

Исследование биосовместимости и противоопухолевой цитотоксической активности *in vitro* упрочненных равноканальным угловым прессованием сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca

Н.С. Мартыненко¹, Н.Ю. Анисимова¹⁻³, О.В. Рыбальченко¹, М.В. Шинкарева³, Д.Р. Темралиева¹, К.М. Новрузов², А.Г. Рааб⁴, Е.А. Лукьянова¹, Е.А. Корнюшенков², Д.В. Филоненко⁵, Д.Е. Митрушкин², С.В. Добаткин¹

¹ФГБУН «Институт металлургии и материаловедения им. А.А. Байкова РАН»; Россия, 119334 Москва, Ленинский пр-т, 49;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»; Россия, 119049 Москва, Ленинский пр-т, 4;

⁴ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»; Россия, 450076 Уфа, ул. Заки Валиди, 32;

⁵отдел общей онкологии ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы»; Россия, 111123 Москва, шоссе Энтузиастов, 86

Контакты: Наталья Сергеевна Мартыненко nataliasmartynenko@gmail.com

Введение. Исследована биологическая активность биodeградируемых сплавов на основе цинка, перспективных для онкоортопедии. Сплавы были обработаны методом равноканального углового прессования, что позволило повысить их прочность за счет измельчения микроструктуры и способность обеспечить функциональность остеосинтеза, фиксированного за счет разрабатываемой на их основе металлоконструкции.

Цель исследования – изучить влияние обработки методом равноканального углового прессования на прочность, пластичность, скорость деградации, биосовместимость *in vitro* и цитотоксичность относительно опухолевых клеток линии SKOV-3 сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования были использованы сплавы Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca в исходном состоянии и после равноканального углового прессования, а в качестве модельных систем – клетки крови мышей линии СВА. Для оценки гемолитической активности образцы инкубировали с эритроцитами в течение 4 и 24 ч при 37 °С, оценивая относительное увеличение уровня внеклеточного гемоглобина в сравнении с интактным контролем. Цитотоксичность сплавов оценивали по изменению уровня активности внеклеточной лактатдегидрогеназы после 24 ч инкубации с мононуклеарными лейкоцитами. Исследование противоопухолевой цитотоксической активности производили на клетках рака яичников человека линии SKOV-3 *in vitro*, оценивая их выживаемость через 48 ч инкубации с образцами сплавов в тесте лактатдегидрогеназы.

Результаты. В результате проведенных исследований был сделан вывод о том, что исследуемые сплавы после обработки равноканальным угловым прессованием сохранили биосовместимость, поскольку не было выявлено признаков гемолиза и цитотоксичности относительно клеток крови. Однако контакт с образцами всех изученных сплавов *in vitro* индуцировал достоверное угнетение метаболической активности культуры клеток рака яичников в сравнении с контролем. Инкубация с образцами приводит к снижению клеточной активности в среднем на 49 и 59 % для сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca, соответственно. Добавка в состав сплава Zn – 1 %Mg кальция способствовала росту противоопухолевой цитотоксической активности.

Заключение. Таким образом, основываясь на результатах оценки гемолитической активности и цитотоксичности образцов, можно сделать вывод о биосовместимости изученных сплавов. Выявлено, что сплавы Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca обладали выраженным цитотоксическим воздействием относительно опухолевых клеток линии SKOV-3. Полученные данные указывают на перспективность разработки на основе изучаемых сплавов медицинских изделий нового типа, перспективных, в частности, для онкоортопедии: разработанная на их основе металлоконструкция может обеспечить прочность остеосинтеза, снизить риск локального рецидива онкологического заболевания и не требует повторной операции для удаления.

Ключевые слова: цинковые сплавы, равноканальное угловое прессование, имплантат, биodeградация, биосовместимость, цитотоксичность

Для цитирования: Мартыненко Н.С., Анисимова Н.Ю., Рыбальченко О.В. и др. Исследование биосовместимости и противоопухолевой цитотоксической активности *in vitro* упрочненных равноканальным угловым прессованием сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(3):64–74. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-64-74

Study of biocompatibility and antitumor cytotoxic activity *in vitro* of Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys strengthened by equal angular pressing

Natalia S. Martynenko¹, Natalia Yu. Anisimova^{1–3}, Olga V. Rybalchenko¹, Maria V. Shinkareva³, Diana R. Temralieva¹, Keryam M. Novruzov², Arseny G. Raab⁴, Elena A. Lukyanova¹, Evgeny A. Korniyushenkov², Dmitriy V. Filonenko⁵, Dmitriy E. Mitrushkin², Sergey V. Dobatkin¹

¹A.A. Baikov Institute of Metallurgy and Materials Science of the Russian Academy of Sciences; 49 Leninskiy Prospekt, Moscow 119334, Russia;

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

³National University of Science and Technology “MISIS”; 4 Leninskiy Prospekt, Moscow 119049, Russia;

⁴Ufa University of Science and Technology; 32 Zaki Validi St., Ufa 450076, Russia;

⁵General Oncology Department of the A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; 86 Entuziastov Shosse, Moscow 111123, Russia

Contacts: Natalia Sergeevna Martynenko nataliasmartynenko@gmail.com

Introduction. The biological activity of potential biodegradable zinc-based alloys that are promising for onco-orthopedics was studied in this work. The alloys were processed by equal-channel angular pressing, which made it possible to increase their strength due to microstructure refinement and the ability to provide the functionality of osteosynthesis, fixed due to the metal structure developed on their basis.

Aim. Investigation of effect of equal-channel angular pressing (ECAP) treatment on strength, ductility, degradation rate, biocompatibility *in vitro* and cytotoxicity against SKOV-3 tumor cells of the Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys.

Materials and methods. The Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys in the initial state and after ECAP were used as objects of study, and blood cells of CBA mice were used as model systems. To assess the hemolytic activity, the samples were incubated with red blood cells for 4 and 24 hours at 37 °C, assessing the relative increase in the level of extracellular hemoglobin compared to the intact control. The cytotoxicity of the alloys was assessed by the change in the level of extracellular lactate dehydrogenase (LDH) activity after 24 hours of incubation with mononuclear white blood cells. The study of antitumor cytotoxic activity was carried out on human ovarian cancer cells of the SKOV-3 line *in vitro*, assessing their survival after 48 hours of incubation with alloy samples using the LDH test.

Results. As a result of the studies, it was concluded that the studied alloys after ECAP treatment retained their biocompatibility, since there were no signs of hemolysis and cytotoxicity with respect to blood cells. However, contact with samples of all studied alloys *in vitro* induced a significant inhibition of the metabolic activity of the ovarian cancer cell culture in comparison with the control. Incubation with alloys samples leads to a decrease in cellular activity by an average of 49 % and 59 % for Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys, respectively. The addition of calcium to the composition of the alloy Zn – 1 %Mg contributed to the growth of antitumor cytotoxic activity.

Conclusion. Thus, based on the results of assessing the hemolytic activity and cytotoxicity of the samples, we can conclude that the studied alloys are biocompatible. It was also found that Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys had a pronounced cytotoxic effect on SKOV-3 tumor cells. The obtained data indicate the prospects for the development of a new type of medical devices based on the studied alloys, promising, in particular, for oncoorthopedics: a metal structure developed on their basis can ensure the strength of osteosynthesis, reduce the risk of local recurrence of oncological disease and does not require a second operation to remove the device.

Keywords: zinc alloys, equal channel angular pressing, implant, biodegradation, biocompatibility, cytotoxicity

For citation: Martynenko N.S., Anisimova N.Yu., Rybalchenko O.V. et al. Study of biocompatibility and antitumor cytotoxic activity *in vitro* of Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys strengthened by equal angular pressing. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2023;22(3):64–74. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-64-74

Введение

Идея создания биоразлагаемых изделий медицинского назначения, которые деградировали бы в теле пациента после выполнения необходимых функций, рассматривается учеными уже не одно десятилетие [1–3]. Одними из первых материалов, которые были предложены для этих целей, были биоразлагаемые полимеры [4]. Однако, несмотря на биосовместимость, низкий уровень их механических характеристик не позволяет создавать из них конструкции, которые предполагается эксплуатировать в условиях повышенных нагрузок, например имплантаты для остеосинтеза. Именно поэтому пристальный интерес ученых и медиков вызвали биоразлагаемые металлы, которые наряду с биосовместимостью обладают высокими механическими характеристиками. Среди металлов, способных разлагаться, выбор пал на металлы, которые могут безопасно метаболизироваться организмом и в виде микроэлементов необходимы организму для нормального функционирования, в частности такие как Mg, Fe и Zn. Сплавы на основе магния удовлетворяют требованиям биосовместимости и характеризуются модулем упругости, близким к модулю упругости кости [5]. Железосодержащие сплавы, кроме биосовместимости, обладают высокими прочностными свойствами [6]. Вместе с тем и железные, и магниевые сплавы обладают определенными недостатками. Так, магниевые сплавы демонстрируют высокую скорость деградации, сопровождающуюся выделением водорода. Несмотря на различные мнения о неблагоприятном влиянии на организм газов, скапливающихся вокруг имплантатов, полностью игнорировать их потенциальный вред нельзя [7, 8]. В случае сплавов на основе железа наблюдается образование объемных продуктов деградации, которые могут инкапсулироваться в организме и вызывать воспалительные реакции [9]. Сплавы на основе железа обладают низкой скоростью деградации, что приводит к тому, что имплантат остается в организме пациента на длительный срок уже после завершения его терапевтического эффекта. Цинковые сплавы лишены таких недостатков, как газообразование и образование объемных продуктов деградации. Кроме того, цинк является важным микроэлементом и участвует в метаболических процессах организма человека [10, 11]. При разработке имплантатов на основе цинка следует учитывать то, что передозировка цинка (более 100–300 мг/день) может вызывать тошноту, рвоту, боль в животе и нарушать иммунную функцию [12]. При этом скорость деградации сплавов на основе цинка (~0,1–0,5 мм/год) при отсутствии ярко выраженной дисфункции органов выделения, как предполагается, не способна индуцировать системное накопление в организме токсической дозы этого микроэлемента [13]. Ра-

нее D. Vojtěch и соавт. установили, что доля ионов Zn^{2+} , высвобождающихся в процессе деградации чистого цинка, незначительна по сравнению с максимальным допустимым биологическим пределом [14].

Одной из первых работ, направленных на исследование биосовместимости цинка, была статья P.K. Bowen, J. Drelich, J. Goldman [15]. После имплантации цинковой проволоки в брюшную аорту крысы на 1, 3, 4, 5 и 6 мес авторы не сообщали о наличии воспалительных процессов и отторжений. Более детальное исследование биосовместимости *in vivo* в рамках данной биологической модели было проведено в работе [16]. Это исследование показало превосходную биосовместимость образцов на основе цинка с тканью аорты. Авторы не наблюдали воспалительных реакций и локального некроза, напротив, отмечали регенерацию ткани вокруг частично деградировавшего имплантата [16]. Следующим шагом на пути создания изделий медицинского назначения на основе цинка стало исследование влияния различных элементов на его биосовместимость. S. Du и соавт. показали то, что добавка таких редкоземельных металлов (РЗМ), как La, Ce и Nd, вызывала более выраженную остеоинтеграцию по сравнению с чистым Zn при имплантации пятимесячным самцам новозеландских кроликов [17]. Сплав Zn – 0,8 %Sr оказывал схожий эффект и способствовал остеогенезу [18]. В то же время в исследованиях, проведенных на сплаве Zn – 0,5 %Mn, обнаружено, что имплантация штифтов в проксимальный отдел большеберцовой кости способствует восстановлению поврежденного костного мозга и не приводит к воспалениям тканей и повреждению печени и почек [19]. Кроме того, существует ряд работ, свидетельствующих о том, что оксид цинка обладает противоопухолевой цитотоксической активностью [20, 21]. Известны публикации, в которых продемонстрировано, что такие РЗМ, как Gd, Nd, Eu и La, могут проявлять противоопухолевый эффект [22–24]. Сообщается также, что противоопухолевый эффект могут демонстрировать Mg [25, 26] и Ca [27], характеризующиеся оптимальной биосовместимостью. Из этого следует, что, варьируя состав сплава на основе цинка, можно создавать изделия различного назначения: не только коронарные стенты и имплантаты для остеосинтеза, но также и изделия для онкоортопедии. Однако в случае применения цинковых сплавов в качестве несущего каркаса при травмах и заболеваниях костей следует учитывать их низкие механические характеристики. В таком случае применение предварительной деформационной обработки (например, равноканального углового прессования (РКУП) [28]) для повышения прочности сплавов на основе Zn является необходимой частью разработки готового изделия.

Учитывая изложенное, **цель** настоящего **исследования** заключалась в исследовании влияния обработки методом РКУП на прочность, пластичность, скорость деградации, биосовместимость *in vitro* и цитотоксичность относительно опухолевых клеток линии SKOV-3 сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca.

Материалы и методы

Материалы. Объектами исследования в данной работе являлись 2 сплава: Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca, обладающие потенциалом для разработки на их основе медицинских изделий. Для улучшения механических характеристик изучаемых сплавов их подвергали деформационной обработке методом РКУП, который проводили по маршруту Вс при температуре 300 °С на установке с углом пересечения каналов, равным 120°. Для обоих сплавов проводили по 8 проходов РКУП, что соответствовало степени деформации, равной 6,4.

Исследование механических свойств. Исследование механических характеристик проводили на испытательной машине Instron 3382 (Instron Corp., США) при комнатной температуре. Испытания проводили на плоских образцах с площадью поперечного сечения 2 мм × 1 мм и рабочей длиной равной 5,75 мм.

Подготовка образцов к исследованию деградации и биологических свойств. Для исследований использовали образцы в форме 1/4 диска диаметром 10 мм и толщиной около 1 мм. Перед началом проведения исследований образцы погружали на 2 ч в 60 % этаноле (водный раствор), а затем высушивали в стерильных условиях.

Исследование скорости деградации. Исследования скорости деградации проводили методом потери массы в питательной среде на основе RPMI-1640 («ПанЭко», Россия), дополненной 10 % фетальной телячьей сывороткой (HyClone™, США), 4 мМ L-глутамина («ПанЭко», Россия) и 1 % пенициллин-стрептомицина («ПанЭко», Россия). Образцы, предварительно обработанные погружением в этанол, как было описано выше ($n = 9$ для каждого сплава), выдерживали в инкубационной среде при 37 °С в течение 1, 3 и 7 сут. Среду для инкубации меняли свежей порцией каждые 2 сут. После извлечения образцов их промывали в 10 % водном растворе персульфата аммония ((NH₄)₂S₂O₈) в течение 5 мин для удаления продуктов деградации. Затем образцы тщательно высушивали в стерильной среде и взвешивали на электронных весах Sartorius pro 11 (Data Weighing Systems, США). Значение скорости деградации (DR) рассчитывалось по формуле [29]

$$DR = 8,76 \times 10^4 \times \frac{m_0 - m_f}{A \times t \times \rho},$$

где DR – скорость коррозии, мм/год; m_0 – исходная масса, г; m_f – конечная масса, г; t – время погружения, ч; A – площадь поверхности образца, см²; ρ – плотность сплава, г/см³.

Исследование параметров биосовместимости *in vitro*. С этой целью оценивали гемолитическую активность и цитотоксичность образцов сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca в форме 1/4 диска диаметром 10 мм (не менее чем 6 образцов каждого типа). Перед проведением испытаний все образцы стерилизовали, как указано выше, и исследовали согласно методам, описанным ранее [30]. В качестве биологических моделей использовали клетки крови мышей линии C57BL/6. В частности, для оценки гемолитической активности образцы инкубировали в 2 мл ростовой среды на основе RPMI-1640 с эритроцитами в течение 4 и 24 ч при температуре 37 °С в атмосфере с 5 % углекислым газом, а затем рассчитывали отношение измеренной с помощью планшетного ридера Spark (Tecan, США) при 540 нм оптической плотности внеклеточной среды в лунках с образцами сплавов к контролю, выраженное в процентах. Цитотоксичность оценивали после 24 ч инкубации образцов сплавов в питательной среде с монулекарными лейкоцитами в описанных условиях, путем оценки уровня активности внеклеточной лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Релиз ЛДГ лейкоцитов во внеклеточную среду изучали путем оценки активности ЛДГ в культуральной среде с использованием набора Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit (Thermo Scientific™, США) в соответствии с инструкцией производителя с последующим расчетом отношения величин, измеренных при 450 против 620 нм в среде инкубации образцов сплавов и в контроле, выраженного в процентах. В качестве контролей использовали клетки, которые культивировали без образцов сплавов в аналогичных условиях.

Исследование противоопухолевой цитотоксичности *in vitro*. Исследования проводили на клетках рака яичников человека линии SKOV-3 (коллекция ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России). Выбор данной биологической модели обусловлен тем, что в клинической практике рак яичников часто является причиной вторичного поражения костей вследствие метастатического распространения клеток первичного опухолевого узла. Это влечет необходимость проведения остеореконструктивных операций после резекции тканей костей, разрушенных опухолью. Образцы сплавов обрабатывали этанолом и высушивали, как описано выше.

Культуру опухолевых клеток в логарифмической фазе обрабатывали раствором Версена («ПанЭко», Россия), отмывали средой RPMI-1640, ресуспендировали в свежей порции ростовой среды и наносили на поверхность образцов сплавов (использовали

не менее трех образцов каждого типа) в объеме 20 мкл на образец (7600 ± 100 клеток). В контроле клеточную суспензию в объеме 20 мкл наносили на дно лунки планшета. После 30 мин культивации клеток при 37°C в атмосфере 5 % углекислого газа во все лунки добавляли по 2 мл полной ростовой среды и инкубировали в течение 3 сут для оценки пролиферации и клеточной колонизации при соблюдении указанных условий. Влияние сплавов на выживаемость опухолевых клеток оценивали, рассчитывая отношение активности ЛДГ клеток на поверхности образцов к контролю. Для документирования роста опухолевых клеток на поверхности образцов сплавов их окрашивали Calcein AM (Sigma, США) и пропидием йодидом с помощью набора Live/Dead Kit (Sigma, США) в соответствии с инструкцией производителя, а затем изучали методом флуоресцентной микроскопии с помощью цифрового микроскопа LionHeart LX (Perkin Elmer, США).

Статистический анализ данных. Результаты исследований представлены в виде среднего значения и стандартной девиации измеренных величин. Сравнительный анализ межгрупповых данных проводили с использованием t-критерия. Различия учитывали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты

Механические свойства. Сплавы, предназначенные для создания конструкций для остеосинтеза, должны обладать высоким уровнем прочности, поэтому целесообразно проводить деформационную обработку, направленную на повышение прочности данных материалов. В нашем случае в качестве способа повышения прочностных характеристик исследуемых сплавов было выбрано РКУП. Данная обработка за счет изменения микроструктуры материала приводит к изменению его механических свойств. В таблице представлены результаты исследования

механических свойств сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca до и после РКУП.

Применение РКУП приводит к росту прочности и пластичности обоих исследуемых сплавов. В случае сплава Zn – 1 %Mg РКУП приводит к росту предела прочности со 156 ± 3 МПа в исходном состоянии до 197 ± 9 МПа. При этом наблюдается рост пластичности с $0,2 \pm 0,1$ до $4,0 \pm 0,3$ %. В сплаве Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после РКУП также наблюдается рост прочности и пластичности. В этом случае предел прочности растет со 154 ± 5 до 209 ± 6 МПа при росте относительного удлинения с $0,4 \pm 0,1$ до $3,2 \pm 1,0$ %. Дальнейшие исследования были проведены на сплавах после обработки РКУП.

Скорость деградации. На рис. 1 представлены результаты исследования деградации сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после обработки РКУП в среде на основе RPMI-1640. Исследования показали то, что добавка Ca в сплав Zn – 1 %Mg не влияет на его коррозионную стойкость. Однако в случае обоих сплавов с увеличением времени инкубации скорость деградации замедляется. Так, скорость деградации после 1 сут инкубации в среде составила $0,82 \pm 0,04$ и $0,83 \pm 0,01$ мм/год для сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca соответственно. Увеличение длительности инкубации сплавов до 3 сут приводит к снижению данных значений до $0,29 \pm 0,01$ и $0,26 \pm 0,03$ мм/год соответственно. После 7 сут выдержки в растворе средняя скорость деградации снизилась до $0,13 \pm 0,03$ мм/год для сплава Zn – 1 %Mg и $0,13 \pm 0,01$ мм/год – для сплава Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca.

Биосовместимость in vitro. Результат исследования гемолитической активности показал то, что изучаемые сплавы не индуцировали статистически достоверного повреждения мембран эритроцитов после 4 и 24 ч инкубации (рис. 2). Однако, сравнивая свойства образцов сплавов разного состава, можно заметить тенденцию нарастания гемолиза под влиянием образцов сплава

Механические свойства сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca до и после равноканального углового прессования (РКУП)

Mechanical properties of the Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys before and after equal-channel angular pressing (ECAP)

Материал и его обработка Material and its processing		Предел текучести, МПа Yield stress, MPa	Предел прочности, МПа Ultimate tensile strength, MPa	Удлинение, % Elongation, %
Zn – 1 %Mg	Отжиг Annealing	153 ± 7	156 ± 3	$0,2 \pm 0,1$
	РКУП ECAP	164 ± 9	197 ± 9	$4,0 \pm 0,3$
Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca	Отжиг Annealing	135 ± 13	154 ± 5	$0,4 \pm 0,1$
	РКУП ECAP	179 ± 6	209 ± 6	$3,2 \pm 1,0$

Zn – 1 %Mg в сравнении с эффектом сплава Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca ($p > 0,05$).

Изучение цитотоксичности относительно лейкоцитов крови продемонстрировало то, что присутствие обоих изученных сплавов в среде инкубации не приводило к достоверному повышению активности внеклеточной ЛДГ в сравнении с контролем ($p > 0,05$) (рис. 3). Отсутствие признаков индуцированного релиза ЛДГ во внеклеточную среду свидетельствует о сохранении его локализации в цитозоле клетки на протяжении всего периода коинкубации с образцами

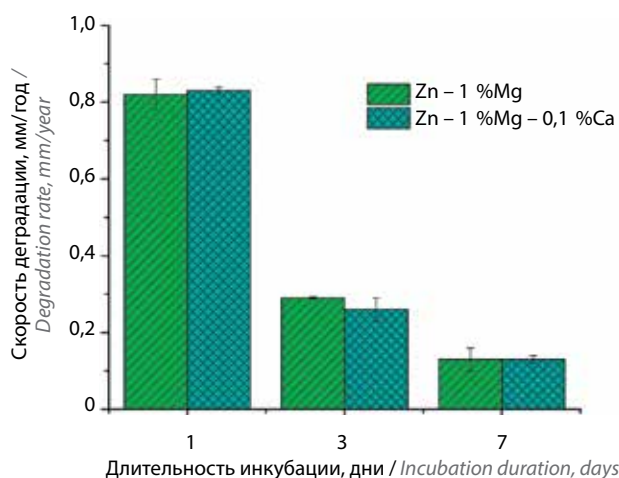


Рис. 1. Скорость деградации сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после обработки равноканальным угловым прессованием при инкубации в среде на основе RPMI-1640 в течение 1, 3 и 7 сут

Fig. 1. The degradation rate of the Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys after equal-channel angular pressing treatment during incubation in a medium based on RPMI-1640 for 1, 3 and 7 days

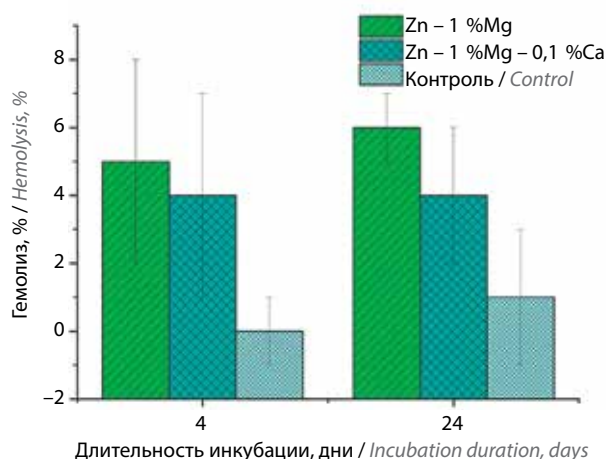


Рис. 2. Гемолитическая активность сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после обработки РКУП в сравнении с контролем

Fig. 2. Hemolytic activity of the Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys after equal-channel angular pressing treatment in comparison with control

сплавов, что позволяет сделать вывод об отсутствии признаков повреждения клеточных мембран модельных иммунных клеток под воздействием изучаемых сплавов.

Приведенные результаты не выявили признаков повреждения клеток крови вследствие контакта *in vitro* с изучаемыми сплавами Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после РКУП. Таким образом, можно сделать вывод о том, что введение кальция в состав

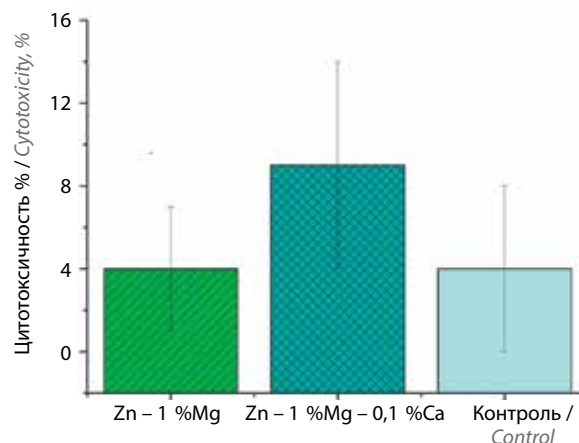


Рис. 3. Изучение цитотоксичности сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca по результатам регистрации уровня внеклеточной активности лактатдегидрогеназы лейкоцитов крови человека после инкубации с изученными образцами в сравнении с контролем

Fig. 3. The study of the cytotoxicity of the Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys based on the results of registration of the level of extracellular activity of lactate dehydrogenase in human white blood cells after incubation with the studied samples in comparison with the control

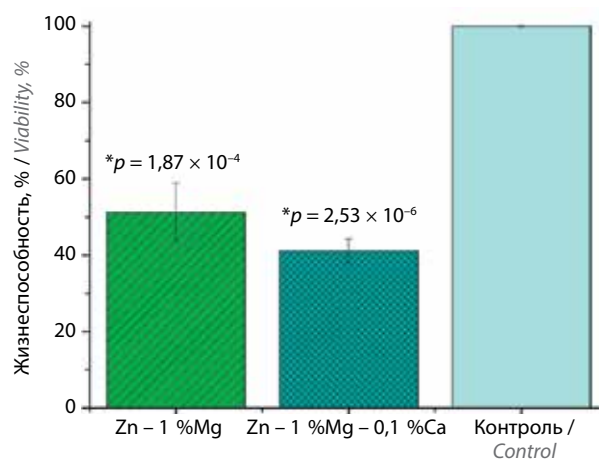


Рис. 4. Подавление выживаемости опухолевых клеток линии SKOV-3 после инкубации на поверхности сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca после обработки равноканальным угловым прессованием в сравнении с контролем (интактные клетки) *in vitro*, $*p < 0,05$

Fig. 4. Viability suppression of SKOV-3 tumor cells after incubation on the surface of Zn – 1 %Mg and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca alloys after equal-channel angular pressing treatment in comparison with the control (intact cells) *in vitro*, $*p < 0.05$

сплава Zn – 1 %Mg и деформационная обработка методом РКУП не индуцируют изменение их биосовместимости.

Противоопухолевая цитотоксичность *in vitro*. Результаты оценки проявлений специфической биоактивности разработанных сплавов в виде цитотоксического воздействия на опухолевые клетки представлены на рис. 4 и 5. Полученные результаты показывают то, что контакт с обоими сплавами угнетает выживаемость опухолевых клеток (рис. 4). На это указывает достоверное снижение результатов ЛДГ-теста, основанного на оценке метаболической активности клеточной культуры после инкубации на поверхности образцов сплавов в сравнении с контролем, а также микрофотографии, приведенные на рис. 5. После обработки РКУП сплав Zn – 1 %Mg угнетал клеточную активность в среднем на 49 %, а Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca на 59 %. Изучение клеток на поверхности сплавов с использованием флуоресцентной микроскопии позволило прийти к сходным выводам. В сравнении с контролем можно увидеть значительное повышение концентрации в культуре нежизнеспособных клеток с поврежденной цитоплазмой, а также драматичное снижение абсолютного количества живых клеток на поверхности образцов сплавов. Эти признаки были особенно выражены на образцах сплава Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca.

Обсуждение

В настоящей работе было проведено исследование механических характеристик, скорости деградации, отдельных параметров биосовместимости и цитотоксической противоопухолевой активности сплавов Zn – 1 %Mg и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca,

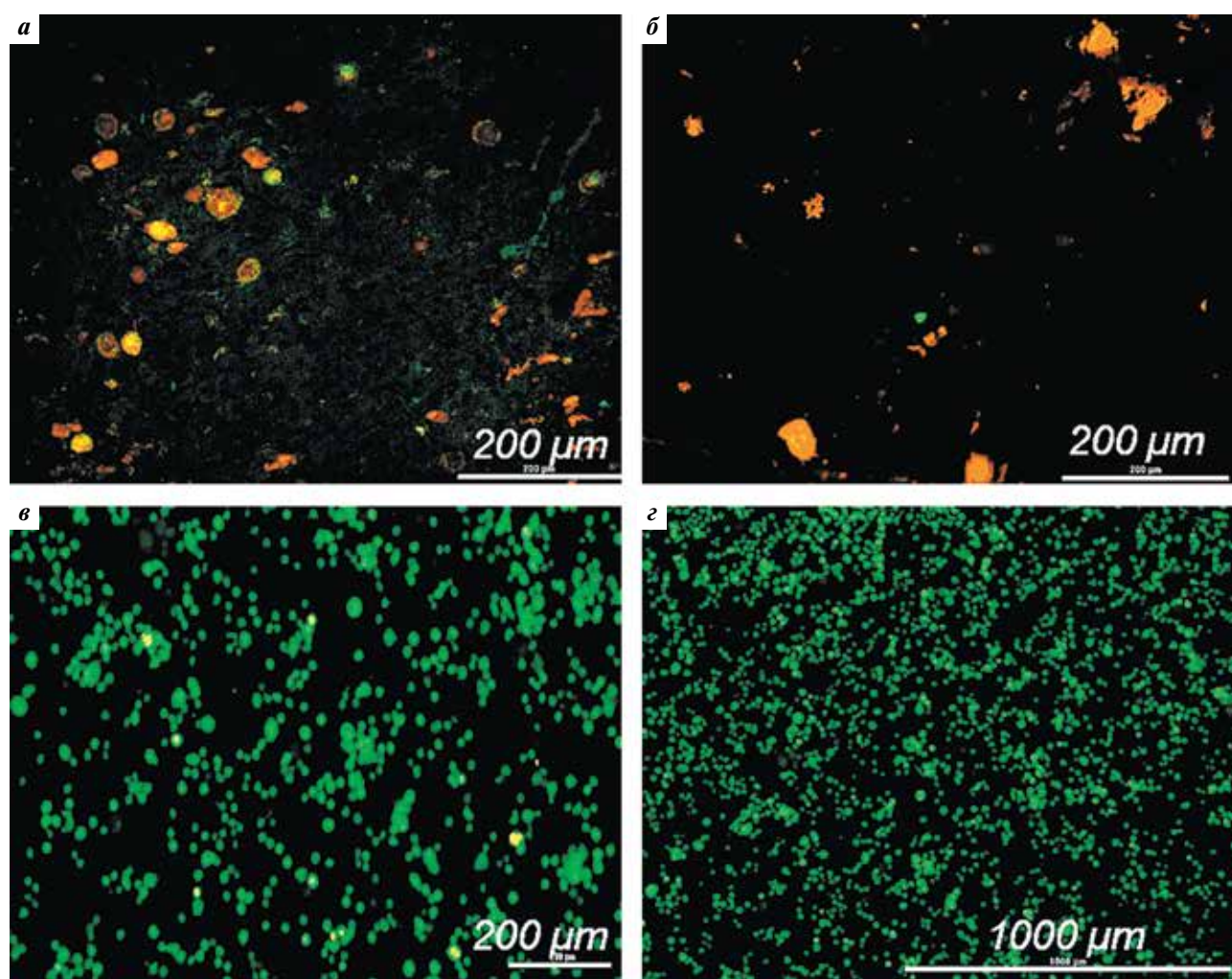


Рис. 5. Микрофотографии опухолевых клеток линии SKOV-3 на поверхности образцов сплавов Zn – 1 %Mg (а, в) и Zn – 1 %Mg – 0,1 %Ca (б, г) после 3 дней инкубации. Окраска Calcein AM и пропидием йодидом для визуализации живых (зеленый цвет) и клеток с поврежденной мембраной (красный цвет) соответственно

Fig. 5. Micrographs of tumor cells of the SKOV-3 line on the surface of Zn – 1 %Mg (a, c) and Zn – 1 %Mg – 0.1 %Ca (b, d) alloys samples after 3 days of incubation. Calcein AM and propidium iodide staining to visualize live (green) and membrane-damaged (red) cells, respectively

упрочненных РКУП. Исследования подтвердили то, что применение обработки с помощью РКУП позволяет повысить прочность обоих исследованных сплавов на 20–25 % при повышении пластичности на порядок. Рост механических характеристик вызван изменениями, происходящими в структуре и текстуре сплавов в процессе деформационной обработки. Ранее X. Zhuo и соавт. показали то, что РКУП сплава $Zn - 0,4 \%Mg - 0,02 \%Mn$ приводит к росту прочности со $126,0 \pm 4,4$ до $194,5 \pm 4,3$ МПа при росте пластичности с $1,7 \pm 0,1$ до $9,8 \pm 1,1$ % [31]. Было также доказано то, что формирование однородной измельченной микроструктуры и наклоненной базисной текстуры после РКУП приводило к росту прочности и пластичности сплава $Zn - 1,5 \%Mg - 0,3 \%Y$ [32].

При исследовании процессов деградации обнаружено то, что добавка 0,1 %Ca не приводит к изменению скорости деградации сплава $Zn - 1 \%Mg$. При этом увеличение срока инкубации с 1 до 3 дней в 2 раза уменьшает скорость деградации. После инкубации в течение 7 дней скорость деградации обоих сплавов снижается еще вдвое. Снижение скорости деградации может быть связано с постепенным разрастанием на поверхности образцов пленки, состоящей из продуктов деградации сплавов. K. Niu и соавт. [33] исследовали разрастание пленки продуктов деградации на сплавах $Zn - 4 \%Ag$, $Zn - 4 \%Ag - Cu$ и $Zn - 4 \%Ag - Mn$ после инкубации в растворе Хенкса. Исследования подтвердили, что на начальных этапах деградации на поверхности образцов образовывались точечные очаги продуктов коррозии, которые при увеличении срока эксперимента превращались в пленку толщиной 50,5; 75,7 и 230,3 мкм для сплавов $Zn - 4 \%Ag$, $Zn - 4 \%Ag - Cu$ и $Zn - 4 \%Ag - Mn$ соответственно. Исследования, проведенные на чистом цинке и сплавах $Zn - 3 \%Ag$ и $Zn - 3 \%Ag - 0,5 \%Mg$, также согласуются с нашими результатами. Так, потеря массы чистого Zn и сплавов $Zn - 3 \%Ag$, $Zn - 3 \%Ag - 0,5 \%Mg$ после 14 дней инкубации в растворе Хенкса составляла $32,5 \pm 2,0$, $26,1 \pm 0,6$ и $29,3 \pm 3,3$ мкм/год. После 30 дней испытаний процесс деградации замедлился до $10,4 \pm 0,8$, $15,3 \pm 3,9$ и $14,5 \pm 1,6$ мкм/год для чистого Zn, $Zn - 3 \%Ag$, $Zn - 3 \%Ag - 0,5 \%Mg$ соответственно [34]. Кроме того, стоит подчеркнуть, что полученное нами значение скорости деградации сплавов близко к скорости, заявляемой как «идеальная» скорость деградации биорезорбируемого имплантата. Ранее было показано, что скорость деградации $\sim 0,5$ мм/год является наиболее приемлемой с точки зрения обеспечения одновременного постепенного рассасывания изделия и сохранения его несущей способности [35].

Проведенные исследования биосовместимости в условиях *in vitro* не выявили значимого увеличения гемолитической активности эритроцитов крови и уг-

нетения жизнеспособности лейкоцитов крови человека ($p > 0,05$), что указывает на отсутствие признаков повреждения клеток крови под влиянием изученных сплавов цинка после обработки РКУП. Полученные данные хорошо согласуются с ранее выполненными исследованиями. Исследования гемосовместимости других сплавов цинка, например $Zn - 2 \%Cu - 0,2 \%Mn - Li$ (с различным содержанием Li), показали то, что уровень индуцированного гемолиза сплавов не превышал 2 %, при этом величина эффекта коррелировала с концентрацией экстракта [36]. Сплавы Zn , $Zn - 0,8 \%Cu$, $Zn - 0,8 \%Mn$ и $Zn - 0,8 \%Li$ демонстрировали схожий результат [37]. Полученные нами данные об отсутствии негативного воздействия на клетки крови деформационной обработки методом РКУП, опосредующей изменение микроструктуры сплавов [38, 39], согласуются с результатами наших предыдущих исследований, доказавших биосовместимость сплавов $Zn - 1 \%Mg$ и $Zn - 1 \%Mg - 0,1 \%Ca$, обработанных кручением под высоким давлением. Тем не менее, согласно работам других исследователей, можно сделать вывод о том, что применение иных методов обработки сплавов может ухудшить их биосовместимость. Например, есть данные о том, что после кручения под высоким давлением сплав $Zn - 1 \%Mg - 0,1 \%Ca$ демонстрировал умеренную цитотоксичность, тогда как цитотоксичность сплава $Zn - 1 \%Mg$ значимо не отличалась от контроля [40, 41]. Отдельно стоит отметить влияние изменения химического состава на биоактивные свойства сплава. В частности, есть данные о появлении у сплавов на основе системы Zn–Mg дополнительных функциональных свойств в сравнении с чистым цинком. Так, X. Tong и соавт. наблюдали то, что сплавы $Zn - 1 \%Mg$ и $Zn - 1 \%Mg - 0,1 \%P3M$ обладали эффективным антикоагулянтным действием, причем добавка P3M приводила к увеличению этого действия [42], а сплавы на основе системы Zn–Sr демонстрировали умеренную антибактериальную активность [43]. Кроме того, как уже было прежде упомянуто, ионы цинка, магния и кальция могут обладать специфической противоопухолевой цитотоксической активностью [20–21, 25–27]. Проведенные нами в данной работе исследования подтверждают способность сплавов угнетать выживаемость опухолевых клеток на примере клеток рака яичников человека линии SKOV-3. Ранее нами уже было представлено то, что сплав $Mg - 1,03 \%Zn - 0,66 \%Ca$, деградирующий с выделением ионов Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , демонстрирует специфическую цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток линии K562 [44]. При деградации исследуемых в работе сплавов также выделяются ионы Mg^{2+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , с той только разницей, что в случае сплавов на основе цинка большинством ионов в растворе являются

не ионы Mg^{2+} , а ионы Zn^{2+} , противоопухолевый эффект которых в медицине хорошо известен [45–48]. Несмотря на то что нами не было выявлено значимой разницы в цитотоксичности сплавов $Zn - 1\%Mg$ и $Zn - 1\%Mg - 0,1\%Ca$ против клеток линии SKOV-3, наблюдалась тенденция к нарастанию противоопухолевой цитотоксичности в случае добавления кальция. При этом $0,1\%Ca$, добавленный в состав сплава, вероятно, приводил к релизу довольно низкой концентрации ионов Ca^{2+} . Именно поэтому есть основания полагать, что увеличение содержания кальция в сплаве может усиливать противоопухолевый эффект.

Закключение

Таким образом, в результате проведенного исследования мы пришли к выводу о том, что обработка методом РКУП не ухудшает биосовместимость сплавов $Zn - 1\%Mg$ и $Zn - 1\%Mg - 0,1\%Ca$. Полученные результаты позволяют рассматривать эти сплавы как перспективные для создания на их основе биодеградируемых медицинских изделий. Полученные данные об угнетении выживаемости клеток рака яичников человека линии SKOV-3 после инкубации на поверхности обоих изученных сплавов позволяют предположить, что использование полученного на их

основе погружного медицинского изделия сможет локально тормозить развитие опухолевого роста. Вероятно, подобный подход может быть реализован в онкоортопедии для остеосинтеза или возмещения дефектов костной ткани, пораженной опухолевым процессом. В настоящем исследовании было показано то, что обработка РКУП за счет регуляции структуры и текстуры исследуемых сплавов позволяет повысить их прочность на 20–25 % при росте пластичности на порядок. Приведенные данные указывают на перспективность разработки на основе изучаемых сплавов медицинских изделий нового типа, способных деградировать в биологически активной среде со скоростью, не препятствующей сохранению их целостности, с постепенным замещением их объема собственной вновь образованной тканью организма и релизом биоактивных компонентов. В частности, обнаруженные свойства обосновывают их использование в качестве базы погружных имплантатов и крепежных элементов для проведения остеореconstructивных операций у онкологических больных благодаря уникальному сочетанию механических свойств и потенциала снижения риска рецидивов опухоли за счет реализации контактной цитотоксической противоопухолевой активности в локусе имплантации металлоконструкций.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Staiger M.P., Pietak A.M., Huadmai J. et al. Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review. *Biomaterials* 2006;27(9):1728–34. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.10.003
2. Zhuo X., Wu Y., Ju J. et al. Recent progress of novel biodegradable zinc alloys: from the perspective of strengthening and toughening. *J Mater Res Technol* 2022;17:244–69. DOI: 10.1016/j.jmrt.2022.01.004
3. Han H.-S., Loffredo S., Jun I. et al. Current status and outlook on the clinical translation of biodegradable metals. *Materials Today* 2019;23:57–71. DOI: 10.1016/j.mattod.2018.05.018
4. Zhao B., Qiu X., Wang D. et al. Application of bioabsorbable screw fixation for anterior cervical decompression and bone grafting. *Clinics* 2016;71:320–4. DOI: 10.6061/clinics/2016(06)06
5. Tsakiris V., Tardei C., Clincinschi F.M. Biodegradable Mg alloys for orthopedic implants – A review. *J Magnes Alloy* 2021;9(6):1884–905. DOI: 10.1016/j.jma.2021.06.024
6. Li S., Ren J., Wang X. et al. Dilemmas and countermeasures of Fe-based biomaterials for next-generation bone implants. *J Mater Res Technol* 2022;20:2034–50. DOI: 10.1016/j.jmrt.2022.07.089
7. Zhang S., Zhang X., Zhao C. et al. Research on an Mg–Zn alloy as a degradable biomaterial. *Acta Biomater* 2010;6:626–40. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.06.028
8. Witte F., Fischer J., Nellesen J. et al. *In vitro* and *in vivo* corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials* 2006;27:1013–8. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.037
9. Zheng Y.F., Gu X.N., Witte F. Biodegradable metals. *Mater Sci Eng R Rep* 2014;77:1–34. DOI: 10.1016/j.mser.2014.01.001
10. Frederickson C.J., Koh J.-Y., Bush A.I. The neurobiology of zinc in health and disease. *Nat Rev Neurosci* 2005;6:449–62. DOI: 10.1038/nrn1671
11. Vallee B.L., Falchuk K.H. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev* 1993;73:79–118. DOI: 10.1152/physrev.1993.73.1.79
12. Fosmire G.J. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr* 1990;51:225–7. DOI: 10.1093/ajcn/51.2.22
13. Kabir H., Munir K., Wen C., Li Y. Recent research and progress of biodegradable zinc alloys and composites for biomedical applications: Biomechanical and biocorrosion perspectives. *Bioact Mater* 2021;6(3):836–79. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2020.09.013
14. Vojtěch D., Kubásek J., Serák J., Novák P. Mechanical and corrosion properties of newly developed biodegradable Zn-based alloys for bone fixation. *Acta Biomater* 2011;7:3515–22. DOI: 10.1016/j.actbio.2011.05.008
15. Bowen P.K., Drelich J., Goldman J. Zinc exhibits ideal physiological corrosion behavior for bioabsorbable stents. *Adv Mater* 2013;25:2577–82. DOI: 10.1002/adma.201300226
16. Bowen P.K., Guillory R.J., Shearier E.R. et al. Metallic zinc exhibits optimal biocompatibility for bioabsorbable endovascular stents. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015;56:467–72. DOI: 10.1016/j.msec.2015.07.022
17. Du S., Shen Y., Zheng Y. et al. Systematic *in vitro* and *in vivo* study on biodegradable binary Zn–0.2 at% Rare Earth alloys (Zn–RE: Sc, Y, La–Nd, Sm–Lu). *Bioact Mater* 2023;24:507–23. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.01.004

18. Jia B., Yang H., Zhang Z. et al. Biodegradable Zn–Sr alloy for bone regeneration in rat femoral condyle defect model: *In vitro* and *in vivo* studies. *Bioact Mater* 2021;6(6):1588–604. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2020.11.007
19. Guo P., Zhu X., Yang L. et al. Ultrafine- and uniform-grained biodegradable Zn–0.5Mn alloy: Grain refinement mechanism, corrosion behavior, and biocompatibility *in vivo*. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2021;118:111391. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111391
20. Guruviah K., Annamalai S.K., Ramaswamy A. et al. Comparative antimicrobial and anticancer activity of biologically and chemically synthesized zinc oxide nanoparticles toward breast cancer cells. *Nanomater* 2020;7(4):272–83. DOI: 10.22038/nmj.2020.07.00003
21. Al-Enazi N.M., Alsamhary K., Kha M. et al. *In vitro* anticancer and antibacterial performance of biosynthesized Ag and Ce co-doped ZnO NPs. *Bioprocess Biosyst Eng* 2023;46:89–103.
22. Feyereabend F., Fischer J., Holtz J. et al. Evaluation of short-term effects of rare earth and other elements used in magnesium alloys on primary cells and cell lines. *Acta Biomater* 2010;6(5):1834–42. DOI: 10.1016/j.actbio.2009.09.024
23. Liu S.S., Lu D., Miao L.F. et al. Effects of lanthanum chloride on proliferation and migration of human cervical cancer cell line HeLa cells. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2010;45(8):609–13. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-567x.2010.08.012
24. Feng C., Gan Q., Liu X. et al. Synthesis, antitumor and apoptosis inducing activities of novel 5-fluorouracil derivatives of rare earth (Sm, Eu) substituted polyoxometalates. *Chin J Chem Eng* 2012;30(7):5–8. DOI: 10.1002/cjoc.201100744
25. Li T., Xu W., Liu C. et al. Anticancer effect of biodegradable magnesium on hepatobiliary carcinoma: an *in vitro* and *in vivo* study. *ACS Biomater Sci Eng* 2021;7(6):2774–82. DOI: 10.1021/acsbmaterials.1c00288
26. Wei X., Tang Z., Wu H. et al. Biofunctional magnesium-coated Ti6Al4V scaffolds promote autophagy-dependent apoptosis in osteosarcoma by activating the AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway. *Mater Today Bio* 2021;12:100147. DOI: 10.1016/j.mtbio.2021.100147
27. Dou J.-P., Wu Q., Fu C.-H. et al. Amplified intracellular Ca^{2+} for synergistic anti-tumor therapy of microwave ablation and chemotherapy. *J Nanobiotechnology* 2019;17(1):118. DOI: 10.1186/s12951-019-0549-0
28. Valiev R.Z., Langdon T.G. Principles of equal-channel angular pressing as a processing tool for grain refinement. *Prog Mater Sci* 2006;51(7):881–981. DOI: 10.1016/j.pmatsci.2006.02.003
29. ASTM G1-03-E. Standard practice for preparing, cleaning, and evaluating corrosion test specimens. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2011.
30. Choudhary R., Venkatraman S.K., Bulygina I. et al. Biomaterialization, dissolution and cellular studies of silicate bioceramics prepared from eggshell and rice husk. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2021;118:111456. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111456
31. Zhuo X., Gao W., Zhao L. et al. A bimodal grain structured Zn–0.4Mg–0.02Mn alloy with superior strength-ductility synergy. *Materials Science and Engineering: A* 2023;862:144514. DOI: 10.1016/j.msea.2022.144514
32. Huang H., Liu H., Ren K. et al. Improvement of ductility and work hardening ability in a high strength Zn–Mg–Y alloy via micron-sized and submicron-sized YZn_{12} particles. *J Alloys Compd* 2021;877:160268. DOI: 10.1016/j.jallcom.2021.160268
33. Niu K., Zhang D., Qi F. et al. The effects of Cu and Mn on the microstructure, mechanical, corrosion properties and biocompatibility of Zn–4Ag alloy. *J Mater Res Technology* 2022;21:4969–81. DOI: 10.1016/j.jmrt.2022.11.083
34. Wątroba M., Mech K., Bednarczyk W. et al. Long-term *in vitro* corrosion behavior of Zn–3Ag and Zn–3Ag–0.5Mg alloys considered for biodegradable implant applications. *Mater Des* 2022;213:110289. DOI: 10.1016/j.matdes.2021.110289
35. Venezuela J., Dargusch M.S. The influence of alloying and fabrication techniques on the mechanical properties, biodegradability and biocompatibility of zinc: A comprehensive review. *Acta Biomater* 2019;87:1–40. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.01.035
36. Duan J., Li L., Liu C. et al. Novel Zn–2Cu–0.2Mn–xLi (x = 0, 0.1 and 0.38) alloys developed for potential biodegradable implant applications. *J Alloys Compd* 2022;916:165478. DOI: 10.1016/j.jallcom.2022.165478
37. Yin Y.-X., Zhou C., Shi Y.-P. et al. Hemocompatibility of biodegradable Zn–0.8 wt% (Cu, Mn, Li) alloys. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019;104:109896. DOI: 10.1016/j.msec.2019.109896
38. Rybalchenko O.V., Anisimova N.Yu., Kiselevsky M.V. et al. Effect of equal-channel angular pressing on structure and properties of Fe–Mn–C alloys for biomedical applications. *Mater Today Commun* 2022;30:103048. DOI: 10.1016/j.mtcomm.2021.103048
39. Martynenko N., Lukyanova E., Anisimova N. et al. Improving the property profile of a bioresorbable Mg–Y–Nd–Zr alloy by deformation treatments. *Materialia* 2020;13(2):100841. DOI: 10.1016/j.mtla.2020.100841
40. Martynenko N., Anisimova N., Rybalchenko O. et al. Effect of high pressure torsion on microstructure, mechanical and operational properties of Zn–1%Mg–0.1%Ca alloy. *Metals* 2022;12(10):1681. DOI: 10.3390/met12101681
41. Martynenko N., Anisimova N., Rybalchenko O. et al. Structure, biodegradation and *in vitro* bioactivity of Zn–1%Mg alloy strengthened by high pressure torsion. *Materials* 2022;15(24):9073. DOI: 10.3390/ma15249073
42. Tong X., Zhang D., Lin J. et al. Development of biodegradable Zn–1Mg–0.1RE (RE = Er, Dy, and Ho) alloys for biomedical applications. *Acta Biomater* 2020;117:384–99. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.09.036
43. Su Y., Fu J., Du S. Biodegradable Zn–Sr alloys with enhanced mechanical and biocompatibility for biomedical applications. *Smart Mat Med* 2021;3:117–27. DOI: 10.1016/j.smaim.2021.12.004
44. Martynenko N., Anisimova N., Kiselevskiy M. et al. Structure, mechanical characteristics, biodegradation, and *in vitro* cytotoxicity of magnesium alloy ZX11 processed by rotary swaging. *J Magnes Alloy* 2020;8(4):1038–46. DOI: 10.1016/j.jma.2020.08.008
45. Ma Z., Cao Y., Li Q. et al. Synthesis, characterization, solid-state photo-luminescence and anti-tumor activity of zinc(II) 4'-phenyl-terpyridine compounds. *J Inorg Biochem* 2010;104(7):704–11. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2010.03.002
46. Magda D., Lecane P., Wang Z. et al. Synthesis and anticancer properties of water-soluble zinc ionophores. *Cancer Res* 2008;68:5318–25. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-0601
47. Feng P., Li T.L., Guan Z.X. et al. Effect of zinc on prostatic tumorigenicity in nude mice. *Ann N Y Acad Sci* 2003;1010:316–20. DOI: 10.1196/annals.1299.056
48. Liguori P.F., Valentini A., Palma M. et al. Non-classical anticancer agents: synthesis and biological evaluation of zinc(II) heteroleptic complexes. *Dalton Trans* 2010;39:4205–12. DOI: 10.1039/b922101h

Благодарность. Авторы выражают благодарность кандидатам технических наук А.В. Санникову и А.В. Колтыгину, а также кафедре литейных технологий и художественной обработки материалов НИТУ «МИСИС» за помощь в выплавке материалов исследования.

Acknowledgment. The authors are grateful to Dr. A.V. Sannikov and Dr. A.V. Koltygin, as well as to Department of Casting Technologies and Artistic Processing of Materials of the National University of Science and Technology “MISIS” for assistance in smelting research materials.

Вклад авторов

Н.С. Мартыненко, Н.Ю. Анисимова: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи;
Н.С. Мартыненко, Н.Ю. Анисимова, О.В. Рыбальченко, Д.Р. Темралиева, М.В. Шинкарева, К.М. Новрузов, А.Г. Рааб, Е.А. Лукьянова, Е.А. Корнюшенков, Д.В. Филоненко: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
Н.С. Мартыненко, Н.Ю. Анисимова, О.В. Рыбальченко, Е.А. Лукьянова, К.М. Новрузов: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;

Д.Е. Митрушкин, С.В. Добаткин: формальный анализ, рецензирование.

Author's contributions

N.S. Martynenko and N.Yu. Anisimova: research design, writing the text of the manuscript;

N.S. Martynenko, N.Yu. Anisimova, O.V. Rybalchenko, D.R. Temralieva, M.V. Shinkareva, K.M. Novruzov, A.G. Raab, E.A. Lukyanova, E.A. Kornushenkov, D.V. Filonenko: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

N.S. Martynenko, N.Yu. Anisimova, O.V. Rybalchenko, E.A. Lukyanova, K.M. Novruzov: review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained;

D.E. Mitrushkin, S.V. Dobatkin: formal analysis and review.

ORCID авторов / ORCID of authors:

Н.С. Мартыненко / N.S. Martynenko: <https://orcid.org/0000-0003-1662-1904>

Н.Ю. Анисимова / N.Yu. Anisimova: <https://orcid.org/0000-0002-4370-6578>

О.В. Рыбальченко / O.V. Rybalchenko: <https://orcid.org/0000-0002-0403-0800>

М.В. Шинкарева / M.V. Shinkareva: <https://orcid.org/0000-0002-8208-9111>

Д.Р. Темралиева / D.R. Temralieva: <https://orcid.org/0000-0002-8392-7826>

К.М. Новрузов / K.M. Novruzov: <https://orcid.org/0000-0002-0773-255X>

А.Г. Рааб / A.G. Raab: <https://orcid.org/0000-0003-1993-413X>

Е.А. Лукьянова / E.A. Lukyanova: <https://orcid.org/0000-0001-7122-6427>

Е.А. Корнюшенков / E.A. Kornushenkov: <https://orcid.org/0000-0002-3903-8773>

Д.В. Филоненко / D.V. Filonenko: <https://orcid.org/0000-0002-9943-3054>

Д.Е. Митрушкин / D.E. Mitrushkin: <https://orcid.org/0000-0003-3778-303X>

С.В. Добаткин / S.V. Dobatkin: <https://orcid.org/0000-0003-4232-927X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-13-00024).

Financing. This research was supported by the Russian Science Foundation (Grant No 22-13-00024).

Статья поступила: 16.02.2023. Принята к печати: 15.08.2023.

Article submitted: 16.02.2023. Accepted for publication: 15.08.2023.