

---

---

# ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

---

© Жолобак Н. М.

УДК 546.655.3-4+544.773:615.281.9

**Жолобак Н. М.**

## К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОЛЛОИДНОГО (НАНОРАЗМЕРНОГО) ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Институт микробиологии и вирусологии  
им. Д. К. Заболотного НАН Украины (г. Киев)

n.zholobak@gmail.com

Интерес к нанокристаллическому диоксиду церия (НДЦ) интенсивно возрастает: об этом свидетельствует резкий рост числа публикаций, посвященных этому материалу [7,9]. Ярко выраженная зависимость физико-химических свойств НДЦ от размера частиц обуславливает его уникальную биологическую активность. Особенно следует отметить высокую кислородную нестехиометрию, и связанную с ней возможность участия НДЦ в окислительно-восстановительных процессах в живой клетке, а также способность к ауторегенерации, что обеспечивает высокую эффективность его применения [20]. Для НДЦ показано УФ-защитное действие, различающееся по эффективности на нормальных и опухолевых тканях [42,43], защитный эффект в условиях экзогенного или эндогенного окислительного стресса [33,40], перспективность применения для терапии опухолевого процесса [31], улучшения качества жизни [32]. НДЦ обладает антифунгальным [11] и противовирусным действием [39]. В нашей предыдущей статье обобщены современные литературные данные об антибактериальных эффектах НДЦ [5].

Но, кроме информации о высокой антибактериальной эффективности НДЦ, есть данные и о том, что в некоторых случаях наночастицы никак не влияют на жизнеспособность бактерий или стимулируют их рост.

Так, в работе [1] показана биобезопасность НДЦ для представителей микрофлоры почвы: он нетоксичен даже в максимальной использованной концентрации – 10 мМ. Жизнеспособность медленно растущих почвенных симбиотических азотфиксирующих грамотрицательных бактерий *Bradyrhizobium japonicum* УКМ В-6018 (входят в состав инокулянтов для обработки семян сои – Ризобин, Эковитал) и *B. japonicum* 604К оставалась стабильной в присутствии цитрат-стабилизированных НДЦ.

На модельной грамотрицательной бактерии – *Photobacterium phosphoreum*, используемой для тестирования токсичности ксенобиотиков, показа-

но [4], что цитрат-стабилизированные наночастицы в концентрации 0,1 нМ, а высоко кристаллические НДЦ в концентрации 0,1 нМ – 0,1 мМ уже через 30 минут после внесения в культуру вызывают существенное увеличение люминесценции, свидетельствующее об активации внутриклеточных метаболических процессов. Дальнейшая инкубация наночастиц и бактерий в течение пяти суток не угнетает рост *Ph. phosphoreum*.

Нечувствительна к действию НДЦ и *Shewanella oneidensis* – грамотрицательный металлоредуцирующий микроорганизм [13]. Возможно, устойчивость *S. oneidensis* к НДЦ связана со специфичностью бактериального метаболизма: способностью восстанавливать металлы, высокой устойчивостью к действию наночастиц оксидов металлов.

Есть данные о стимулирующем рост микроорганизмов действии НДЦ. Так, через 24 часа после внесения цитрат-стабилизированных НДЦ в диапазоне концентраций 0,1-10,0 мМ в культуру условно-патогенных грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas* – *P. Syringae* pv. *Syringae* UCM В-1027Т и *Pseudomonas fluorescens* 8573 наблюдается почти десятикратное увеличение количества жизнеспособных микроорганизмов [1]. Учитывая, что бактерии рода *Pseudomonas* способны активно биодеградировать различные ксенобиотики, например, на 40% ускоряя деградацию пластмасс [19], указанное свойство НДЦ актуально при создании различных экосовместимых биодеградируемых материалов.

В присутствии цитрат-стабилизированных НДЦ существенно увеличиваются пробиотические свойства культуры лактобактерий *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (грамположительные факультативно анаэробные или микроаэрофильные микробы) [34]. Совместное пероральное введение мышам *L. bulgaricus* и НДЦ активизирует систему интерферона, повышая сопротивляемость животных к инфекции. Отдельное введение или наночастиц, или *L. bulgaricus* не сопровождается такими эффектами.

Показано, что пероральное введение животным цитрат-стабилизированных наночастиц коррелирует с увеличением количества лактобактерий в желудочно-кишечном тракте. Интересно, что в присутствии лактобактерий увеличивается антибактериальное действие НДЦ против патогенной микрофлоры. Так, Babu K.S. et al. [12] показали, что комбинирование изолятов *Lactobacillus* с НДЦ существенно увеличивает антибактериальную эффективность наночастиц в отношении *E. coli* и *S. aureus*.

То есть, совместное применение НДЦ и лактобактерий стимулирует жизнеспособность последних, активирует систему интерферона, являющуюся ключевым звеном первичного иммунного ответа организма на инфекцию. Для *L. bulgaricus* показано, что по причине отсутствия супероксид дисмутазы, для защиты от супероксид-аниона бактерии используют ионы марганца [10], продуцируя большое количество пероксида водорода [25]. Известно, что НДЦ обладают супероксид дисмутазо-подобной активностью [7], поэтому их использование может существенно повышать пробиотические свойства таких бактерий. У животных, одновременно получавших НДЦ и лактобактерии, кроме активации системы интерферона, отмечено увеличение NO-продуцирующей способности клеток селезенки, снижение уровня окислительного стресса в клетках перитонеального экссудата мышей [6]. Полученные результаты интересны с точки зрения создания и применения пробиотиков на основе НДЦ и лактобактерий, способных активировать системы клеточной и гуморальной иммунной защиты организма.

В пользу перспективности такого подхода свидетельствуют также данные Т. Kroth [21] о том, что скормливание экспериментальным животным смеси, в составе которой – соли редкоземельных элементов, в том числе и церия, влияет на состояние микробиома кишечника животных, улучшая усвоение питательных веществ, белка, накопление энергии.

В работе С. Garcia-Saucedo показана низкая токсичность НДЦ (50 нм, 99,95%, Sigma) для эукариотической культуры *S. cerevisiae* [16]. Для оценки жизнеспособности клеток авторы использовали критерии интенсивности поглощения кислорода и целостности мембран. НДЦ, стабилизированные нетоксичным для дрожжей полиакрилатом аммония (Dispex A40, массовое соотношение  $\text{CeO}_2/\text{Dispex} = 10/1$ ), в концентрации 1000 мг/л вызвали снижение потребления кислорода клетками почти на 50%, тогда как в присутствии НДЦ без стабилизатора интенсивность поглощения кислорода *S. cerevisiae* снижалась только на 10-15%. То есть, как и в случае с *E. coli*, присутствие стабилизатора (даже если он сам и не обладает цитотоксическим действием) в составе золя НДЦ существенно изменяет активность последнего. Метод проточной цитометрии не позволил зафиксировать какие-либо повреждения клеточных мембран. Автор считает [16], что вызванное НДЦ угнетение потребления кислорода *S. cerevisiae* не связано с нарушением целостности мембраны клетки, а в экологически релевантных концентрациях НДЦ вообще нетоксичны для *S. cerevisiae*.

Анализ современных представлений об эффективности НДЦ против патогенной и условно патогенной флоры человека изложен в нашем предыдущем обзоре [5]. Но факты стимулирования роста непатогенных микроорганизмов в присутствии НДЦ закономерно вызывают вопрос: чем же обусловлена избирательность действия наночастиц?

В 2006 году в работе Rose et al. [29] была сделана попытка определить механизмы взаимодействия между НДЦ и клетками *E. coli*. Результаты, полученные с использованием разнообразных микроскопических и спектроскопических техник, позволили сделать заключение, что токсические (антибактериальные) эффекты НДЦ могут быть обусловлены окислительными процессами на поверхности клетки, происходящими в присутствии наночастиц.

В 2013 году в обзорной работе Santos et. al. сделана попытка обобщения массива современных данных о взаимодействии наночастиц и бактериальной клетки [30]. Авторами проанализированы последствия непосредственного контакта наночастиц с клеткой, который может вызывать повреждение липидного слоя, нарушать целостность бактериальной клетки, следствием чего является лизис бактериального содержимого и гибель микроорганизма. Опосредованное антибактериальное влияние НДЦ может реализовываться через генерирование продуктов взаимодействия наночастиц с окружающей средой и межклеточным пространством: ионов, активных форм кислорода.

НДЦ влияют на бактериальную клетку, используя оба механизма, но, учитывая известные редокс-свойства наночастиц, генерация активных форм кислорода играет ключевую роль в совокупном бактерицидном действии. Для микроорганизмов, покрытых оболочкой из полисахаридов, или формирующих биопленки – то есть когда прямой контакт НДЦ с клеточной мембраной невозможен, – преимущественную роль играет непрямой механизм. В работе [38] на примере *E. coli* и *Synechocystis sp.* рассмотрен вклад «прямого» и «непрямого» механизмов токсического действия НДЦ на микроорганизмы.

Для «прямого» механизма (*E. coli*) важен размер частиц и физико-химические характеристики золя (z-потенциал, агрегированность частиц, стерические факторы и т.п.). В случае «непрямого» механизма токсичности (цианобактерия *Synechocystis sp.*), главную роль играют ионы церия, попадающие в среду в результате растворения наночастиц, а также активные формы кислорода, образующиеся на поверхности частиц и мигрирующие через бактериальную мембрану.

НДЦ могут влиять на транспорт электронов и работу протонного насоса клеток, изменяя заряд мембраны и баланс pH в направлении закисления цитоплазмы, искажая функционирование многоуровневых систем антиоксидантной защиты микробных клеток, действующих по механизму, одним из звеньев которого является обратное окисление сенсора [8]. В кислой среде НДЦ выступают в роли прооксиданта, вызывая образование токсических АФК, разрушающих бактериальную мембрану, ДНК и протеины, вмешиваясь в синтез белков [30].

Наночастиці по-разному накопуються вблизи бактеріальних кліток: у *E. coli* НДЦ локалізуються непосредственно на мембрані, при порушенні її цілостності образуються специфічні випячення, так називані «knob-like protrusions» [36], а *C. albicans* в стресових умовах формуює шар екзополісахаридів [23], перешкоджаючи контакту наночастиці і клітки.

Мікрое середовище дуже сильно впливає на властивості наночастиці. В роботі Wen-Ting Sung et al. [37] показано, що мікрое середовище наночастиці срібла, оксидів цинку і церія в різних водних середовищах суттєво впливає на їх властивості, змінюючи їх. Наприклад, при pH=10 частинки максимально стабільні, а зі зниженням pH середовища закономірно змінюються їх фізико-хімічні властивості, в тому числі і стабільність. Авторами показано, що наночастиці  $\text{CeO}_2$  в присутності іонів  $\text{SO}_4^{2-}$  образують  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  і виділяють іони  $\text{Ce}^{4+}$ . Общеизвестно, що в складних біологічно-сумісних середовищах практично завжди присутні сульфат-іони. Подібні процеси цілком ймовірні і в умовах взаємодії наночастиці  $\text{CeO}_2$  з біологічними об'єктами.

Фосфат-іони, присутні практично в усіх біологічних рідинках, теж можуть впливати на каталітичні властивості НДЦ. Біосумісні НДЦ, стабілізовані декстраном або поліетиленгліколем, зберігають свої властивості в присутності фосфат-іонів [28]. Автори показали, що каталітична активність НДЦ залежить від співвідношення  $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ , і частинки з більш високим вмістом  $\text{Ce}^{4+}$  на поверхні більш стійкі: саме вони зберігають каталітичну активність в присутності фосфат-іонів. В роботі Najam-ul-Naga et al. [26] розглядається перспективність використання наночастиці оксидів металів в фосфопротеоміці: завдяки каталітичним властивостям церій-цирконієвих нанокмізитів можна впливати на концентрацію фосфопептидів, виконуючих біологічно важливі функції в клітці.

Аналіз умов реалізації антибактеріального або пробіотичного дії НДЦ дозволяє виділити певну закономірність: більшу чутливість до дії НДЦ демонструють грамположителі, ніж грамотрицателі мікроорганізми. І такий висновок не безоснований, оскільки фарбування по Граму відкриває чіткі відмінності в ультраструктурі і хімічному складі двох основних типів прокариотичних кліткових стінок, зустрічаються в природі. Обидва типи кліткових стінок відрізняються один від одного наявністю або відсутністю зовнішньої ліпідної мембрани, яка є надійною і фундаментальною характеристикою бактеріальних кліток [17,18].

Всі грамположителі оточені єдиним шаром фосфоліпідної мембрани і зазвичай мають товстий шар (20-80 нм) пептидогліканів (муреїн і др.), фіксуючий на собі фарбник Грама. Общеизвестно також, що відмінність між поверхнею грамположителів і грамотрицателів задає ступінь її проникності: для грамотрицателів клітки межують про-

никнення – це речовини з молекулярною масою близько 600 Дальтон.

У грамотрицателів зовнішня стінка виконує роль напівпроникного бар'єра: ліпополісахаридний шар, здатний затримувати макромолекули і гідрофільні речовини, захищає бактеріальну клітку. Іншими словами, грамотрицателі мікроорганізми, крім цитоплазматичної мембрани, оточені ще і зовнішньою клітковою мембраною і містять між ними тонкий шар пептидогліканів (2-3 нм). Наявність внутрішньої і зовнішньої мембран породжує новий клітковий відділок – периплазму, забезпечуючу додатковий рівень захисту клітки від впливу факторів зовнішнього середовища. Весь комплекс властивостей забезпечує більш високу стійкість грамотрицателів мікроорганізмів до дії наночастиці, в тому числі, і до НДЦ.

На вплив на поверхню бактеріальних кліток діє НДЦ не обмежується: наночастиці можуть активно змінювати процеси транспорту поживних речовин.

В регуляції кліткових функцій процеси первинно-активного транспорту займають провідне місце. В результаті роботи систем первинно-активного транспорту в клітці створюється і підтримується іонний склад, різко відрізняючись від складу зовнішнього середовища.

Вторинно-активний транспорт забезпечує перенос в клітку амінокислот і моносахаридів, поступаючих за рахунок енергії, зумовленої градієнтом іонів, зазвичай  $\text{Na}^+$ . В клітках нижчих еукаріот крім градієнта  $\text{Na}^+$  для цієї мети може використовуватися градієнт протонів, у деяких грибів його створюють високомолекулярні поліфосфати. Перенос здійснюється з допомогою білків-переносників, які мають молекулярну масу 25-40 кД. До вторинно-активного транспорту відносяться і процеси переносу, пов'язані з діяльністю ферментів. Наприклад, відсутня у еукаріот фосфотрансферазна система бактерій фосфорилує сахару в процесі його проникнення через мембрану, тим самим вовлекая його в метаболізм вуглеводів. У грамотрицателів бактерій такий перенос здійснюється D-глюкозою, D-фруктозою і D-глюкозаміном. У грамположителів бактерій набір переносимих речовин ширше: сюди відносяться також пентози, сахароза, трегалоза, лактоза, гліцерин. При цьому лактоза і фруктоза фосфорилуються по  $\text{C}_1$ , інші речовини – по кінцевому вуглероду [2].

Ще одним чутливим до дії наночастиці звеном можуть бути особливості метаболізму мікроорганізмів, відрізняючись по джерелу вуглероду – авто-/гетеротрофічності (усваювання органічних вуглеводів, що містять зв'язані елементи, амінокислот, органічних кислот і др.), по джерелу енергії і електронів – фото-/хемотрофності.

Відомо, що мікроорганізми, які отримують енергію за рахунок окислювально-відновлювальних реакцій, використовуючі органічні сполуки як джерело електронів і вуглероду, виконують провідну роль в патології людини [3]. Патогенність і умовна патогенність мікроорганізмів

для человека сопряжена с ауксотрофностью – способностью самостоятельно синтезировать углеводы, аминокислоты и другие факторы роста (пурины, пиримидины, липиды, витамины, железопорфирины и др.), эволюционной приспособленностью получать их в готовом виде из окружающей среды или организма хозяина.

Часть питательных веществ (вода, кислород, оксид углерода, азот) транспортируется в клетку без энергетических затрат путем пассивной диффузии по градиенту концентрации или путем облегченной диффузии при участии мембранных белков-транслоказ. Активный (энергозатратный) транспорт обеспечивает поступление веществ внутрь клетки против градиента концентрации при участии специализированных белков-пермеаз или мембранных белков-транслоказ и фосфорилировании переносимой молекулы. Один из наиболее распространенных механизмов транспорта компонентов питательной среды в клетку осуществляет бактериальная фосфоенолпируват-фосфотранспортная система (ФТС). В результате ее функционирования осуществляется селективный транспорт глюкозы, фруктозы и других углеводов в фосфорилированной форме и накопление в цитоплазме высоких концентраций сахарофосфатов. Кроме того, она осуществляет многочисленные регулирующие функции, связанные с обменом углерода, азота и фосфатов, влияет на хемотаксис, транспорт калия и вирулентность некоторых патогенных микроорганизмов [15]. Для этих различных регуляторных процессов передача сигнала зависит от фосфорилирования компонентов ФТС, которая изменяется в зависимости от наличия субстратов ФТС и метаболического состояния клетки. ФТС-опосредованные механизмы регулирования основаны либо на прямом фосфорилировании белка-мишени или на зависящих от фосфорилирования белок-белковых взаимодействиях.

Известно, что церий обладает химическими свойствами, близкими к кальцию, в частности по способности образовывать фосфат-содержащие соединения [7]. Этим можно объяснить, что НДЦ при связывании с фосфат анионами изменяют каталитические свойства [35]. Li et al. показал, что динамика адсорбции фосфата на оксиде церия отвечает классической модели и может быть описана кинетическим уравнением второго порядка [24]. Недавно показано, что НДЦ может участвовать в фосфат-связанных процессах и проявлять фосфатазную активность [22]. Именно фосфатазо-подобные свойства НДЦ позволяют по-новому оценивать и прогнозировать биологическую активность наночастиц [7,14].

Учитывая ключевую роль фосфата в транспорте питательных веществ, а также в регуляции метаболизма бактериальной клетки, можно утверждать, что НДЦ участвуют в фосфат-зависимых клеточных метаболических процессах [41]. То есть, антибактериальные эффекты НДЦ связаны с угнетением ими активности ФТС бактерий. Такое утверждение находит подтверждение в выявленной корреляции между антибактериальной активностью НДЦ и вкладом ФТС в транспорт сахаров у различных групп микроорганизмов. Ранее мы писали, что НДЦ высокоэффективны против *S. aureus*, тогда как их антибактериальное действие против *E. coli* не столь однозначно [5]. С другой стороны, ФТС у *S. aureus* обеспечивает транспорт всех сахаров, тогда как у *E. coli* – лишь некоторых, таких, как глюкоза [27]. То есть, максимальный антибактериальный эффект НДЦ наблюдается для бактерий, в которых механизм транспорта сахаров при участии ФТС играет ключевую роль.

Вероятно, что и пробиотические свойства НДЦ можно интерпретировать исходя из активности ФТС у различных групп микроорганизмов: эти системы характерны для облигатных и факультативных анаэробов и отсутствуют у аэробных бактерий [27].

Для одних бактерий – преимущественно патогенных, использующих органические соединения как доноры электронов и источник углерода, неспособных самостоятельно синтезировать углеводы, аминокислоты и другие факторы роста, – НДЦ оказывается токсичным, поскольку влияет на системы транспорта (в частности, ФТС) питательных веществ. Для других – самостоятельно синтезирующих углеводы, живущих преимущественно в аэробных условиях, наночастицы, снижающие токсические эффекты образующихся в таких условиях роста АФК, оказывает пробиотическое действие. Такой подход, исходящий из понимания механизмов действия НДЦ на бактериальную клетку, позволяет предвидеть их эффекты: на какие физиологические группы микроорганизмов наночастицы могут оказывать пробиотическое действие, а на какие – антибактериальное.

Обобщая, следует отметить, что результат взаимодействия НДЦ с микроорганизмами зависит от физико-химических свойств собственно частиц и реализуется через ответ бактериальной клетки, обусловленный целым комплексом каскадных реакций, зависящих от наличия или отсутствия внешней мембраны (грамположительные/грамотрицательные бактерии), особенностей транспорта питательных веществ внутрь клетки (роль фосфотрансферазной системы), особенностей внутриклеточного метаболизма (гиперпродукция перекисей) и генной активности.

## Література

1. Бабенко Л.П. Вплив наночастинок діоксиду церію на різні фізіологічні групи мікроорганізмів / Л.П. Бабенко, Л.А. Данкевич, Н.М. Жолобак [та ін.] // Наук. записки Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2014. – № 3. – С. 45-51.
2. Болдырев А.А. Биохимия мембран / Под ред. А.А. Болдырева. Кн. 1. Введение в биохимию мембран. – М.: Высш. школа. – 1986. – 112 с.
3. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология. Гл. 4. Физиология и биохимия микроорганизмов (бактерий) / Л.Б. Борисов. – М.: ООО «МИА» – 2005. – С. 46-67.

## ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

4. Грецкий И.А. *Photobacterium phosphoreum* – объект для изучения биологических эффектов наночастиц диоксида церия / И.А. Грецкий, Н.М. Жолобак, А.Б. Щербак [и др.] // Живые и биокосные системы. – 2016. – 15 (электронный ресурс – в печати).
5. Жолобак Н.М. Антибактеріальні ефекти колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію / Н.М. Жолобак // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 3, Том 2 (123). – С. 23-28.
6. Жолобак Н.М. Ефективність застосування наночастинок колоїдного церію та *L. bulgaricus* у мишей / Н.М. Жолобак, Т.К. Журавська, І.І. Качмарська [та ін.] // Матеріали конф. «Довкілля та здоров'я», 14-16 квітня 2009, Тернопіль. – С. 32.
7. Иванов В.К. Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение / В.К. Иванов, А.Б. Щербак, А.Е. Баранчиков, В.В. Козик. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2013. – 287 с.
8. Лушак В.І. Оксидативний стрес у мікроорганізмів / В.І.Лушак // XII з'їзд товариства мікробіологів України ім. С.М. Виноградського, 25-30 травня 2009 р., Ужгород. Тези доп. – Ужгород: Патент, 2009. – С. 17.
9. Щербак А.Б. Нанокристаллический диоксид церия: перспективный материал для биомедицинского применения / А.Б. Щербак, В.К. Иванов, Н.М. Жолобак [и др.] // Биофизика. – 2011. – Т. 56 (6). P. 995-1015.
10. Archibald F.S. Manganese, superoxide dismutase, and oxygen tolerance in some lactic acid bacteria / F.S. Archibald, I. Fridovich // J. Bacteriol. – 1981. – Vol. 146, № 3. – P. 928-936.
11. Babenko L.P. Antibacterial activity of cerium colloids against opportunistic microorganisms in vitro / L.P. Babenko, N.M. Zholobak, A.B. Shcherbakov [et al.] // Мікробіол. журн. – 2012. – 74 (3). – P. 54-62.
12. Babu K.S. Cytotoxicity and antibacterial activity of gold-supported cerium oxide nanoparticles / K.S. Babu, M. Anandkumar, T.Y. Tsai [et al.] // Int. J. Nanomedicine. – 2014. – Vol. 9. – P. 5515-5531.
13. Beliaev A.S. Global transcriptome analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 exposed to different terminal electron acceptors / A.S. Beliaev, D.M. Klingeman, J.A. Klappenbach [et al.] // J. Bacteriol. – 2005. – Vol. 187. – P. 7138-7145.
14. Celardo I. Pharmacological potential of cerium oxide nanoparticles / I. Celardo, J.Z. Pedersen, E. Traversa [et al.] // Nanoscale. – 2011. – Vol. 3 (4). – P. 1411-1420.
15. Deutscher J. The bacterial phosphoenolpyruvate: carboxylate phosphotransferase system: regulation by protein phosphorylation and phosphorylation-dependent protein-protein interactions / J. Deutscher, F.M.D. Akh, M. Derkaoui [et al.] // MMBR. – 2014. – Vol. 78 (2). – P. 231-256.
16. Garcia-Saucedo C. Low toxicity of CeO<sub>2</sub> NP to the yeast *Saccharomyces cerevisiae* / C. Garcia-Saucedo // J. of Hazardous Materials. – 2011. – Vol. 192. – P. 1572-1579.
17. Gupta R.S. What are archaeobacteria: life's third domain or monoderm prokaryotes related to Gram-positive bacteria? A new proposal for the classification of prokaryotic organisms / R.S. Gupta // Molecular Microbiology. – 1998. – Vol. 29 (3). – P. 695-707.
18. Gupta R.S. Protein phylogenies and signature sequences: A reappraisal of evolutionary relationships among archaeobacteria, eubacteria and eukaryotes / R.S. Gupta // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 1998. – Vol. 62. – P. 1435-1491.
19. [http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas#Use\\_as\\_bioremediation\\_agents](http://en.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas#Use_as_bioremediation_agents)
20. Ivanov V.K. Synthesis and thermal stability of nanocrystalline ceria sols stabilized by citric and polyacrylic acids / V.K. Ivanov, J.S. Polezhaeva, A.S. Shaporev [et al.] // Rus. J. Inorg. Chem. – 2010. – 55. P. 328.
21. Kroth T. Einfluss von Seltenen Erden auf die scheinbare Verdaulichkeit der Rohndhrstoffe bei wachsenden Ratten / T. Kroth. – Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 2011. – 97 p.
22. Kuchma M.H. Phosphate ester hydrolysis of biologically relevant molecules by cerium oxide nanoparticles / M.H. Kuchma, C.B. Komanski, J. Colon [et al.] // Nanomedicine: Nanotech. Biol. Med. – 2010. – Vol. 6. – P. 738-744.
23. Lal P. Exopolysaccharide analysis of biofilm-forming *Candida albicans* / P. Lal, D. Sharma, P. Pruthi [et al.] // Journal of applied microbiology. – 2010. – Vol. 109 (1). – P. 128-136.
24. Li B. Adsorption kinetics of phosphate on ceria-based adsorbent / B. Li, H.B. Wang, Y. Yuan // Advanced Materials Research. – 2013. – Vols. 726-731. – P. 1668-1672.
25. Marty-Teyssset C. Increased production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* upon aeration: Involvement of an NADH oxidase in oxidative stress / C. Marty-Teyssset, F. de la Torre, J.R. Garel // Appl. Environ. Microbiol. – 2000. – Vol. 66, № 1. – P. 262-267.
26. Najam-ul-Haqa M. Versatile nanocomposites in phosphoproteomics: A review / M. Najam-ul-Haqa, F. Jabeena, D. Hussaina [et al.] // Analytica Chimica Acta. – 2012. – Vol. 747. – P. 7-18.
27. Nicholls D.G. Bioenergetics: An Introduction to the Chemiosmotic Theory / D.G. Nicholls. – Acad. Press: London, New York, Paris, 1982. – 190 p.
28. Rameech N.McC. Inhibition of Nanoceria's Catalytic Activity due to Ce<sup>3+</sup> Site-Specific Interaction with Phosphate Ions / N.McC. Rameech, P. Mendez, S. Barkam [et al.] // J. Phys. Chem. C. – 2014. – Vol. 118 (33). – P. 18992-19006.
29. Rose J. Interactions between manufactured nanoparticles and individual cells / J. Rose, M. Auffan, O. Zeyons [et al.] // Geochimica et Cosmochimica Acta Suppl. Goldschmidt Conference Abstracts. – 2006. – V. 70. – P. 539.
30. Santos C.L. Nanomaterials with Antimicrobial Properties: Applications in Health Sciences / C.L. Santos, A.J.R. Albuquerque, F.C. Sampaio [et al.] // In: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Publisher: Formatex Research Center. Editor: A. Méndez-Vilas. – 2013. – Vol. 1. – P. 143-154.
31. Shcherbakov A.B. Advances and prospects of using nanocrystalline ceria in cancer theranostics / A.B. Shcherbakov, N.M. Zholobak, N.Ya. Spivak & V.K. Ivanov // Russian Journal of Inorganic Chemistry. – 12/2014, 59 (13). – P. 1556-1575.
32. Shcherbakov A.B. Advances and prospects of using nanocrystalline ceria in prolongation of lifespan and healthy aging / A.B. Shcherbakov, N.M. Zholobak, N.Ya. Spivak & V.K. Ivanov // Russian Journal of Inorganic Chemistry. – 12/2015, 60 (13). – P. 1595-1625.
33. Shcherbakov A.B. Cerium fluoride nanoparticles protect cells against oxidative stress / A.B. Shcherbakov, N.M. Zholobak, A.E. Baranчиков [et al.] // Materials Science and Engineering C. – 2015. – Vol. 50. – P. 151-159.
34. Shcherbakov A.B. Nanocrystalline ceria based materials – Perspectives for biomedical application / A.B. Shcherbakov, V.K. Ivanov, N.M. Zholobak [et al.] // Biophysics. – 2011. – Vol. 56, Iss. 6. – P. 987-1004.
35. Singh S. A phosphate-dependent shift in redox state of cerium oxide nanoparticles and its effects on catalytic properties / S. Singh, T. Dosani, A.S. Karakoti [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32 (28). – P. 6745-6753.
36. Sobek J.M. Effects of the rare earth cerium on *Escherichia coli* / J.M. Sobek, D.E. Talburt // J. Bacteriol. – 1968. – 95 (1). – P. 47-51.

37. Sung W.-T. Transformation and fate of nanoscale ZnO, Ag, and CeO<sub>2</sub> in different aquatic environments / W.-T. Sung. – Dept. Environmental Engineering, 2012 – 115 p.
38. Zeyons O. Direct and indirect CeO<sub>2</sub> nanoparticles toxicity for *Escherichia coli* and *Synechocystis* / O. Zeyons, A. Thill, F. Chauvat F. [et al.] // *Nanotoxicology*. – 2009. – Vol. 3 (4). – P. 284-295.
39. Zholobak N.M. Antiviral effectivity of ceria colloid solutions / N.M. Zholobak, A.B. Shcherbakov, V.K. Ivanov [et al.] // *Antiviral Research, Twenty-Fourth International Conference on Antiviral Research, Sofia, Bulgaria, May 2011*. – V. 90, Iss. 2. – P. A67.
40. Zholobak N.M. Direct monitoring of the interaction between ROS and cerium dioxide nanoparticles in living cells / N.M. Zholobak, A.B. Shcherbakov, E.O. Vitukova [et al.] // *Royal Society of Chemistry Adv.* – 2014. – № 4. – P. 51703-51710.
41. Zholobak N.M. Interaction of nanoceria with microorganisms / N. Zholobak, V. Ivanov, A. Scherbakov // *In book: Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy, Chapter: 12, Publisher: Elsevier*. – P. 419-450.
42. Zholobak N.M. Panthenol-stabilized cerium dioxide nanoparticles for cosmetic formulations against ROS-induced and UV-induced damage / N.M. Zholobak, A.B. Shcherbakov, O.S. Bogorad-Kobelska [et al.] // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. – 2014. – V. 130. – P. 102-108.
43. Zholobak N.M. UV-shielding property, photocatalytic activity and photocytotoxicity of ceria colloid solutions / N.M. Zholobak, V.K. Ivanov, A.B. Shcherbakov [et al.] // *J. Photochem. Photobiol. B*. – 2011. – V. 102. – P. 32-38.

УДК 546.655.3-4+544.773:615.281.9

### ДО ПИТАННЯ ПРО МЕХАНІЗМ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ І ПРОБІОТИЧНОЇ ДІЇ КОЛОЇДНОГО (НАНОРОЗМІРНОГО) ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ

Жолобак Н. М.

**Резюме.** В статті розглянуто сучасні дані щодо пробіотичної дії нанокристалічного діоксиду церію. Проаналізовано механізми взаємодії наночастинок з бактеріальною клітиною, які зумовлюють реалізацію пробіотичної чи антибактеріальної дії. Зроблено висновок, що результат взаємодії НДЦ з мікроорганізмами залежить від фізико-хімічних властивостей власне частинок і реалізується через відповідь бактеріальної клітини, зумовлену комплексом каскадних реакцій, пов'язаних із наявністю чи відсутністю зовнішньої мембрани (грампозитивні/грамнегативні бактерії), особливостями транспорту поживних речовин всередину клітини (роль фосфотрансферазної системи), особливостями внутрішньоклітинного метаболізму (гіперпродукція перекисів) і генної активності. Аналіз комплексу вказаних властивостей дозволяє передбачати результат взаємодії наночастинок і мікроорганізму.

**Ключові слова:** наночастинок діоксиду церію, пробіотична дія, антибактеріальна дія, фосфотрансферазна система, механізм дії.

УДК 546.655.3-4+544.773:615.281.9

### К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ КОЛЛОИДНОГО (НАНОРАЗМЕРНОГО) ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Жолобак Н. М.

**Резюме.** В статье рассмотрены современные данные о пробиотическом действии нанокристаллического диоксида церия. Проанализированы механизмы взаимодействия наночастиц с бактериальной клеткой, обуславливающие реализацию их пробиотического или антибактериального действия. Сделаны выводы, что результат взаимодействия НДЦ с микроорганизмами зависит от физико-химических свойств собственно частиц и реализуется через ответ бактериальной клетки, обусловленный целым комплексом каскадных реакций, зависящих от наличия или отсутствия внешней мембраны (грамположительные/грамотрицательные бактерии), особенностей транспорта питательных веществ внутрь клетки (роль фосфотрансферазной системы), особенностей внутриклеточного метаболизма (гиперпродукция перекисей) и генной активности. Исходя из анализа комплекса указанных свойств можно предвидеть результат взаимодействия наночастиц и микроорганизма.

**Ключевые слова:** наночастицы диоксида церия, пробиотическое действие, антибактериальное действие, фосфотрансферазная система, механизм действия.

UDC 546.655.3-4+544.773:615.281.9

### ON THE MECHANISMS OF ANTIBACTERIAL AND PROBIOTIC EFFECT OF COLLOIDAL (NANO-SIZED) CERIUM DIOXIDE

Zholobak N. M.

**Abstract.** In this paper, we summarize the current data on biosecurity of nanocrystalline cerium dioxide (CeO<sub>2</sub> NP) for environmental microorganisms, and on the probiotic effect of CeO<sub>2</sub> NP. We analyze the possible ways of the interaction of nanoparticles with the bacterial cell, which provide the means of their probiotic and antibacterial action.

The analysis of the probiotic and antibacterial action of CeO<sub>2</sub> NP shows that gram-positive microorganisms are more susceptible to nanoparticles than gram-negative. It is related to different permeability and other functions of the bacterial wall of these two groups of microorganisms.

The phosphoenolpyruvate: carbohydrate phosphotransferase system (PTS) plays a major role in the transportation of nutrients through the membrane. It provides selective transportation for glucose, fructose, and other carbohydrates in phosphorylated form. PTS is one of the first systems of the cell that react on the contact with CeO<sub>2</sub> NP. I. e., CeO<sub>2</sub> NP can actively change the processes of the nutrients transportation.

We concluded that the way CeO<sub>2</sub> NP influence the metabolism of microorganisms depends on the ways they receive carbon and energy: auto/heterotrophs, photo/chemotrophs. These properties are mostly defined by the PTS of the bacteria, which serves as a regulator of the processes of consumption of carbon, nitrogen, and phosphates, influences chemotaxis, potassium transportation, and virulence of some pathogenic microorganisms.

Signal transmission in the described regulatory processes depends on the phosphorylation of PTS components. It depends, in turn, on the substrates availability. Consequently, the selectivity of CeO<sub>2</sub> NP's action on pathogenic and semi-pathogenic microorganisms can be easily explained. The microorganism's quality of being pathogenic or semi-pathogenic to human is linked to auxotrophy – inability to synthesize carbohydrates, amino acids, and other growth factors (purines, pyrimidines, lipids, vitamins, ferroporphyrins, etc.), evolutionary adaptation to receiving it from the environment or the host organism.

Cerium has chemical values that resemble calcium. E.g., the ability to make phosphate-containing compounds. Thus, CeO<sub>2</sub> NP can change the catalytic properties of phosphate anions when binding with them. Moreover, the dynamic of adsorption of phosphate on cerium oxide accorded with the classical model and can be described by the second-order kinetic equation. It means that CeO<sub>2</sub> NP can affect the phosphate-mediated and phosphate-related metabolic intracellular processes, and can demonstrate the phosphatase activity.

We found a correlation between the antibacterial action of CeO<sub>2</sub> NP and the role of PTS in the sugars transportation for different groups of microorganisms. This correlation supports the idea that antibacterial effects of CeO<sub>2</sub> NP depend on inhibition of bacteria's PTS. Indeed, the maximal antibacterial effect of CeO<sub>2</sub> NP is found for bacterias, for which PTS plays the key role in the sugars transportation.

On the other hand, the probiotic effect of CeO<sub>2</sub> NP can also be predicted basing on the activity of PTS in different groups of microorganisms. This system is typical for obligate and facultative anaerobes and is absent for aerobic bacteria. For bacteria that can synthesize sugars, and which live in aerobic condition, the nanoparticles have probiotic action by reducing the toxic effect of ROS that are actively produced in these conditions.

Summarizing, we found out that the result of the interaction between CeO<sub>2</sub> NP and microorganisms depends on physicochemical properties of the nanoparticles, and it is realized through the response of the bacterial cell. This response is influenced by the complex of cascade reactions that depends on the presence or absence of the outer membrane (gram-positive/negative bacteria), the features of the nutrients transportation system (the role of phosphotransferase system), the characteristics of the intracellular metabolism (hyperproduction of peroxides), and genetic activity. Basing on the mentioned properties, it is possible to predict the result of the interaction between the CeO<sub>2</sub> NP and a microorganism.

**Keywords:** cerium dioxide nanoparticles (CeO<sub>2</sub> NP), probiotic effect, antibacterial effect, phosphotransferase system, the mechanism of the action.

*Рецензент – проф. Лобань Г. А.*  
Стаття надійшла 23.02.2016 року