Stomatology Academy*. 2019. **19**(3): 95. [in Ukrainian].
2. Shymon V.M., Alfeldii S.P., Shymon M.V., Karpins'kyi M.Yu., Karpins'ka O.D., Subbota I.A. Experimental investigation of durability of rat bones with defect filled by bioglass. *Trauma*. 2019. **20**(5): 70. [in Ukrainian].
3. Filipenko V.A., Karpins'kyi M.Yu., Bondarenko S.Ye., Zhygun A.I., Tan'kut V.O., Akondzhom M. Durability of bone-metallic block for various types of implant surfaces in conditions of normal state of bone tissue and in simulation of osteoporosis in experiments with rats. *Trauma*. 2016. **17**(4): 60. [in Ukrainian].
4. Filipenko V.A., Karpins'kyi M.Yu., Karpins'ka O.D., Tan'kut V.O., Akondzhom M., Bondarenko S.Ye. Durability of bone-metallic block for various types of implant surfaces in conditions of normal state of bone tissue and osteoporosis in rats. *Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*. 2016. **1**: 72. [in Ukrainian].
5. Dedukh N.V., Karpins'kyi M.Yu., Chzhou L., Malyshkina S.V. Regeneration and mechanic durability of bone in conditions of implantation on carbon material. *Orthopedics, Traumatology and Prosthetics*. 2016. **3**: 41. [in Russian].
6. Khvysiuk O.M., Pavlov O.Д., Karpins'kyi M.Yu., Karpins'ka O.D. Investigation of duration of preservation of hard fixation of bone fragments with biodegradable on-bone plates based on polylactide. *Trauma*. 2018. **19**(5): 102. [in Ukrainian].
7. <https://www.bbc.com/ukrainian/vert-fut-41244324>
8. Fiume E., Barberi J., Verné E., Bains F. Bioactive glasses: from parent 45S5 composition to scaffold-assisted tissue-healing therapies. *J. Funct. Biomater.* 2018. **9**(1): 24.
9. Essien E.R., Atasié V.N., Udobang E.U. Microwave energy-assisted formation of bioactive CaO–MgO–SiO₂ ternary glass from bio-wastes. *Bulletin of Materials Science*. 2016. **39**(4): 989.
10. Weng L., Boda S.K., Teusink M.J., Shuler F.D., Li X., Xie J. Binary doping of strontium and copper enhancing osteogenesis and angiogenesis of bioactive glass nanofibers while suppressing osteoclast activity. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2017. **9**(29): 24484.
11. Hoppe A., Jokic B., Janackovic D., Fey T., Greil P., Romeis S., Schmidt J., Peukert W., Lao J., Jallot E., Boccaccini A.R. Cobalt-releasing 1393 bioactive glass-derived scaffolds for bone tissue engineering applications. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2014. **6**(4): 2865.
12. Azevedo M.M., Jell G., O'Donnell M.D., Law R.V., Hill R.G., Stevens M.M. Synthesis and characterization of hypoxia-mimicking bioactive glasses for skeletal regeneration. *J. Mater. Chem.* 2010. **20**(40): 8854.
13. Bellantone M., Williams H.D., Hench L.L. Broad-spectrum bactericidal activity of Ag₂O-doped bioactive glass. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2002. **46**: 1940.

14. Dang W., Li T., Li B., Ma H., Zhai D., Wang X., Chang J., Xiao Y., Wang J., Wu C. A bifunctional scaffold with CuFeSe₂ nanocrystals for tumor therapy and bone reconstruction. *Biomaterials*. 2018. **160**: 92.
15. Zhang J.H., Zhao S.C., Zhu Y.F., Huang Y., Zhu M., Tao C., Zhang C. Three-dimensional printing of strontium-containing mesoporous bioactive glass scaffolds for bone regeneration. *Acta Biomater*. 2014. **10**(5): 2269.
16. Pires I., Gouveia B., Rodrigues J., Fonte R. Characterization of sintered hydroxyapatite samples produced by 3D printing. *Rapid Prototyp. J*. 2014. **20**: 413.
17. Almela T., Brook I.M., Khoshroo K., Rasoulianboroujeni M., Fahimipour F. Simulation of cortico-cancellous bone structure by 3D printing of bilayer calcium phosphate-based scaffolds. *Bioprinting*. 2017. **6**: 1.
18. Kolan K.C., Leu M.C., Hilmas G.E., Velez M., Mech J. Fabrication of 13-93 bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering using indirect selective laser sintering. *Biofabrication*. 2011. **3**: 025004.
19. Jiajun X., Huifeng S., Dongshuang H., Xianyan Y., Chunlei Y., Juan Y., Yong H., Jianzhong F., Zhongru G. Ultrahigh strength of three-dimensional printed diluted magnesium doping wollastonite porous scaffolds. *MRS Commun*. 2015. **5**(4): 631.
20. Shanshan P., Shengyang F., Yufang Z. Multifunctional bioceramic scaffolds for tumor therapy and bone tissue engineering. *Journal of Bioanalysis & Biomedicine*. 2019. **11**(1): 120.
21. Lo V.C.K., Akens M.K., Wise-Milestone L., Yee A.J.M., Wilson B.C., Whyne C.M. The benefits of photodynamic therapy on vertebral bone are maintained and enhanced by combination treatment with bisphosphonates and radiation therapy. *J. Orthop. Res*. 2013. **31**(9): 1398.
22. Manzano M. Ceramics for Drug Delivery. In: *Bio-Ceramics with Clinical Applications*. (Wiley, John Wiley & Sons, Ltd, 2014).
23. Bigham A., Aghajanian A.H., Saudi A., Rafienia M. Hierarchical porous Mg₂SiO₄-CoFe₂O₄ nanomagnetic scaffold for bone cancer therapy and regeneration: Surface modification and *in vitro* studies. *Mater. Sci. Eng. C*. 2020. **109**: 110579.
24. Paris J.L., Manzano M., Cabañas M.V., Vallet Regí M. Mesoporous silica nanoparticles engineered for ultrasound-induced uptake by cancer cells. *Nanoscale*. 2018. **10**: 6402.
25. Farzin A., Fathi M., Emadi R. Multifunctional magnetic nanostructured hardystonite scaffold for hyperthermia, drug delivery and tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C*. 2017. **70**: 21.
26. Mondal S., Pal U. 3D hydroxyapatite scaffold for bone regeneration and local drug delivery applications. *J. Drug Deliv. Sci. Technol*. 2019. **53**: 101131.
27. Chitambar C.R. Gallium-containing anticancer compounds. *Future Med. Chem*. 2012. **4**(10): 1257.
28. Collery P., Keppler B., Madoulet C., Desoize B. Gallium in cancer treatment. *Crit. Rev. Oncol. Hematol*. 2002. **42**(3): 283.
29. Rana K., Souza L., Isaacs M.A., Raja F., Morrell A.P., Martin R.A. Development and characterisation of gallium-doped bioactive glasses for potential bone cancer applications. *ACS Biomater. Sci. Eng*. 2017. **3**(12): 3425.
30. Chitambar C.R. Medical applications and toxicities of gallium compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2010. **7**: 2337.
31. Ortega R., Suda A., Devès G. Nuclear microprobe imaging of gallium nitrate in cancer cells. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*. 2003. **210**: 364.
32. Chitambar C.R., Wereley J.P., Matsuyama S. Gallium-induced cell death in lymphoma: role of transferrin receptor cycling, involvement of Bax and the mitochondria, and effects of proteasome inhibition. *Mol. Cancer Ther*. 2006. **5**(11): 2834.

33. Hongzeng W., Jinming Z., Ruoheng D., Jianfa X., Helin F. Transferrin receptor-1 and VEGF are prognostic factors for osteosarcoma. *J. Orthop. Surg. Res.* 2019. **14**: 296.
34. De Vico G., Martano M., Maiolino P., Carella F., Leonardi L. Expression of transferrin receptor-1 (TFR-1) in canine osteosarcomas. *Epub.* 2020. **6**(3): 272.
35. Lusvardi G., Malavasi G., Menabue L., Shruti S. Gallium-containing phosphosilicate glasses: functionalization and in-vitro bioactivity. *Materials Science and Engineering: C.* 2013. **33**: 3190.
36. Franchini M., Lusvardi G., Malavasi G., Menabue L. Gallium-containing phosphosilicate glasses: Synthesis and in vitro bioactivity. *Materials Science and Engineering: C.* 2012. **32**: 1401.
37. Martin R.A., Twyman H.L., Rees G.J., Smith J.M., Barney E.R., Smith M.E., Hanna J.V., Newport R.J. A structural investigation of the alkali metal site distribution within bioactive glass using neutron diffraction and multinuclear solid state NMR. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2012. **14**(35): 12105.
38. Saravanapavan P., Hench L.L. Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of gel-derived glasses in the binary CaO-SiO₂ system. *Journal of biomedical materials research.* 2001. **54**: 608.
39. El-Kady A.M., Farag M.M. Bioactive glass nanoparticles as a new delivery system for sustained 5-fluorouracil release: characterization and evaluation of drug release mechanism. *Journal of Nanomaterials.* 2015. **2015**: 1.
40. Abramov M.V., Kussyak A.P., Kaminskiy O.M., Turanska S.P., Petranovska A.L., Kussyak N.V., Turov V.V., Gorbyk P.P. Synthesis and properties of magnetosensitive polyfunctional nanocomposites for application in oncology. *Poverkhnost'.* 2017. **9**(24): 165. [in Ukrainian].
41. Abramov M.V., Kussyak A.P., Kaminskiy O.M., Turanska S.P., Petranovska A.L., Kussyak N.V., Gorbyk P.P. Magnetosensitive nanocomposites based on cisplatin and doxorubicin for application in oncology. *Horizons in World Physics.* 2017. **293**: 1.
42. Abramov M.V., Petranovska A.L., Pylypchuk Ye.V., Turanska S.P., Opanashchuk N.M., Kussyak N.V., Gorobets' S.V., Gorbyk P.P. Magnetosensitive polyfunctional nanocomposites based on magnetite and hydroxyapatite for application in oncology. *Poverkhnost'.* 2018. **10**(25): 245.
43. Gorbyk P.P. Medico-biological nanocomposites with functions of nanorobots: state of research, development and prospects for practical implementation. *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni.* 2020. **11**(1): 128. [in Ukrainian].
44. Abramov M.V., Turanska S.P., Gorbyk P.P. Magnetic properties of nanocomposites of superparamagnetic core-shell type. *Metalofizyka i Novitni Tehnol.* 2018. **40**(4): 423. [in Ukrainian].
45. Abramov M.V., Turanska S.P., Gorbyk P.P. Magnetic properties of fluids based on polyfunctional nanocomposites of superparamagnetic core-multilevel shell type. *Metalofizyka i Novitni Tehnol.* 2018. **40**(10): 1283. [in Ukrainian].
46. Antitumor nanocomposite "Feroplast".
<https://files.nas.gov.ua/NASDevelopmentsBook/PDF/0760.pdf>
47. Luk'yanova N.Yu. Doctoral (Biol.) Thesis. (Kyiv, 2015). [in Ukrainian].
48. Patent UA 112490. Chekhun V.F., Lukyanova N.Y., Gorbyk P.P., Todor I.M., Petranovska A.L., Boshitska N.V., Bozhko I.V. Antitumor ferromagnetic nanocomposite. 2016.
49. Kussyak A.P., Petranovska A.L., Dubok V.A., Chorny V.S., Bur'yanov O.A., Korniiichuk N.M., Gorbyk P.P. Adsorption immobilization of chemotherapeutic drug cisplatin on the surface of sol-gel bioglass 60S. *Funct. Mater.* 2021. **28**(1): 97.

50. Petranovska A.L., Kusyak A.P., Kornichuk N.M., Turanska S.P., Gorbyk P.P., Lukyanova N.Yu., Chekhun V.F. Antitumor vector systems based on bioactive lectin of *Bacillus subtilis* IMB B-7724. *Him. Fiz. Tehnol. Poverhni*. 2021. **12**(3): 190.
51. Liub S., Su X.G. The synthesis and application of I-III-VI type quantum dots. *RSC Adv*. 2014. **4**: 43415.
52. Ghosh S., Avellini T., Petrelli A., Kriegel I., Gaspari R., Almeida G., Bertoni G., Cavalli A., Scotognella F., Pellegrino T., Manna L. Colloidal CuFeS₂ nanocrystals: intermediate Fe d-band leads to high photothermal conversion efficiency. *Chem. Mater*. 2016. **28**: 4848.
53. Jiang X.X., Zhang S.H., Ren F., Chen L., Zeng J.F., Zhu M., Cheng Z.X., Gao M.Y., Li Z. Ultrasmall magnetic CuFeSe₂ ternary nanocrystals for multimodal imaging guided photothermal therapy of cancer. *ACS Nano*. 2017. **11**: 5633.
54. Ma H.S., Jiang C., Zhai D., Luo Y.X., Chen Y., Lv F., Yi Z.F., Deng Y., Wang J.W., Chang J., Wu C.T. A bifunctional biomaterial with photothermal effect for tumor therapy and bone regeneration. *Adv. Funct. Mater*. 2016. **26**: 1197.
55. Wu C.T., Luo Y.X., Cuniberti G., Xiao Y., Gelinsky M. Three-dimensional printing of hierarchical and tough mesoporous bioactive glass scaffolds with a controllable pore architecture, excellent mechanical strength and mineralization ability. *Acta Biomaterialia*. 2011. **7**(6): 2644.
56. Wu C.T., Zhou Y.H., Fan W., Han P.P., Chang J., Yuen J., Zhang M.L., Xiao Y. Hypoxia-mimicking mesoporous bioactive glass scaffolds with controllable cobalt ion release for bone tissue engineering. *Biomaterials*. 2012. **33**: 2076.
57. Wang H., Xiangqiong Z., Libin P., Haihang W., Bocai L., Zhengwei D., Edwina L.X.Q., Na M., Deping W., Peng H., Haoran H., Jiusheng L. Integrative treatment of anti-tumor/bone repair by combination of MoS₂ nanosheets with 3D printed bioactive borosilicate glass scaffolds. *Chemical Engineering Journal*. 2020. **396**: 125081.
58. Wang H., Zhao S., Zou J., Zhu K. Biocompatibility and osteogenic capacity of borosilicate bioactive glass scaffolds loaded with Fe₃O₄ magnetic nanoparticles. *J. Mater. Chem. B*. 2015. **3**(21): 4377.
59. Wang L., Long N.J., Li L., Lu Y., Li M., Cao J., Zhang Y., Zhang Q., Xu S., Yang Z., Mao C., Peng M. Multi-functional bismuth-doped bioglasses: combining bioactivity and photothermal response for bone tumor treatment and tissue repair. *Light: Science & Applications*. 2018. **7**(1): 1.
60. Wang L.P., Tan L.L., Yue Y.Z., Peng M.Y., Qiu J.R. Efficient enhancement of bismuth NIR luminescence by aluminum and its mechanism in bismuth-doped germanate laser glass. *J. Am. Ceram. Soc*. 2016. **99**: 2071.
61. Wentao D., Bing M., Zhiguang H., Rongcai L., Xiaoya W., Tian L., JinFu W., Nan M., Haibo Z., Jiang C., Chengtie W. LaB₆ surface chemistry-reinforced scaffolds for treating bone tumors and bone defects. *Applied Materials Today*. 2019. **16**: 42.
62. Shengyang F., Haoran H., Jiajie C. Silicone resin derived larnite/C scaffolds via 3D printing for potential tumor therapy and bone regeneration. *Chemical Engineering Journal*. 2020. **382**: 122928.
63. Jia-Wei L., Fan Y., Qin-Fei K., Xue-Tao X., Ya-Ping G. Magnetic nanoparticles modified-porous scaffolds for bone regeneration and photothermal therapy against tumors. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2018. **14**(3): 811.
64. Yaqin L., Rongcai L., Lingling M., Hui Z., Chun F., Jiang C., Chengtie W. Mesoporous bioactive glass for synergistic therapy of tumor and regeneration of bone tissue. *Applied Materials Today*. 2020. **19**: 100578.
65. Ulaschik V.S. Local hyperthermia in oncology: using of magnetic field, laser radiation, ultrasound. *Vopr. Kurortologii, Fizioterapii i Lechebnoi Fizicheskoi Kultury*. 2014. **2**: 48. [in Russian].

66. Gorobets S.V., Gorobets O.Yu., Gorbyk P.P., Uvarova I.V. *Functional bio- and nanomaterials for medical purposes*. (Kyiv: Condor, 2018). [in Ukrainian].
67. Rahman M.S.U., Tahir M.A., Noreen S., Yasir M., Ahmad I., Khan M.B., Ali K.W., Shoaib M., Bahadur A., Iqbal S. Magnetic mesoporous bioactive glass for synergetic use in bone regeneration, hyperthermia treatment, and controlled drug delivery. *RSC Advances*. 2020. **10**: 21413.
68. Koohkan R., Hooshmand T., Mohebbi-Kalhari D., Tahriri M., Marefati M.T. Synthesis, characterization and in vitro biological evaluation of copper-containing magnetic bioactive glasses for hyperthermia in bone defect treatment. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2018. **4**(5): 1797.
69. Koohkan R., Hooshmand T., Tahriri M., Mohebbi-Kalhari D. Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of mesoporous copper silicate bioactive glasses. *Ceramics International*. 2018. **44**: 2390.
70. Salinas A.J., Shruti S., Malavasi G., Menabue L., Vallet-Regí M. Substitutions of cerium, gallium and zinc in ordered mesoporous bioactive glasses. *Acta Biomaterialia*. 2011. **7**(9): 3452.
71. Zhao S., Li L., Wang H., Zhang Y., Cheng X., Zhou N., Rahaman M.N., Liu Z., Huang W., Zhang C. Wound dressings composed of copper-doped borate bioactive glass microfibers stimulate angiogenesis and heal full-thickness skin defects in a rodent model. *Biomaterials*. 2015. **53**: 379.

BIOGLASS AND ITS APPLICATION IN MODERN TREATMENT OF OSTEOONCOLOGICAL DISEASES

S.P. Turanska¹, A.P. Kusyak¹, A.L. Petranovska¹, V.V. Turov¹, P.P. Gorbyk¹, V.A. Dubok², O.A. Bur'yanov³, V.S. Chorny³, Yu.L. Sobolevsky³, V.F. Chekhun⁴

¹*O.O. Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine, 17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine, phorbyk@ukr.net*

²*I.M. Frantsevich Institute of Material Science Problems of National Academy of Sciences of Ukraine, 3 Krzhyzhanivsky Str., Kyiv, 03142, Ukraine*

³*O.O. Bogomolets National Medical University, 13 Taras Shevchenko Boulevard, Kyiv, 01601, Ukraine*

⁴*R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of National Academy of Sciences of Ukraine, 45 Vasylkivska Str., Kyiv, 03022, Ukraine*

Bone tumor diseases are one of the main problems in modern clinical practice. After surgery, some of the tumor cells capable of proliferation may remain, leading to tumor recurrence. In addition, surgical ablation of bone tumors creates bone tissue defects. Therefore, the problem of manufacturing specific biomaterials with a dual function of treating bone tumors and regeneration of bone defects has become a priority.

The use of methods of targeted delivery and local controlled release of drugs contributes to the creation of the desired therapeutic concentration of drugs in the disease focus and increases their bioavailability. In recent years, promising samples capable of effective controlled release have been developed in which cisplatin, doxorubicin and gemcitabine have been used as model chemotherapeutic drugs. These approaches have been promising and have shown the potential to destroy residual tumor cells, however, they may become resistant to such drugs, which leads to treatment failure.

The main purpose of the review is to summarize the latest world experience in the synthesis, research and use of composites based on bioactive ceramic materials and modern antitumor drugs as promising implants, embodying a new generation of complex remedies for targeted delivery with osteoconductive and antitumor properties, prolonged action, for local application.

Examples are given of bioglass application with cytotoxic / cytostatic components, as well as results of development of the newest directions of antitumor therapy of bones, in which acquisition of resistance of tumor cells is not observed. The antitumor functions of such multifunctional samples are performed, for example, by chemotherapy, photothermal therapy, magnetic hyperthermia, and photodynamic therapy. These data are of scientific, practical and methodical interest.

Key words: *bioceramics, multifunctional bioglass, synthesis, implants, osteoconductive properties, targeted delivery remedies, antitumor therapy of bones*