

ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ ЛЕГОВАНИХ МЕТАЛАМИ КАЛЬЦІЙ ФОСФАТІВ АПАТИТОВОГО ТИПУ

Котляр А.М.¹, Онищенко К.С.¹, Струтинська Н.Ю.²

¹КПІ ім. Ігоря Сікорського, kotliar.anastasia@iit.kpi.ua

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Abstract

The cytotoxic properties of nanohydroxyapatites are analyzed. Analysis of literature sources showed that the biocompatibility and cytotoxicity of metal-doped nanohydroxyapatites depend on the type of dopant ion, nanoparticle morphology, and material concentration. The relevance of these materials in biomedical applications is highlighted.

Keywords: *nanohydroxyapatite, cytotoxicity, metal ions, biocompatibility, biomedical materials.*

Вступ. Нанорозмірні кальцій фосфати апатитового типу або наногідроксиапатити (нано-ГАп), які структурно подібні до мінеральної фази кісткової тканини, викликають значний інтерес у сфері біомедичних досліджень [1–3]. Завдяки високій біосумісності та остеокондуктивним властивостям нано-ГАп застосовується у стоматології, ортопедії та тканинній інженерії. Однак для підвищення функціональності нано-ГАп все частіше вдаються до його легування різними мікроелементами зокрема Zn, Ag, Cu, Sr, Ce, Fe, Zr та B, що дозволяє модулювати антибактеріальні, остеогенні, антиоксидантні та протипухлинні властивості матеріалів [3–5]. Особливо цінними є антибактеріальні властивості деяких легованих нано-ГАп, що забезпечують захист від інфекцій навколо імплантатів і підвищують їхню клінічну ефективність [3, 6].

Важливим є розуміння не лише потенційної користі, але й можливих ризиків, пов'язаних із використанням наноматеріалів. Відомо, що наночастинки можуть долати клітинні бар'єри, проникати в ядро, впливати на експресію генів, модифікувати клітинні сигнальні шляхи [1, 2]. Поверхневі властивості, розчинність і вивільнення іонів безпосередньо впливають на життєздатність і функціонування клітин, тому оцінка потенційної цитотоксичності таких матеріалів є актуальною.

Метою роботи є аналіз літературних даних щодо цитотоксичних ефектів легованих металами кальцій фосфатів апатитового типу.

Матеріали та методи. Проведено аналіз сучасних літературних джерел, щодо цитотоксичності нано-ГАп, легованих різними мікроелементами. Основну увагу приділено роботам, що оцінюють біосумісність, цитотоксичність та потенціал застосування таких матеріалів у тканинній інженерії.

Огляд літературних джерел базувався на узагальненні результатів *in vitro* досліджень, що оцінювали біосумісність, цитотоксичність, антибактеріальні властивості та остеогенну активність матеріалів. Особливу увагу приділено даним про життєздатність клітин, рівень оксидативного стресу, апоптоз та результати генотоксикологічних тестів, а також застосування методів імпедансної спектроскопії для моніторингу клітинної проліферації.

Результати та обговорення. Насьогодні найбільш досліджено кальцій-фосфати апатитового типу, леговані різними мікроелементами, зокрема цинку (Zn^{2+}), срібла (Ag^+), міді (Cu^{2+}), стронцію (Sr^{2+}), церію (Ce^{3+}), феруму (Fe^{3+}), цирконію (Zr^{4+}) та бору (B^{3+}) [3–5]. Легування дозволяє модулювати такі властивості матеріалів, як антибактеріальна активність, остеогенна диференціація клітин, антиоксидантний захист і вибіркова протипухлинна дія, що відкриває нові можливості для регенеративної медицини та онкології. Водночас введення металевих іонів може змінювати розчинність наночастинок, інтенсифікувати вивільнення іонів та впливати на клітинну життєздатність, що зумовлює необхідність детального аналізу їхньої цитотоксичності.

Згідно літературних даних, леговані сріблом нано-ГАп у концентраціях понад 100 мкг/мл спричиняють втрату життєздатності клітин MG-63 більш ніж на 60 % [3]. Натомість легування цинком і стронцієм у низьких концентраціях 10–25 мкг/мл позитивно впливає на клітинну активність, стимулюючи експресію остеогенних маркерів ALP, RUNX2 та COL1A1 [5]. Встановлено також антиоксидантний ефект Церію, який сприяє зниженню рівня активних форм кисню і захищає клітини від апоптозу [4].

Важливу роль у формуванні біосумісності відіграють морфологічні характеристики частинок. Наноструктури, синтезовані золь-гель методом, проявляють кращу біосумісність, ніж частинки, отримані осадженням [7]. Core-shell структури з Ag- нано-ГАп, тобто структури, що складаються з матеріалу серцевини, інкапсульованого в матеріалі оболонки, демонструють нижчу токсичність через обмежене вивільнення іонів [3]. Крім того, при зниженні рН середовища посилюється вивільнення металевих іонів, що підвищує загальний рівень токсичності матеріалів [7].

Морфологічні особливості наногідроксиapatитів впливають на біосумісність та остеогенез. У роботі [7] було встановлено, що наночастинки у формі голчастих агрегатів довжиною 50–100 нм стимулюють проліферацію остеобластів та підвищують експресію остеогенних маркерів порівняно із сферичними частинками. Це пов'язано з більшою питомою поверхнею та покращеною адгезією клітин. Автори підкреслюють, що оптимізація форми наночастинок є важливим чинником підвищення їхньої біосумісності та функціональності в тканинній інженерії [7].

У роботі [8] досліджено цитотоксичність паличкоподібного кристалічного нано-ГАп розміром 10–20 нм × 50–100 нм щодо нормальних (ARPE-19, BV-2) та пухлинних (HepG2, HEP-2, A549 та C6) клітин. Встановлено, що нано-ГАп був цитотоксичним щодо пухлинних клітин HEP-2, A549 та C6. Найбільш чутливими були клітини гліоми C6, у яких нано-ГАп призводив до збільшення продуктування активних форм кисню та індукував пошкодження ДНК. У даній роботі також показано, що досліджуваний наногідроксиapatит впливає не тільки на необмежену проліферативну здатність клітин, але й на міграцію клітин – два основні шляхи, які беруть участь у прогресуванні раку. Отримані результати [8] щодо цитотоксичної та антипроліферативної дії нано-ГАп свідчать про його потенціал як альтернативного засобу для терапії гліоми.

У дослідженні [9] було синтезовано Fe-легований нано-ГАп методом гідротермальної обробки при температурі 180 °С упродовж 12 годин з використанням $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ та $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Частинки мали розмір близько 45 нм і проявляли виражені магнітні властивості (6,1 емю/г), що є перспективним для цільової терапії пухлин. Біологічні тести проведені на клітинах MG-63 показали, що при концентраціях до 300 мкг/мл життєздатність клітин була вище 90 %, проте при збільшенні концентрації до 500 мкг/мл спостерігалось її зниження до 68 % та підвищення рівня активних форм кисню на 20 %. Автори підкреслюють перспективність легованих залізом нано-ГАп для магнітно-керованої терапії, особливо в онкології, проте наголошують на необхідності точного контролю дозування для уникнення цитотоксичності [9].

Отримані результати [10] щодо Zr-легованого наногідроксиапатиту методом золь-гель з наступним прожарюванням при температурі 900 °С, свідчать про їхню високу біологічну активність. Частинки сферичної форми розміром 30–40 нм при концентрації 200 мкг/мл підвищували проліферацію мезенхімальних стовбурових клітин на 18 %, тоді як у ракових клітинах легенів проліферація знижувалася на 42 %. ДНК-аналіз (комет-тест) не виявив генотоксичного ефекту у здорових клітинах, що підкреслює перспективність Zr-нано-ГАп для вибіркової онкотерапії [10].

У дослідженні [5] оцінювали вплив розміру та вмісту цинку в Zn-легованих наногідроксиапатитах на остеогенез *in vitro* та *in vivo*. Результати показали, що частинки розміром 20–50 нм з вмістом цинку до 10 % забезпечували високу життєздатність мезенхімальних стовбурових клітин (99–103 %) та значне підвищення остеогенної диференціації. Крім того, *in vivo* дослідження на моделі кісткового дефекту у щурів продемонстрували покращене формування кісткової тканини при використанні Zn-нано-ГАп, що свідчить про їхній потенціал у регенеративній медицині. [5].

У роботі [11] показано, що наночастинки бор-легованого наногідроксиапатиту розміром 20–50 нм (синтезовані при 70 °С з подальшим прожарюванням при 900 °С) у концентрації 0,2–0,6 моль не впливали на життєздатність клітин RAW 264.7 та HUVEC, тоді як концентрація 1 % призводила до зниження їх життєздатності до 70 % та збільшення вироблення оксиду азоту. Ці результати підкреслюють важливість контролю концентрації бору для уникнення цитотоксичних ефектів при використанні борвмісних нано-ГАп у стоматології та ортопедії [11].

Оцінка біологічних властивостей на остеобластах людини Cu/Zn-легованих наногідроксиапатитів (розміром 30–50 нм), синтезованих методом осадження з подальшим прожарюванням, показала, що додавання іонів міді 1–3 % у поєднанні із цинком знижує оксидативний стрес у клітинах і стимулює синтез остеогенних білків. Додавання їх у концентрації до 200 мкг/мл не спричиняло цитотоксичних ефектів, тоді як підвищення концентрації до 500 мкг/мл призводило до посилення утворення активних форм кисню і часткової індукції апоптозу. Таким чином, Cu/Zn-вмісні нано-ГАп також

демонструють потенціал для використання у регенеративній медицині за умови оптимізації дозування [6].

Висновки. Аналіз літературних джерел показав, що біосумісність і цитотоксичність метал-легованих наногідрооксипатитів залежать від типу іона-допantu, морфології наночастинок та концентрації матеріалу. Іони Zn^{2+} , Sr^{2+} і Ce^{3+} сприяють проліферації клітин і остеогенній диференціації, Zr^{4+} забезпечує вибіркoву цитотоксичність до ракових клітин, Fe^{3+} надає матеріалам магнітні властивості, а Ag^+ демонструє антибактеріальну активність. B^{3+} і Cu/Zn -леговані нано-ГАп стимулюють остеогенез у низьких концентраціях, але за високих доз можуть виявляти цитотоксичність. Метал-леговані наногідрооксипатити є перспективними біоматеріалами для регенеративної медицини та онкології, проте потребують подальших *in vivo* токсикологічних досліджень.

Список використаної літератури:

1. New nanobioceramics based on hydroxyapatite for biomedical applications: stability and properties / C. S. Ciobanu et al. *Nanomaterials*. 2025. Vol. 15, no. 3. P. 224. URL: <https://doi.org/10.3390/nano15030224>.
2. Biomimetic approaches for bone tissue engineering / J. Ng et al. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. 2017. Vol. 23, no. 5. P. 480–493. URL: <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2016.0289>.
3. Fabrication of core-shell AgpDAHAp nanoparticles with the ability for controlled release of Ag^+ and superior hemocompatibility / K. Chen et al. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, no. 47. P. 29368–29377. URL: <https://doi.org/10.1039/c7ra03494f>.
4. Nacre-mimetic cerium-doped nano-hydroxyapatite/chitosan layered composite scaffolds regulate bone regeneration via OPG/RANKL signaling pathway / X.-L. Liu et al. *Journal of Nanobiotechnology*. 2023. Vol. 21, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01988-y>.
5. *In vitro* and *in vivo* evaluations of nanocrystalline Zn-doped carbonated hydroxyapatite/alginate microspheres: zinc and calcium bioavailability and bone regeneration / V. R. Martinez-Zelaya et al. *International Journal of Nanomedicine*. 2019. Volume 14. P. 3471–3490. URL: <https://doi.org/10.2147/ijn.s197157>.
6. Scalable fabrication of freely shapable 3D hierarchical Cu-doped hydroxyapatite scaffolds via rapid gelation for enhanced bone repair / H. Yang et al. *Materials Today Bio*. 2024. Vol. 29. P. 101370. URL: <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.101370>.
7. Huang L.-H., Sun X.-Y., Ouyang J.-M. Shape-dependent toxicity and mineralization of hydroxyapatite nanoparticles in A7R5 aortic smooth muscle cells. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55428-9>.
8. Nanohydroxyapatite exerts cytotoxic effects and prevents cellular proliferation and migration in glioma cells / R. M. Gorjod et al. *Toxicological sciences*. 2019. Vol. 169, no. 1. P. 34–42. URL: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfz019>.
9. Saroj S., Vijayalakshmi U. Structural, morphological and biological assessment of magnetic hydroxyapatite with superior hyperthermia potential for orthopedic applications. *Scientific Reports*. 2025. Vol. 15, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87111-7>.
10. Biological evaluation of hydroxyapatite zirconium nanoparticle as a potential radiosensitizer for lung cancer X-ray induced photodynamic therapy / A. Kurniawan et al. *Applied Radiation and Isotopes*. 2025. Vol. 217. P. 111615. URL: <https://doi.org/10.1016/j.apradiso.2024.111615>.
11. Investigation of cytotoxicity and antibacterial effect of boron-containing nano-hydroxyapatite / N. Aydın et al. *Journal of Stomatology*. 2024. URL: <https://doi.org/10.5114/jos.2024.139890>.