



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.15.1.008>
УДК 546.654-022.532:615.281.9]:617-089



Довнар Р.И.¹ ✉, Васильков А.Ю.², Довнар И.С.¹, Иоскевич Н.Н.¹

¹ Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

² Институт элементоорганических соединений имени А.Н. Несмеянова Российской академии наук, Москва, Россия

Антибактериальное действие наночастиц лантана

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Довнар Р.И. – концепция и дизайн исследования; Довнар Р.И., Васильков А.Ю., Иоскевич Н.Н. – написание статьи, внесение изменений в текст; Довнар Р.И., Васильков А.Ю., Довнар И.С. – проведение эксперимента, обработка материалов, оценка результатов исследования.

Финансирование. Авторы не получали финансовой поддержки от компаний-производителей. Синтез наночастиц лантана выполнен в рамках Государственного задания № 075-00697-22-00 Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Подана: 15.07.2022

Принята: 23.01.2023

Контакты: dr_ruslan@mail.ru

Резюме

Введение. Проблемой современной сердечно-сосудистой хирургии становится возрастание антибиотикорезистентности клинических патогенных штаммов. На фоне постепенного развития медицины наблюдаются закономерный процесс увеличения продолжительности жизни и связанные с ними процессы старения населения и повышения количества пациентов с хроническими заболеваниями, приводящими к снижению защитных сил организма. В результате возникает необходимость поиска новых классов антимикробных препаратов, одними из которых могут стать наночастицы лантана.

Цель. Синтезировать наночастицы лантана, изучить их свойства и воздействие на клинические патогенные штаммы микроорганизмов.

Материалы и методы. В качестве способа синтеза наночастиц лантана был использован метод металло-парового синтеза. Антибактериальное действие наночастиц лантана исследовалось на двух штаммах грамположительных (*Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus haemolyticus*) и четырех штаммах грамотрицательных бактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa*). Противогрибковое – на штамме *Candida spp.* Противомикробные и противогрибковые свойства данных наночастиц изучались с помощью диско-диффузионного метода и метода серийных разведений в жидкой питательной среде.

Результаты. Выполненные исследования показали, что наночастицы лантана обладают выраженными противомикробными и противогрибковыми свойствами по отношению к клиническим патогенным штаммам. Учитывая наличие полиантибиотикорезистентности у изучаемых штаммов, применение наночастиц лантана является перспективным направлением как в хирургии в целом, так и в кардиохирургии в частности, особенно при наличии гнойно-септических осложнений.

Заключение. Наночастицы лантана являются перспективным и малоизученным классом веществ, проявляющим выраженное антибактериальное и противогрибковое действие по отношению к полиантибиотикорезистентным штаммам. Это

указывает на необходимость проведения дальнейших исследований, особенно касающихся механизмов действия наночастиц, а также открывает новые перспективы их применения в различных областях хирургии.

Ключевые слова: наночастицы лантана, антибактериальное действие, металло-паровой синтез, метод зеленой химии, минимальная ингибирующая концентрация, минимальная бактерицидная концентрация

Dovnar R.¹ ✉, Vasil'kov A.², Dovnar I.¹, laskevich N.¹

¹ Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

² A.N. Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Antibacterial Action of Lanthanum Nanoparticles

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Dovnar R. – study concept and design; Dovnar R., Vasil'kov A., laskevich N. – text writing, editing; Dovnar R., Vasil'kov A., Dovnar I. – conducting the experiment, processing materials, and study results evaluating.

Funding. The authors did not receive financial support from manufacturing companies. The synthesis of lanthanum nanoparticles was performed within the framework of State Assignment No. 075-00697-22-00 of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Submitted: 15.07.2022

Accepted: 23.01.2023

Contacts: dr_ruslan@mail.ru

Abstract

Introduction. An increasing antibiotic resistance of clinical pathogenic strains has become a problem in modern cardiovascular surgery. Against the background of a progressive development of medicine, a natural process of longevity increase and associated processes of population aging and increasing number of patients with chronic diseases, leading to a decrease in body's defenses are observed. As a result, the need arises to search for new classes of antimicrobial agents, one of which could be lanthanum nanoparticles.

Purpose. To synthesize lanthanum nanoparticles, to study their properties and effects on clinical pathogenic strains of microorganisms.

Materials and methods. The metal-vapor synthesis method was used to synthesize lanthanum nanoparticles. Antibacterial effects of lanthanum nanoparticles were studied on two gram-positive strains: *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus haemolyticus*, and four strains of gram-negative bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. Antifungals effects were studied on *Candida* spp. strain. Antimicrobial and antifungal properties of these nanoparticles were studied using the disk diffusion method and the method of serial dilutions in a liquid nutrient medium.

Results. The studies performed demonstrated that lanthanum nanoparticles had pronounced antimicrobial and antifungal activities against clinical pathogenic strains. Given the presence of polyantibiotic resistance in the strains studied, the use of lanthanum nanoparticles is a promising direction both in surgery in general and in cardiac surgery in particular, especially in the presence of purulent-septic complications.

Conclusion. Lanthanum nanoparticles represent a promising and understudied class of substances exhibiting pronounced antibacterial and antifungal activities against polyantibiotic-resistant strains. Therefore, this points towards a need for further research, especially regarding mechanisms of action of nanoparticles, and opens up new perspectives for their application in various fields of surgery.

Keywords: lanthanum nanoparticles, antibacterial action, metal-steam synthesis, green chemistry method, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration

■ ВВЕДЕНИЕ

С каждым годом отмечается увеличение количества операций, выполняемых на открытом сердце, грудной и брюшной аорте, брахиоцефальных артериях, артериях нижних конечностей при их окклюзионно-стенотических и аневризматических поражениях чаще атеросклеротического генеза. Для сосудистой реконструкции широко применяются синтетические протезы и заплаты, стент-графты, которые хорошо имплантируются в любую позицию. Вместе с тем использование протезов в сердечно-сосудистой хирургии сопряжено с вероятностью развития инфекционных осложнений. Они включают инфекцию:

- 1) послеоперационной раны (поверхностную и глубокую);
- 2) протезов (протезная, парапротезная инфекция);
- 3) синтетических заплат;
- 4) стент-графтов [1, 2].

В кардиохирургии частота инфекционных осложнений хирургической раны колеблется от 0,4 до 25%. После открытых реконструктивных операций на восходящем отделе и дуге аорты протезная инфекция развивается у 3% пациентов с летальностью 25–75%. Инфицирование эндопротеза в грудной позиции встречается в 0,4–0,6% случаев [3, 4].

В хирургии окклюзионно-стенотических поражений брюшной аорты и подвздошных артерий протезная инфекция диагностируется в 0,2–5% случаев с летальностью в 25–88% и риском потери нижней конечности в 60–100%. Инфекционные осложнения после реконструктивных операций на брахиоцефальных артериях возникают реже. Частота инфекции заплат составляет 0,25–0,5%, а протезов сонных артерий – 0,37–1,76% [5, 6].

Наиболее частой причиной инфекционных осложнений в сердечно-сосудистой хирургии является бактериальная микрофлора. К основным ее типам относится грамположительный *Staphylococcus* из-за его способности образовывать защитную антилейкоцитарную пленку (*S. aureus* и коагулазонегативные стафилококки). Реже встречаются другие грамположительные кокки (*Enterococcus*, *Streptococcus*) и грамотрицательные палочки (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella* spp.), а также анаэробы. В редких (менее 2%) случаях обнаруживается грибковое поражение сосудистых протезов грибами рода *Candida* [1].

При изучении микрофлоры у пациентов с ранним инфицированием сосудистых протезов сообщено о преобладании *Staphylococcus aureus* (35%) и энтеробактерий (33%), после которых идут *Streptococcus* spp. (27%), *S. epidermidis* (19%)

и *Pseudomonas* spp. (16%). Анализ характера микрофлоры при позднем инфицировании сосудистого протеза выявил *Staphylococcus aureus* у 85% пациентов, *S. epidermidis* – у 38%, энтеробактерии – у 40,5%, а *Pseudomonas* spp. – у 26% [7, 8].

Длительное время считалось, что раннее инфицирование сосудистых протезов обычно мономикробное, а позднее – полимикробное. Вместе с тем в последние годы бактериологический анализ раневого отделяемого показывает наличие одно-временного роста нескольких микроорганизмов, таких как *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*. А.А. Лызикив при введении инфицирующей дозы стафилококка в область установки сосудистого протеза в эксперименте в 40% случаев развития инфекции высевал сапрофитную флору, а в 60% – введенный серотип [2, 9].

Факторы риска, степень их влияния на вероятность и частоту развития инфекционных осложнений в сосудистой и кардиохирургии интенсивно изучаются. Хирургическая тактика при инфекции синтетических сосудистых протезов и заплат дискутабельна.

Консервативная терапия основана на назначении комплекса антибиотиков широкого спектра действия чаще эмпирически, а при наличии гнояного отделяемого из дренажа – с учетом результатов микробиологического исследования. Исходя из обобщенных литературных данных, этот метод отличается чрезвычайно низкой эффективностью. В то же время описаны случаи продолженной антибактериальной терапии у пациентов, отказавшихся от хирургического вмешательства с хорошим результатом в течение 40 месяцев наблюдения [5, 6].

Общие принципы хирургического метода лечения инфекционных осложнений в сердечно-сосудистой хирургии включают:

1. Удаление инфицированного сосудистого протеза с соблюдением дифференцированного подхода к резекции части или всего шунта с:
 - 1) хирургической обработкой послеоперационной раны и периексплантного пространства в сочетании с экстраанатомическим шунтированием или решунтированием аутовеной (подкожной, глубокой веной нижних конечностей и др.), аутоартерией, артериальными или венозными аллографтами, сосудистыми протезами, импрегнированными серебром и антибактериальными препаратами, криоконсервированными гомографтами;
 - 2) использованием гибридных технологий, сочетающих удаление инфицированного протеза и рентгеноэндоваскулярную реканализацию питающей, в частности, нижнюю конечность артерии.

В хирургии протезной инфекции грудной аорты предложены как резекция и сохранение протеза *in situ*, так и расширенная санация с резекцией всех инфицированных окружающих тканей с последующим орошением тканей антисептиками, антибактериальной терапией широкого спектра действия и при необходимости заполнение протезного пространства аутологичными тканями, чаще – большим салъником, мышечными лоскутами на ножке. Одновременно с этим предложен метод сохранения протеза *in situ* с расширенной дезинфекцией очага и последующим закрытием пораженного участка протеза восходящей или дуги аорты лоскутами тканей. В случае инфицирования сосудистой синтетической заплаты показано ее удаление с последующей реконструкцией артерии с помощью аутовенозной (артериальной) заплаты и др.



2. Рациональное назначение антибиотиков широкого спектра действия в послеоперационном периоде, нередко с продленной антибактериальной терапией [3, 4].

Следует отметить, что, анализируя исходы повторных операций при инфицировании сосудистых протезов и заплат, все авторы подчеркивают высокую вероятность интраоперационных осложнений, реинфекции, сепсиса и высокую послеоперационную летальность [8, 9].

Учитывая вышеизложенное, становится очевидным поиск новых антимикробных препаратов, способных предупредить развитие инфекционного процесса в сердечно-сосудистой хирургии или успешно его купировать. К ним относятся прежде всего лекарственные формы новых наноматериалов, в том числе различных металлов.

Вместе с тем при изучении биологической активности наночастиц металлов важно не только выявить наличие возможного антибактериального эффекта, но и оценить последний с точки зрения необходимой концентрации. Это позволяет, во-первых, минимизировать количество используемого материала и предупредить развитие токсического состояния макроорганизма вследствие избыточного накопления наночастиц, а во-вторых, создать достаточную концентрацию последних для проявления их антибактериального действия.

Соединения лантана и некоторых лантаноидов активно изучаются с целью их использования для различных биомедицинских приложений – биодетектирования, биоизображения, диагностики и лечения заболеваний [10–12]. Например, карбонат лантана применяется в качестве средства для связывания фосфатов при лечении гиперфосфатемии у пациентов, находящихся на диализе. В литературе описан препарат эплан (производитель ЗАО «Оберон», Россия), который был создан на основе солей лантана и полиоксисоединений, рекомендуемый к применению при солнечных, термических и химических ожогах, лучевых повреждениях кожи и других случаях. Кроме того, недавние исследования показывают, что лантан также участвует в биохимических реакциях и проявляет хорошую биологическую активность [13, 14].

Таким образом, имеющиеся данные указывают на возможную роль лантана в качестве инновационного лекарственного средства.

Вместе с тем в литературе представлены только отдельные публикации по синтезу наночастиц лантана и исследованию их биологической активности [15, 16]. Лантан в атомарном виде и в виде наночастиц чрезвычайно реакционноспособен. В условиях применения металло-парового метода синтеза это позволяет в одну стадию получать комплексы, синтез которых традиционными методами невозможен или весьма трудоемок [17, 18].

Предложены различные методы синтеза наночастиц оксида лантана: с использованием химического осаждения в ванне, методами соосаждения, гидратации, гидротермальной реакции, микроэмульсии, рефлюкса, золь-гель методов, сжигания раствора, сольвотермического, сонохимического методов, пиролиза распылением и методом термического разложения [19]. Несмотря на это, для биомедицинских применений крайне желательно использовать именно метод зеленой химии – не сопровождающийся применением в процессе синтеза токсических веществ и не наносящий вред биологическим объектам. К такому методу и относится металло-паровой синтез.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Синтезировать наночастицы лантана, изучить их свойства и воздействие на клинические патогенные штаммы микроорганизмов.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Наночастицы лантана были приготовлены методом металло-парового синтеза. Лантан в виде кусочков испарялся с танталовой фольги толщиной 0,25 мм. В качестве органического реагента был использован ацетон. В типовом эксперименте было использовано 120 мл ацетона и 0,12 г металла.

Перед началом синтеза наночастиц стеклянная колба реактора погружалась в сосуд с жидким азотом, после чего подавался органический реагент, который конденсировался на охлаждаемых стенках реактора совместно с парами лантана. Длительность процесса синтеза – около 1,5 часа. После его окончания прекращалось охлаждение, реактор с помощью шибера отключался от вакуумного поста. В реактор подавался аргон. Соконденсат лантана и органической дисперсионной среды разогревался до температуры плавления. Полученный таким образом коллоидный раствор лантана использовался для выполнения исследований.

Учитывая высокую реакционную способность синтезируемых наночастиц лантана, для предотвращения возможной конгломерации взвесь наночастиц непосредственно перед применением диспергировалась в ультразвуковой ванне «Сапфир» УЗВ-2,8 ТТЦ (РМД) в течение 10 минут.

Электронно-микроскопическое исследование наночастиц производилось на трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 фирмы JEOL (Япония) с вмонтированной цифровой камерой Olympus MegaView III (Германия) и программой iTEM для обработки изображений. Диспергированная суспензия наночастиц лантана помещалась на специальные медные сеточки для электронной микроскопии диаметром 3,05 мм, покрытые формваровой пленкой, 300 ячеек в сеточке (SPI Supplies, США). После испарения воды осуществляли изучение наночастиц лантана в электронном микроскопе при ускоряющем напряжении 80 kV.

Оптические свойства наночастиц лантана изучались при помощи двухлучевого спектрофотометра Specord 200 Plus (Analytik Jena, Германия) с фиксированной шириной спектральной щели симметричным расщеплением светового потока для максимальной точности анализа в ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях спектра. Для контроля, мониторинга и документирования получаемой спектрофотометром информации использовалось входящее в комплект программное обеспечение WinASPECT.

Противомикробные свойства наночастиц лантана изучались на клинических патогенных штаммах грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, полученных из гнойного очага у пациентов хирургического профиля в УЗ «Гродненская университетская клиника» и УЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи г. Гродно» во время его хирургической обработки до применения антибиотиков и антисептиков. На микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact фирмы BioMérieux осуществлялись выделение, идентификация возбудителя и определение антибиотикограммы. В качестве грамположительных было взято 2 штамма рода *Staphylococcus*: *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus haemolyticus*. Грамотрицательные микроорганизмы были представлены следующими микробами: *Escherichia coli*,

Klebsiella pneumoniae, *Proteus mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa*. Противогрибковое воздействие определялось на грибе рода *Candida* (*Candida* spp.). Противомикробное влияние изучаемых наночастиц лантана оценивалось при помощи диско-диффузионного метода. Последний основан на оценке диаметра зоны задержки роста вокруг бумажного диска с изучаемым веществом, наложенного на растущую на плотной питательной среде культуру исследуемого микроорганизма на чашках Петри. Искользованные в исследовании бумажные диски имели диаметр 6 мм, из плотной впитывающей бумаги, плотностью 290 г/м². Диски пропитывали взвесью наночастиц лантана в убывающей концентрации и стерилизовали методом автоклавирования. Диаметр зоны задержки роста определялся через 24 часа после засева чашки Петри с агаром, помещения диска и культивирования в термостате при 37,0 °С.

В качестве метода определения количественных характеристик антибактериального действия наночастиц лантана использовался турбидиметрический метод серийных разведений в стерильных 96-луночных плоскодонных полистироловых планшетах с крышкой [20]. С помощью него определяли минимальную ингибирующую и минимальную бактерицидную концентрации.

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Просвечивающую электронную микроскопию наночастиц лантана с целью максимального приближения результатов полученного изображения к клиническим данным осуществляли не в лаборатории непосредственно после синтеза, а после добавления наночастиц в питательный бульон для культивирования микроорганизмов. Данный прием позволяет не только визуализировать синтезированные наночастицы, но также проследить их возможное взаимодействие в среде, максимально приближенной к реальной. На рис. 1 представлено электронно-микроскопическое изображение синтезированных в эксперименте наночастиц лантана в питательном бульоне Мюллера – Хинтона.

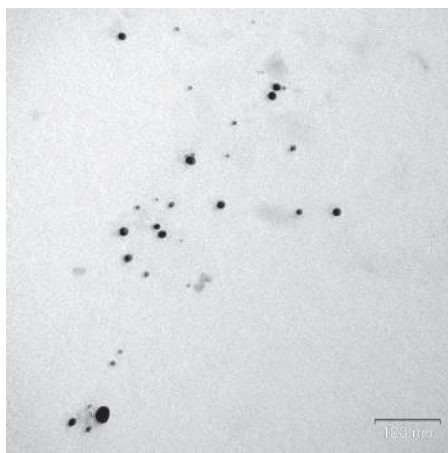


Рис. 1. ПЭМ, синтезированные наночастицы лантана в питательном бульоне. Мерный отрезок равен 100 нм

Fig. 1. TEM, synthesized lanthanum nanoparticles in nutrient broth. The measured segment is 100 nm

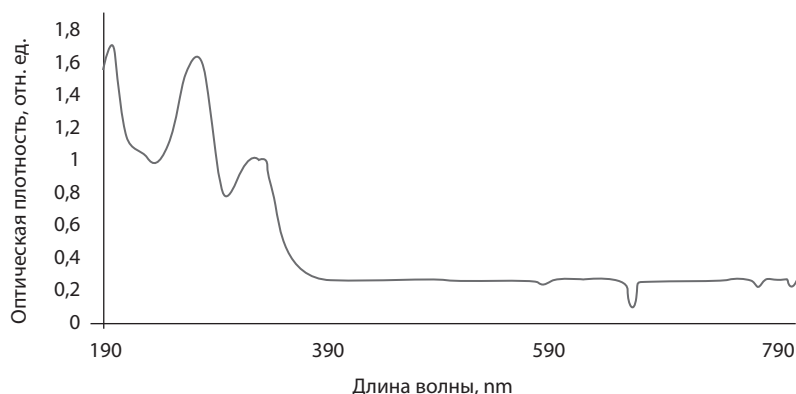


Рис. 2. Спектр поглощения наночастиц лантана
Fig. 2. Absorption spectrum of lanthanum nanoparticles

Как видно из рис. 1, синтезированные наночастицы лантана имеют преимущественно сферическую форму, размер синтезированных наночастиц колеблется, однако средний диаметр составляет 10,5 нм. В то же время после культивирования в течение 24 часов в бульоне Мюллера – Хинтона наночастицы продолжают оставаться в диспергированном состоянии, не формируя агломератов либо агрегатов и практически не находясь в физическом контакте друг с другом. При этом при детальном просмотре всех полей зрения было замечено, что изучаемые наночастицы лантана распределены в образце равномерно.

На рис. 2 представлен спектр поглощения синтезированных наночастиц лантана.

Как следует из рис. 2, у изучаемого образца имеется 3 пика поглощения в диапазонах: 190–200 нм, 270–280 нм и 310–330 нм. Первый максимум поглощения (190–200 нм) обусловлен собственным поглощением кварцевой кюветы. Второй пик (270–280 нм) – относительно узкий и интенсивный – обусловлен поглощением более мелких наночастиц лантана. Третий пик (310–330 нм) свидетельствует о поглощении более крупных наночастиц лантана, этот максимум менее интенсивен и уширен.

Результаты изучения антибактериального действия различных концентраций наночастиц лантана, полученные диско-диффузионным методом, отражены в табл. 1.

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что выявление зоны ингибирования роста клинических патогенных штаммов бактерий свидетельствует о наличии антибактериального эффекта наночастиц лантана. В то же время сила противомикробного действия изучаемых наночастиц по отношению к различным штаммам отличается. При этом наблюдается ряд общих закономерностей: у всех штаммов со снижением концентрации диаметр зоны ингибирования уменьшается, а антибактериальный эффект наночастиц лантана наблюдается по отношению ко всем изучаемым штаммам.

Антибактериальные и противогрибковые свойства наночастиц лантана оценивались также по отношению к клиническим патогенным штаммам грамположительных (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus haemolyticus*), грамотрицательных микроорганизмов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*) и гриба рода *Candida* (*Candida* spp.). В табл. 2 представлены данные,

Таблица 1
Зоны ингибирования роста микроорганизмов наночастицами лантана, полученные диско-диффузионным методом, мм
Table 1
Zones of microbial growth inhibition by lanthanum nanoparticles, obtained by the disk-diffusion method, mm

Микроорганизм	Концентрация наночастиц лантана, мг/мл				
	5,0	2,5	1,25	0,625	0,312
Staphylococcus aureus	19	18	16	14	12
Staphylococcus haemolyticus	18	16	14	13	11
Escherichia coli	12	11	9	8	8
Klebsiella pneumoniae	11	10	9	9	8
Proteus mirabilis	15	14	13	11	9
Pseudomonas aeruginosa	14	13	11	10	9
Candida spp.	11	10	9	8	8

Примечание: диаметр зоны ингибирования роста включает диаметр диска (6 мм).

Таблица 2
Результаты роста микроорганизмов с наночастицами лантана после 24-часовой инкубации в термостате при 37,0 °C в 96-луночных планшетах
Table 2
Results of microbial growth with lanthanum nanoparticles after 24-hour incubation in a thermostat at 37.0 °C in 96-well plates

Штамм микроорганизма	Группа	Пропорции разведения золя							
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
Staphylococcus aureus	опыт	н	н	н	н	н	н	н	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Staphylococcus haemolyticus	опыт	н	н	н	н	н	н	н	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Pseudomonas aeruginosa	опыт	н	н	н	н	н	н	р	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Klebsiella pneumoniae	опыт	н	н	н	н	н	р	р	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Escherichia coli	опыт	н	н	н	н	н	р	р	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Proteus mirabilis	опыт	н	н	н	н	р	р	р	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н
Candida spp.	опыт	н	н	н	н	н	р	р	р
	контроль-1	р	р	р	р	р	р	р	р
	контроль-2	н	н	н	н	н	н	н	н

Примечания: н – в лунке отсутствует рост микроорганизмов; р – в лунке имеется рост микроорганизмов.

полученные при изучении влияния различных концентраций наночастиц лантана на патогенные штаммы грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов и гриба рода *Candida*.

Как видно из табл. 2, фиксируемое фотометром универсальным помутнение бульона свидетельствует о наличии роста микроорганизма в питательной среде, что говорит о том, что данная концентрация наночастиц металла недостаточна для подавления жизнедеятельности микроба. Рост грамположительных микроорганизмов отсутствовал при минимальном разведении наночастиц лантана 1:128. Для грамотрицательных микроорганизмов требовалось меньшее разведение для наночастиц лантана – от 1:16 до 1:64.

Минимальная бактерицидная концентрация соответствует наименьшей концентрации наночастиц, которая при исследовании *in vitro* вызывает гибель 99,9% микроорганизмов от исходного уровня в течение определенного периода времени. Таким образом, минимальная бактерицидная концентрация не может быть меньше минимальной подавляющей. Результаты изучения минимальной бактерицидной концентрации для различных концентраций наночастиц лантана представлены в табл. 3.

Данные, отраженные в табл. 3, демонстрируют, что у изучаемых микробов наименьшее разведение наночастиц для проявления бактерицидного эффекта требуется для грамотрицательных микроорганизмов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis*), в то время как у грамположительных стафилококков (*Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus haemolyticus*) рост отсутствует при большем разведении.

Выполненная математическая обработка представленных в табл. 2 и 3 данных позволила вычислить минимальную подавляющую и минимальную бактерицидную концентрации. Полученные результаты отражены в табл. 4.

Данные табл. 4 показывают, что минимальная подавляющая и минимальная бактерицидная концентрации наночастиц лантана различаются в зависимости от используемого штамма микроорганизма. При этом для грамположительных

Таблица 3
Результаты посевов на чашки Петри из лунок опытной группы с наночастицами лантана после 24-часовой инкубации в термостате при 37,0 °C
Table 3
Results of inoculation on Petri dishes from the wells of the experimental group with lanthanum nanoparticles after 24-hour incubation in a thermostat at 37.0 °C

Штамм микроорганизма	Группа	Пропорции разведения золя							
		1:2	1:4	1:8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256
<i>Staphylococcus aureus</i>	опыт	н	н	н	н	н	н	р	–
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	опыт	н	н	н	н	н	н	р	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	опыт	н	н	н	н	н	р	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	опыт	н	н	н	р	р	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	опыт	н	н	н	н	р	–	–	–
<i>Proteus mirabilis</i>	опыт	н	н	н	р	–	–	–	–
<i>Candida spp.</i>	опыт	н	н	н	р	р	–	–	–

Примечания: н – на чашке отсутствует рост микроорганизмов; р – на чашке имеется рост микроорганизмов.

Таблица 4
Показатели противомикробной активности наночастиц лантана по отношению к различным штаммам микроорганизмов
Table 4
Indicators of antimicrobial activity of lanthanum nanoparticles in relation to various strains of microorganisms

Штамм микроорганизма	Минимальная подавляющая концентрация наночастиц лантана, мкг/мл	Минимальная бактерицидная (фунгицидная) концентрация наночастиц лантана, мкг/мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	15,63	31,25
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	15,63	31,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31,25	62,50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62,50	250
<i>Escherichia coli</i>	62,50	125
<i>Proteus mirabilis</i>	125	250
<i>Candida spp.</i>	62,50	250

микроорганизмов необходимы меньшие концентрации в сравнении с граммотрицательными. Среднее значение минимальной подавляющей концентрации наночастиц лантана для исследуемых штаммов бактерий составило 52,1 мкг/мл. Среднее же значение минимальной бактерицидной концентрации было 125 мкг/мл. Минимальная фунгицидная концентрация составила 250 мкг/мл. Минимальная подавляющая концентрация, вызывающая гибель 50% штаммов микроорганизмов (МПК₅₀), для наночастиц лантана без учета штамма *Candida spp.* составила 31,25 мкг/мл, а минимальная подавляющая концентрация, вызывающая гибель 90% штаммов микроорганизмов (МПК₉₀), – 125 мкг/мл.

Воздействие наночастиц металлов на микроорганизмы может осуществляться разными путями. Например, наночастицы серебра воздействуют через деградацию ферментов, инактивацию клеточных белков и разрушение ДНК, что вызывает гибель микробных клеток [21].

A.L. Jadhav и S.M. Khetre выявили антибактериальную активность наночастиц LaNiO_3 по отношению к *Staphylococcus aureus*, в то время как противомикробного действия данных наночастиц в отношении *Streptococcus spp.*, *B. subtilis*, *E. coli* и противогрибковой активности к *C. albicans* не наблюдалось [22].

C.R. Manjunatha с соавт. сообщили, что наночастицы алюмината перовскита лантана проявляли антимикробную активность в отношении *Ps. aeruginosa* и *E. coli*, при этом значения МИК составляли 63 мг/мл и 70 мг/мл соответственно [23].

Некоторые исследователи выявили способность соединений лантана разрывать цепи ДНК, действуя как химическая нуклеаза. Так, Z. Asadi с соавт. [24] сообщили, что они синтезировали и изучили два водорастворимых мономерных комплекса лантана (III), проявляющих нуклеазную активность. Следует подчеркнуть, что ДНК является молекулой-мишенью для многих лекарств, особенно противоопухолевых препаратов [24].

Антибактериальные свойства лантана до настоящего времени не изучены. И, конечно же, до настоящего времени не раскрыт механизм наблюдаемого в данном исследовании противомикробного действия. Известно, что ряд соединений лантана, таких как карбонат лантана (La_2CO_3), гидроксид лантана ($\text{La}_2(\text{OH})_3$), карбонат оксида лантана ($\text{La}_2\text{O}_2\text{CO}_3$), могут связываться с фосфатами настолько сильно, что способны

образовывать LaPO_4 и удалять избыток фосфатов в среде для выращивания бактерий или водорослей, что может приводить к подавлению роста последних [25, 26].

Общепризнано, что основным строительным блоком для образования нуклеиновых кислот, белков и АТФ является фосфат и он необходим для роста всех организмов [27]. Фосфат является единственной формой фосфора, которая может быть непосредственно усвоена микроорганизмами. Его недостаток в среде приводит к нарушению синтеза клеточной стенки грамположительных бактерий и липидного слоя мембран грамотрицательных микробов и, как результат, тормозит размножение бактерий. Именно поэтому стоит предположить, что один из возможных путей антибактериального эффекта наночастиц лантана реализуется через взаимодействие с фосфатами и содержащими фосфат соединениями бактериальной клетки. Однако для более детального раскрытия противомикробного эффекта необходимо проведение дополнительных исследований.

В литературе встречаются только гипотезы предполагаемого действия данных наночастиц. В то же время иной, в сравнении как с антибиотиками, так и другими наночастицами, механизм действия наночастиц лантана делает данный класс веществ очень привлекательным с точки зрения эффективного средства преодоления противомикробной активности патогенных бактерий.

■ ВЫВОДЫ

1. Наночастицы лантана обладают выраженным противогрибковым действием, а также противомикробным по отношению как к грамположительным, так и грамотрицательным микроорганизмам.
2. Наночастицы лантана более эффективно действуют на грамположительные микроорганизмы в сравнении с грамотрицательными либо грибами.
3. Механизм действия наночастиц лантана сложен и до настоящего времени не изучен. Существующие теории не позволяют в полной мере его описать.
4. Наночастицы лантана представляют собой эффективное противомикробное средство против патогенных клинических микроорганизмов. Данные наночастицы можно использовать в виде средств местного воздействия, включать в состав полимерных материалов, наносить на поверхность изделий, контактирующих с раневыми дефектами или подверженных инфицированию.
5. Иной механизм действия наночастиц лантана в сравнении с антибиотиками делает данные наночастицы эффективными как против существующих, так и перспективных полиантибиотикорезистентных клинических патогенных штаммов микроорганизмов, что дает возможность широкого применения данных наночастиц как в хирургии в общем, так и в кардиохирургии в частности.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tsoi E., Zueva L., Mikaelyan S., Taits M. Infections of the area of surgical intervention in cardiac surgery. Results of own research. *Epidemiology. Vaccination*. 2020;19(3):52–6. doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-52-56. (in Russian)
2. Doroshko E., Lyzikov A. Biomechanical properties, pathogenetic mechanisms and ways of infection of tissue vascular prostheses in angiosurgery. *Problems of health and ecology*. 2020;66(4):79–86. doi: 10.51523/2708-6011.2020-17-4-5. (in Russian)
3. Bokeriya L., Abdulgasanov R., Gasymov E., Arakelyan V. Prosthetic infection of the thoracic aorta: methods of diagnosis and treatment. *Thoracic and cardiovascular surgery*. 2020;62(2):91–100. doi: 10.24022/0236-2791-2020-62-2-91-101. (in Russian)
4. Charcharyan E., Shestakov A., Galeev N., Petrosyan K., Belov Yu. Surgical treatment of patients with aortic prosthesis infection. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2018;11(4):36–41. doi: 10.17116/kardio201811436. (in Russian)

5. Lysenko A., Adamyan R., Stepanenko A., Lednev P., Salagaev G., Grabuzdov A. Reconstructive plastic surgery in the treatment of postoperative infection of the aortofemoral prosthesis in patients with Leriche's syndrome. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2020;13(3):262–6. doi: 10.17116/kardio202013031262. (in Russian)
6. Khamitov F., Gadzhimuradov R., Lebedev V., Abovyan A. Surgical treatment of a patient with an infected aortofemoral bifurcation prosthesis. *Angiology and vascular surgery*. 2018;24(3):162–7. (in Russian)
7. Popov V., Korostelev A., Malysenko E., Revishvili A. Successful treatment of patients with stent-graft infection occurring 5 years after endovascular repair of a thoracic aortic aneurysm. *Cardiology*. 2018;58(4):96–100. doi: 10.18087/cardio.2018.4.10115. (in Russian)
8. Chernyakov I., Marchenkov A., Vladimirov P., Gopokhov P. Surgical treatment of a patient with late infection of a vascular prosthesis after resection of a ruptured aneurysm of the internal iliac artery. *Thoracic and cardiovascular surgery*. 2020;62(1):68–72. doi: 10.24022/0236-2791-2020-62-1-68-71. (in Russian)
9. Shlomin V., Puzdryak P., Cheplygin V., Bondarenko P., Yurtaev E., Gorbunov G., Didenko Yu., Drozhzhin I., Dmitrievskaya N., Tigrov I. Bypass shunting for infection of the vascular prosthesis. *Angiology and vascular surgery*. 2020;26(1):148–55. doi: 10.33529/ANGIO2020120. (in Russian)
10. Liu Y., Tu D., Zhuab H., Chen X. Lanthanide-doped luminescent nanoprobes: controlled synthesis, optical spectroscopy, and bioapplications. *Chem. Soc. Rev.* 2013;42:6924–58. doi: 10.1039/C3CS60060B
11. Wolfbeis O.S. An overview of nanoparticles commonly used in fluorescent bioimaging. *Chem. Soc. Rev.* 2015;44:4743–68. doi: 10.1039/C4CS00392F
12. Bouzigues C., Gacoin T., Alexandrou A. *ACS Nano*. 2011;5(11):8488–505. doi: 10.1021/nn202378b
13. Huo Y., Zhang J., Dai K., Liang C. Amine-modified s-scheme porous g-C₃N₄/CdSe-diethylenetriamine composite with enhanced photocatalytic CO₂ reduction activity. *ACS Appl. Energy Mater.* 2021;4(1):956–68. doi: 10.1021/acsaem.0c02896
14. Gao S., Huang M., Sun Z., Li D., Xie C., Feng L., Liu S., Zheng K., Pang Q. A new mixed-ligand lanthanum(III) complex with salicylic acid and 1,10-phenanthroline: synthesis, characterization, antibacterial activity, and underlying mechanism. *Journal of molecular structure*. 2021;1225:129096. doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129096
15. Balusamy B., Kandhasamy Y.G., Senthamizhan A., Chandrasekaran G., Subramanian M.S., Kumaravel T.S. Characterization and bacterial toxicity of lanthanum oxide bulk and nanoparticles. *Journal of rare earths*. 2012;30:1298–302. doi: 10.1016/S1002-0721(12)60224-5
16. Kumar K.A., Hemananthan E., Devi P.R., Kumar S.V., Hariharan R. Biogenic synthesis, characterization and biological activity of lanthanum nanoparticles. *Materials today: proceedings*. 2019;21(1):887–895. doi: 10.1016/j.matpr.2019.07.727
17. Arnold P.L., Petrukhina M., Bochenkov V., Shabatina T., Zagorskii V., Sergeev G., Cloke F.G. Arene complexation of Sm, Eu, Tm and Yb atoms: a variable temperature spectroscopic investigation. *J. Organomet. Chem.* 2003;688:49–55. doi: 10.1016/j.jorgchem.2003.08.028
18. Carretas J., Branco J., Marçalo J., Domingos Â., Pires A. Europium(II) and ytterbium(II) aryloxide chemistry: synthesis and crystal structure of [Eu(OC₆H₃But₂-2,6)2(THF)3]·0.75C₇H₈ and [Yb(OC₆H₃But₂-2,6)2(NCMe)4]. *Polyhedron*. 2003;22:1425–9. doi: 10.1016/S0277-5387(03)00193-1
19. Rudresha K., Hussain A.Z., Ravikumar C.R., Kumar M.R., Nagaswarupa H.P., Santosh M.S., Murthy H.C. Synthesis and characterization of green CuO using Centella Asiatica plant leaf extract: electrochemical and photocatalytic activities. *Adv. Mater. Lett.* 2020;11(12):1–6. doi: 10.5185/amlett.2020.121586
20. Dovnar R., Vasil'kov A., Sakalova T., Naumkin A., Budnikov A., Dovnar I., Iaskevich N. Silver nanoparticles: an ecological method of synthesis, properties and use against antibiotic resistant microflora. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Medical series*. 2021;18(3):351–361. doi: 10.29235/1814-6023-2021-18-3-351-361. (in Russian)
21. Husain S., Verma S.K., Hemlata, Azam M., Sardar M., Haq Q.M.R., Fatma T. Antibacterial efficacy of facile cyanobacterial silver nanoparticles inferred by antioxidant mechanism. *Mater. Sci. Eng. C*. 2021;122:111888. doi: 10.1016/j.msec.2021.111888
22. Jadhav A.L., Khetre S.M. Antibacterial activity of LaNiO₃ prepared by sonicated sol gel method using combination fuel. *International Nano Lett.* 2020;10:23–31. doi: 10.1007/s40089-019-00285-7
23. Manjunatha C.R., Nagabhushana B.M., Raghu M.S., Pratibha S., Dhananjaya N., Narayana A. Perovskite lanthanum aluminate nanoparticles applications in antimicrobial activity, adsorptive removal of Direct Blue 53 dye and fluoride. *Mater. Sci. Eng. C*. 2019;101:674–685. doi: 10.1016/j.msec.2019.04.013
24. Asadi Z., Nasrollahi N., Karbalaeei-Heidari H., Eigner V., Dusek M., Mobaraki N., Pournejati R. Investigation of the complex structure, comparative DNA-binding and DNA cleavage of two water-soluble mono-nuclear lanthanum(III) complexes and cytotoxic activity of chitosan-coated magnetic nanoparticles as drug delivery for the complexes. *Spectrochim Acta – Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2017;178:125–35. doi: 10.1016/j.saa.2017.01.037
25. Cardemil C.V., Smulski D.R., Larossa R.A., Vollmer A.C. Bioluminescent Escherichia coli strains for the quantitative detection of phosphate and ammonia in coastal and suburban watersheds. *DNA Cell Biol.* 2010;29(9):519–31. doi: 10.1089/dna.2009.0984
26. Gerber L.C., Moser N., Luechinger N.A., Stark W.J., Grass R.N. Phosphate starvation as an antimicrobial strategy: the controllable toxicity of lanthanum oxide nanoparticles. *Chem. Commun.* 2012;48:3869–71. doi: 10.1039/C2CC30903C
27. Lürling M., Oosterhout F.V. Controlling eutrophication by combined bloom precipitation and sediment phosphorus inactivation. *Water Res.* 2013;47(17):6527–37. doi: 10.1016/j.watres.2013.08.019