

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА
НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 546.883+616-006.04

РЕНТГЕНОКОНТРАСТНАЯ СТЕКЛОКЕРАМИКА
С МИКРОКРИСТАЛЛАМИ ТАНТАЛАТА КАЛЬЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

© 2022 г. О. С. Плотникова^{а, б, *}, Д. Н. Грищенко^с, М. А. Медков^с, В. И. Апанасевич^а,
И. В. Панкратов^б, В. И. Невожай^а, А. А. Полежаев^а, Е. П. Костив^а

^аТихоокеанский государственный медицинский университет, пр-т Острякова, 2, Владивосток, 690002 Россия

^бПриморский краевой онкологический диспансер, ул. Русская, 59, Владивосток, 690105 Россия

^сИнститут химии ДВО РАН, пр-т 100-летия Владивостока, 159, Владивосток, 690022 Россия

*e-mail: radiolog2906@gmail.com

Поступила в редакцию 09.02.2022 г.

После доработки 23.03.2022 г.

Принята к публикации 30.03.2022 г.

С целью расширения списка материалов, пригодных для лечения злокачественных новообразований, получена композиционная стеклокерамика, состоящая из микрокристаллов танталата кальция, заключенных в матрицу стекла. Материал исследован *in vivo*. Композит является радиомодификатором, улучшает визуализацию зоны облучения, не представляет угрозы радиоактивного заражения организма, снижает вероятность возникновения лучевых осложнений в здоровых тканях. Установлено, что благодаря двухфазному составу стеклокерамики микрокристаллы CaTa_2O_6 способны задерживаться в тканях в месте введения и обеспечивать более результативную лучевую терапию. Радиосенсибилизационные свойства материала повышают эффективность однократной дозы облучения. Созданная стеклокерамика является перспективным материалом для лечения больных, нуждающихся в применении радиотерапии.

Ключевые слова: радиомодификация, биостекла, танталат кальция, онкология, лучевая терапия

DOI: 10.31857/S0044457X22090094

ВВЕДЕНИЕ

Биологически активное стекло создано группой американских ученых в 1969 г. Стекло с соотношением компонентов (мас. %): SiO_2 – 45; Na_2O – 24.5; CaO – 24.5; P_2O_5 – 6 названо Bioglass 45S5. Оно считается остеокондуктивным, остеоиндуктивным и биодegradуемым. Влияние биостекла на рост и биоминерализацию клеток обеспечивается способностью осаждаемых на своей поверхности слой гидроксидированного карбоната апатита, идентичного минеральной фазе костной ткани [1–3]. Известна способность биостекла связываться с мягкими тканями [4]. В частности, было продемонстрировано, что биоактивные стекла и стеклокерамика могут быть использованы для регенерации широкого спектра мягких тканей [5–7].

Проводимые в настоящее время разработки новых продуктов для клинического применения способствуют расширению списка материалов, используемых в медицине, и созданию более перспективных их видов. Например, допирование биостекла различными металлами открывает новые возможности для их использования. В част-

ности, допирование тяжелыми металлами, такими как висмут, вольфрам и тантал [8–10], делает их рентгеноконтрастными, что позволяет визуализировать процессы восстановления тканей.

В последнее время появились сообщения об использовании биостекла и стеклокерамики для лечения онкологических заболеваний методами гипертермии и брахитерапии. В первом случае допирование оксидами железа придает стеклам магнитные свойства, что позволяет использовать их для гипертермии [11–13], в результате которой с помощью внешнего магнитного поля локально в области злокачественного новообразования повышается температура. Этот внутренний источник тепла вызывает апоптоз в клетках опухоли, не повреждая здоровые окружающие ткани. Для брахитерапии онкологических заболеваний предложено использовать радиоизотопы, например, ^{135}Sm , ^{90}Sr и ^{90}Y , включенные в матрицу биорезорбируемых стекол [12]. Так, метод радионуклидной эмболизации стеклянными микросферами с радиоизотопом иттрия-90 предложен для лечения злокачественных опухолей печени и желчевыводящих путей [14]. Микросферы состоят из

стекла диаметром 20–30 мкм, в котором в матрицу встроены изотопы ^{89}Y . Перед процедурой эмболизации иттрий-89 в ядерном реакторе активируется нейтронами до иттрия-90. Микросферы с ^{90}Y вводят точно в артерии, питающие новообразование, и по капиллярам они попадают в ложе опухоли. Радиоизотоп создает внутри опухоли высокую дозу облучения (120–200 Гр) при относительно небольшом облучении (20–30 Гр) здоровой ткани печени, окружающей опухоль.

Наиболее перспективным направлением в области разработки радиомодификаторов является создание препарата на основе микро- и наночастиц тяжелых металлов, так как чем больше атомный номер ядра атома, тем выше вероятность взаимодействия фотонов тормозного и гамма-излучения с веществом путем фотоэффекта [15]. Создание препаратов, основанных на использовании наноразмерных частиц тяжелых элементов, например Ta_2O_5 , представляет особый интерес, так как тантал обладает низкой токсичностью и практически биоинертен, что позволяет широко использовать его в медицине [16].

В данной статье представлен способ получения танталсодержащего композиционного материала на основе Bioglass 45S5 и исследована *in vivo* его способность к преодолению радиорезистентности опухоли за счет локальной радиомодификации злокачественных новообразований.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы композиционного материала, состоящего из Bioglass 45S5 и Ta_2O_5 , получены одним из трех способов, разработанных в работе [17]. Состав образцов, мас. %: Ta_2O_5 – 20, SiO_2 – 36, Na_2O – 19.6, CaO – 19.6, P_2O_5 – 4.8 и Ta_2O_5 – 40, SiO_2 – 27, Na_2O – 14.7, CaO – 14.7, P_2O_5 – 3.6.

Выбран следующий способ. В органический раствор, содержащий олеат натрия, тетраэтоксисилан, олеат кальция и трибутилфосфат в стехиометрических количествах для получения биостекла 45S5, добавляли кристаллический оксид тантала. В качестве растворителя выступала смесь скипидара (сульфатного очищенного для органического синтеза) с толуолом в соотношении 40 : 60 соответственно. Все компоненты тщательно перемешивали при нагревании и производили отгонку растворителя при температуре 200°C. Образовавшийся прекурсор подвергали пиролизу в муфельной печи Nabertherm L5/13/B180 при средней скорости нагрева 7 град/мин до 1300°C и выдержке при этой температуре 30 мин. Для стеклования компонентов материал переносили в камеру отжига с температурой 550°C и выдерживали в течение 2 ч. Затем образец охлаждали при комнатной температуре и измельчали на вибрационной мельнице Fritsch Pulverisette-0.

Получены порошки стеклокерамики следующего качества: 100% частиц имели размер < 100 мкм, из них 85% частиц – размер < 50 мкм. Измерение проведено с помощью ситового анализа ручным сухим способом ситами 01 и 005. Состав материала подтвержден рентгенофазовым анализом с помощью дифрактометра D8 Advance (Bruker AXS, Германия) в $\text{CuK}\alpha$ -излучении с графитовым монохроматором, программы поиска EVA и базы порошковых данных ICDD PDF-2. Для исследования состава, а также морфологии образцов использовали метод растровой электронной микроскопии (РЭМ). РЭМ-изображения и энергодисперсионные спектры получали на электронном сканирующем микроскопе S5500 (Hitachi, Япония). Генерацию первичного высокоэнергетического излучения проводили на линейном ускорителе TrueBeam (Varian Medical Systems, США). Уровень вторичного излучения регистрировали с помощью полупроводникового диодного детектора PDI-2.0 tm (Sun Nuclear Corp., США).

Экспериментальную суспензию для лечения злокачественных новообразований готовили непосредственно перед применением следующим образом. Сухой порошок стеклокерамики (150 мг) помещали в 15 мл физиологического раствора, встряхивали и отбирали необходимое количество суспензии шприцем калибра G16 для введения животным.

Эксперимент *in vivo* проводили на 28 мышах – самках весом 20–22 г. Всем мышам под кожу задней правой лапы перевивали опухоль аденокарциномы Эрлиха (500 000 клеток/мышь) в физиологическом растворе. Животных делили на две группы (по 14 в каждой), различающиеся способом лечения опухоли. Группа 1 – через 10 дней проводили облучение области опухоли. Группа 2 – через 10 дней в область опухоли вводили 0.3 мл экспериментальной суспензии с последующим облучением.

Сеанс лучевой терапии проводили на аппарате True Beam фирмы Varian с применением болюса с энергией фотонов до 6 МэВ одной фракцией, СОД 20 Гр ионизирующего излучения. В процессе эксперимента (на 1, 3, 7, 14 день) из каждой группы изымали по одной особи для взятия материала на гистологическое исследование с целью оценки морфологических изменений в тканях. Поэтому при расчете выживаемости они не учитывались.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Введение в опухоль радиосенсибилизаторов с последующим облучением приводит к появлению дополнительного вторичного излучения внутри опухоли, что усиливает воздействие лучевой терапии. В [18] исследована *in vivo* возмож-

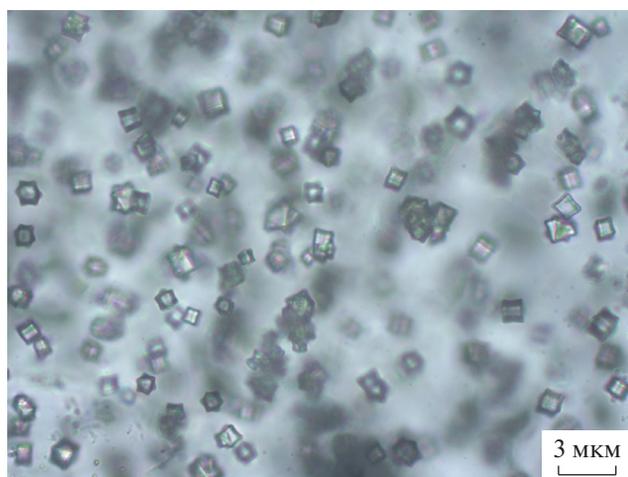


Рис. 1. Микрофотография танталсодержащей стеклокерамики.

ность применения наночастиц оксида тантала для лечения злокачественных новообразований. Получены результаты, подтверждающие эффективность использования материалов на основе Ta_2O_5 . Отрицательным фактором является слишком высокая скорость выведения оксида тантала из тканей (одни сутки), что нежелательно в условиях длительного лечения заболевания. В целях эффективного проведения лучевой терапии проблему быстрого выведения частиц было решено преодолеть с помощью местного введения в опухоль препарата, состоящего из конгломерата танталсодержащих кристаллов, заключенных в матрицу биостекла.

Установлено, что в результате взаимодействия компонентов стекла Bioglass 45S5 с оксидом тантала при температуре $1300^\circ C$ образуется танталсодержащая стеклокерамика (рис. 1). Фазовый состав прекурсоров, отожженных при различных температурах, а также при различном содержании Ta_2O_5 в Bioglass 45S5, был подробно исследован в [17]. Созданный двухфазный композиционный материал состоит из микрокристаллов кубической формы с длиной ребра ~ 1 мкм, равномерно распределенных в матрице стекла.

Энергодисперсионный спектр образца (рис. 2) подтверждает наличие Na, Ca, P, Si, Ta в составе материала. Согласно данным рентгенофазового анализа (рис. 3), в матрицу стекла заключены микрокристаллы состава $CaTa_2O_6$. Кристаллическая фаза соответствует № 01-077-1228 (C) из базы порошковых данных International Centre for Diffraction Data (ICDD), Powder Diffraction File (PDF), Kabekkody, 2007.

Стекло, в матрице которого находятся микрокристаллы танталата кальция, в живом организме подвергается деградации. Процесс сопровождается постепенным высвобождением кристаллов $CaTa_2O_6$. Следовательно, они способны задерживаться в тканях в месте введения на срок, достаточно длительный для эффективной лучевой терапии. Таким образом решается проблема высокой скорости выведения оксида тантала из тканей. При этом у образовавшегося в стекле $CaTa_2O_6$ сохраняются такие известные свойства Ta_2O_5 , как рентгеноконтрастность [19] и возможность генерации вторичного излучения [20].

Методом Монте-Карло проведено моделирование генерации вторичного ионизирующего из-

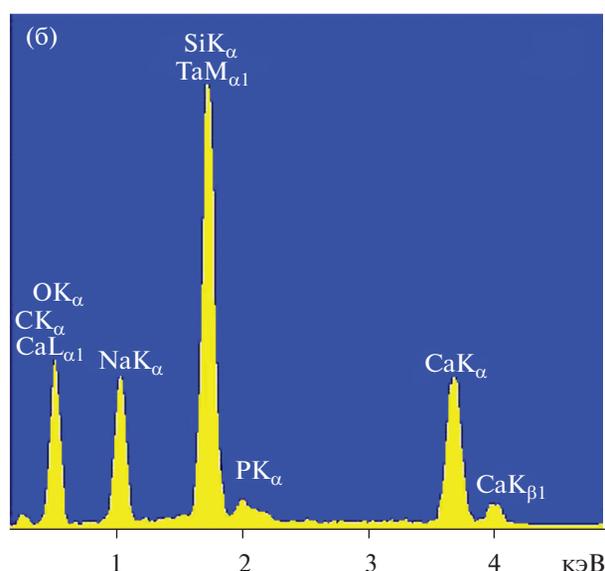
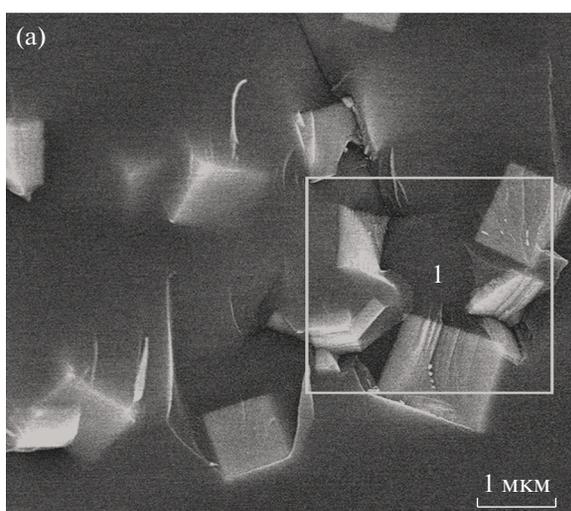


Рис. 2. Микрофотография фрагмента стеклокерамики (а) и ее энергодисперсионный спектр в области сканирования 1 (б).

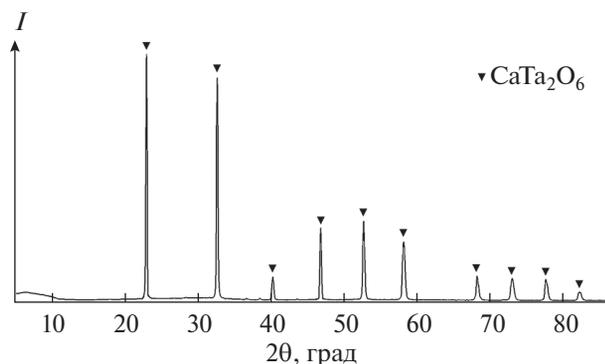


Рис. 3. Дифрактограмма продукта обжига прекурсора, содержащего Ta_2O_5 .

лучения в условиях генерации первичного высокоэнергетического излучения с энергией фотонов 6 МэВ. На рис. 4 представлены показатели генерации вторичного ионизирующего излучения в зависимости от расстояния до поверхности исследуемого образца. Все значения нормированы по отношению к значениям на расстоянии 2 см от поверхности облучаемого объекта, принятого за 100%, соответствующего фоновому значению. Генерация вторичного излучения на стекле, содержащем 20 и 40 мас. % оксида тантала, дает существенную прибавку к генерации вторичного излучения, которая составляет от 69 до 100% на поверхности исследуемого объекта и ~34% на расстоянии 5 мм от поверхности образцов по сравнению с дистиллированной водой. Таким образом, для достижения максимального эффекта необходим непосредственный контакт стеклокерамики, содержащей микрокристаллы $CaTa_2O_6$, со злокачественным новообразованием.

Для экспериментального подтверждения торможения роста перевиваемой животным опухоли

выполнены исследования *in vivo*. Исходя из полученных данных, максимальное значение вторичного излучения получено у поверхности образца стеклокерамики, содержащей 40 мас. % оксида тантала. Тактика эксперимента очевидна: для эффективной лучевой терапии суспензия из композита с максимальным количеством тантала вводится непосредственно в место опухоли.

Результативность введения в опухоль исследуемого препарата оценивали по продолжительности жизни животных в группах с расчетом статистической значимости различий при критическом значении *t*-критерия Стьюдента 2.101 и уровне значимости $\alpha = 0.05$. На рис. 5 представлена зависимость продолжительности жизни животных от способа лечения опухоли. Установлено, что в группе 1 средняя продолжительность жизни животных составила 14.9 ± 3.3 дня, медиана выживаемости – 11 дней (рис. 5). В группе 2 средняя продолжительность жизни животных составила 38.6 ± 3.3 дней, медиана выживаемости – 39 дней. Различие между группами статистически значимо ($t = 4.22$ при $p = 0.000573$). Таким образом, включение в программу лучевой терапии локального введения препарата на основе двухфазной стеклокерамики дало прибавку к выживаемости в 28 дней.

Идея использования стекла как инертной оболочки в онкологии, как уже было отмечено, не нова. В качестве наполнителя стеклянных микросфер использовали иттрий-90 или химиопрепарат доксорубин. Так, при лечении рака печени микросферами с иттрием-90 методом радиоэмболизации у 64 пациентов (создание искусственного радиоактивного тромба в зоне опухоли) позволило статистически значимо увеличить продолжительность жизни до 16.4 месяцев, а у части пациентов (12) – провести хирургическое лечение [14] и продлить среднюю продолжительность

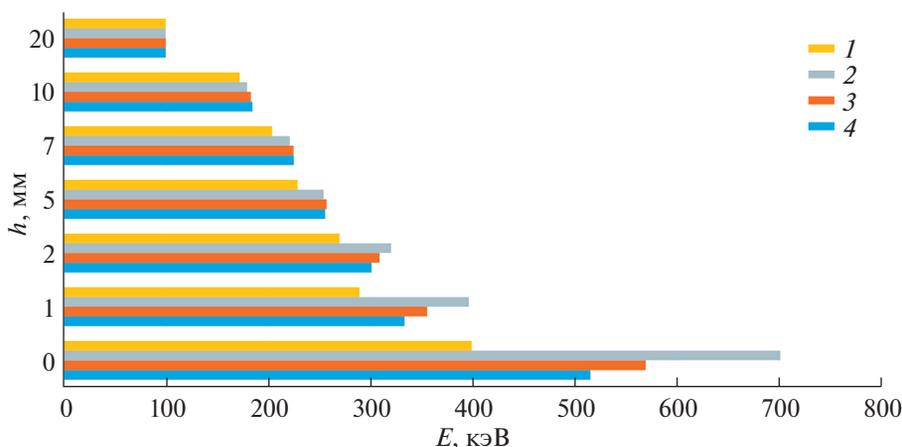


Рис. 4. Показатели генерации вторичного ионизирующего излучения на различных образцах: дистиллированная вода (1), биостекло, содержащее 40 мас. % Ta_2O_5 (2), биостекло, содержащее 20 мас. % Ta_2O_5 (3), биостекло (4).

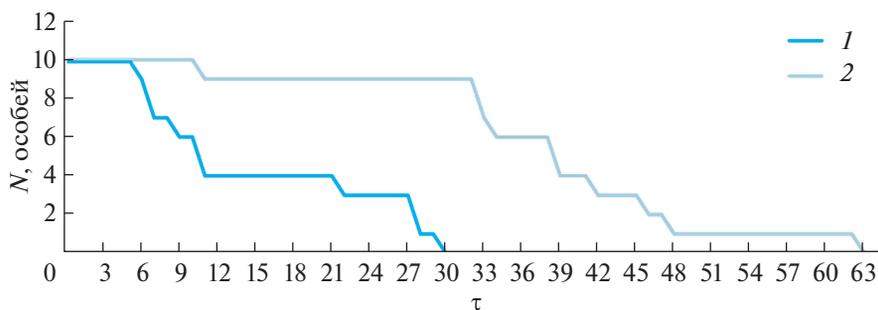


Рис. 5. Кривые выживаемости животных в различных группах: группа 1 (1), группа 2 (2).

жизни до 51.9 месяцев. Использование стеклянных микросфер в качестве средства доставки иттрия-90 было применено у 531 пациента с метастазами колоректального рака в печень. Аналогично использовался метод радиоэмболизации. Применение этого метода позволило увеличить продолжительность жизни пациентов при стандартной терапии с 4.8 до 10.6 мес. [21]. Указанные методы лечения отвечают требованиям локальной лучевой терапии: их вводили местно с использованием ангиографии, формировали высокую концентрацию микросфер в зоне опухоли, однако сами сферы являлись источником ионизирующего излучения, что приводило к естественным ограничениям для их использования. Данных по введению нерадиоактивного препарата непосредственно к опухоли и генерации вторичного излучения при воздействии ионизирующего высокоэнергетического излучения (6 МэВ) на микрочастицах стекла, содержащего тяжелые элементы, в доступной нам литературе не найдено.

На основании современных представлений о тактике лучевой терапии злокачественных новообразований сформулированы требования, которым должен удовлетворять материал для локальной радиомодификации. Это должен быть препарат с размером частиц не более 150 мкм, способный образовывать устойчивую суспензию, пригодную для введения через инъекционную иглу, обладать рентгеноконтрастностью в диапазоне чувствительности компьютерного томографа, содержать достаточно большое (>10% веса) количество тяжелых элементов, генерировать вторичное излучение в области низкоэнергетического рентгеновского спектра (20–100 кэВ), обладать минимальной местной и системной токсичностью и оставаться на месте введения на протяжении длительного (2–6 месяцев) срока лучевой терапии. Экспериментальная суспензия потенциально отвечает указанным требованиям и представляет интерес для дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что применение стеклокерамики, содержащей микрочастицы CaTa_2O_6 , позволяет эффективно проводить лечение злокачественных новообразований. За счет двухфазного состава достигается пролонгированное присутствие препарата в зоне инъекции, что позволяет решить проблему быстрого выведения тантала из организма. Препарат повышает эффективность однократной дозы облучения. Включение в программу лучевой терапии стеклокерамики, содержащей микрокристаллы CaTa_2O_6 , статистически значительно улучшает выживаемость пациентов. Комбинация биостекла и оксида тантала является перспективной платформой для создания препарата для локальной радиомодификации больных злокачественными новообразованиями, которые нуждаются в лучевой терапии. Препарат не представляет угрозы радиоактивного заражения организма и снижает вероятность возникновения лучевых осложнений в здоровых тканях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям в рамках программы “УМНИК”, договор 14221ГУ/2019 от 03.07.2019.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бучилин Н.В., Строганова Е.Е. // Стекло и керамика. 2008. № 8. С. 8.
2. Chen Q.Z., Thompson I.D., Voccacini A.R. // Biomaterials. 2006. V. 27. P. 2414.
3. Hench L., Jones J. Biomaterials Artificial Organs and Tissue Engineering. Woodhead Publishing, 2005. eBook ISBN: 9781845690861
4. Wilson J., Pigott G.H. // J. Biomed. Mater. Res. 1981. V. 15. P. 805.

5. *Owens D.E., Peppas N.A.* // *Int. J. Pharm.* 2006. V. 307. P. 93.
6. *Miguez-Pacheco V., Greenspan D., Hench L.L. et al.* // *Am. Ceram. Soc. Bull.* 2015. V. 94. № 6. P. 27.
7. *Miguez-Pacheco V., Hench L.L., Voccaccini A.R.* // *Acta Biomater.* 2015. V. 13. P. 1.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.11.004>
8. *Grischenko D.N., Papynov E.K., Medkov M.A.* // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2021. V. 55. № 5. P. 1002.
<https://doi.org/10.1134/S0040579521320014>
9. *Medkov M.A., Grishchenko D.N., Kuryavii V.G. et al.* // *Glass and Ceramics.* 2018. V. 75. № 7–8. P. 322. [*Медков М.А., Грищенко Д.Н., Курявый В.Г. и др.* // *Стекло и керамика.* 2018. № 8. С. 40.]
<https://doi.org/10.1007/s10717-018-0079-5>
10. *Grishchenko D.N., Golub A.V., Kuryavii V.G. et al.* // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2021. V. 66. № 10. P. 1592. [*Грищенко Д.Н., Голуб А.В., Курявый В.Г. и др.* // *Журн. неорган. химии.* 2021. Т. 66. № 10. С. 1497.]
<https://doi.org/10.1134/S0036023621100065>
11. *Zhang J., Wang D., Huang W.* // *J. Chinese Ceram. Soc.* 2011. V. 39. № 6. P. 923.
12. *Aspasio R.D., Borges R., Marchi J.* // *Biocompatible Glasses.* 2016. V. 53. P. 249.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-44249-5_10
13. *Velasco M.V., Souza M.T., Crovace M.C. et al.* // *Biomed. Glasses.* 2019. V. 5. № 1. P. 148.
<https://doi.org/10.1515/bglass-2019-0013>
14. *Bourien H., Palard X., Rolland Y. et al.* // *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2019. V. 46. P. 669.
<https://doi.org/10.1007/s00259-018-4199-5>
15. Клиническая дозиметрия. Физико-технические основы / Под ред. Наркевич Б.Я. М.: Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, 2019.
16. *Wieser M.E., Holden N., Coplen T.B. et al.* // *Pure Appl. Chem.* 2013. V. 85. № 5. P. 1047.
<https://doi.org/10.1351/PAC-REP-13-03-02>
17. *Grishchenko D.N., Slobodyuk A.B., Kuryavii V.G. et al.* // *Russ. J. Inorg. Chem.* 2020. V. 65. № 10. P. 1606. [*Грищенко Д.Н., Слободюк А.Б., Курявый В.Г. и др.* // *Журн. неорган. химии.* 2020. Т. 65. № 10. С. 1408.]
<https://doi.org/10.1134/S0036023620100083>
18. *Лукьяненко К.С., Апанасевич В.И., Лагулева А.В. и др.* // *Тихоокеанский медицинский журн.* 2016. Т. 61. № 4. С. 38.
<https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2016.4.38-40>
19. *Medkov M.A., Grishchenko D.N., Dmitrieva E.E. et al.* // *Theor. Found. Chem. Eng.* 2020. V. 54. P. 1005. [*Медков М.А., Грищенко Д.Н., Дмитриева Е.Э. и др.* // *Химическая технология.* 2019. Т. 20. № 7. С. 299.]
<https://doi.org/10.1134/S0040579520050188>
20. *Плотникова О.С., Апанасевич В.И., Медков М.А. и др.* // *Тихоокеанский медицинский журн.* 2020. Т. 4. С. 85.
<https://doi.org/10.34215/1609-1175-2020-4-85-87>
21. *Hickey R., Lewandowski R.J., Prudhomme T. et al.* // *J. Nucl. Med.* 2016. V. 57. № 5. P. 665.
<https://doi.org/10.2967/jnumed.115.166082>