

Напрямок зрушень, ступінь вираженості	Розподіл виявлених зрушень місцевого гомеостазу у вагітних жінок, % (n)		
	1-й триместр	2-й триместр	3-й триместр
4 — Автоімунітет			
Початковий	7,41 (2)	3,70 (1)	7,41 (2)
Помірний	11,11 (3)	7,41 (2)	—
Виражений	—	—	—
Всього	18,52 (5)	11,11 (3)	7,41 (2)
5 — Дистрофія			
Початковий	7,41 (2)	7,41 (2)	11,11 (3)
Помірний	3,70 (1)	11,11 (3)	11,11 (3)
Виражений	—	—	—
Всього	11,11 (3)	18,52 (5)	22,22 (6)

тології. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 7–13.

3. Шаповаленко С. А. Комплексна діагностика і лікування плацентарної недостатності у вагітних на різних стадіях гестації

/ С. А. Шаповаленко // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. – 2001. – № 2. – С. 43–47.

4. Chu H. P. Estradiol and progesterone modulate the nitric oxide/cyclic gmp pathway in the hypothalamus of

female rats and in GT1–1 cells / H. P. Chu, G. Sarkar, A. M. Etgen // Endocrine. – 2004, Jul. – Vol. 24 (2). – P. 177–184.

5. Кожаків В. Л. Субфракційний аналіз складу піхових змивів у прогнозуванні ступеня тяжкості пізнього гестозу у вагітних / В. Л. Кожаків // Одеський медичний журнал. – 2001. – № 5 (67). – С. 83–85.

6. Громько Г. Л. Актвегін: Опыт применения в акушерской практике / Г. Л. Громько; под ред. Э. К. Айламазяна. – СПб., 2000. – С. 33–41.

7. Lominadze A. Assessment of fetus hypoxia treatment with actovegin / A. Lominadze, N. Sharvashidze // Georgian Med News. – 2006. – Vol. 138, N 3. – P. 65–68.

8. Качалина Т. С. Новые методы лечения плацентарной недостаточности при гестозе / Т. С. Качалина, Н. В. Лебедева, Л. Н. Ильина // Нижегородский медицинский журнал. – 2006. – № 8. – С. 184–186.

## УДК 616.61.-008.9

Т. В. Стоєва, Р. Г. Кривда

# ВИВЧЕННЯ РОЛІ *OXALOBACTER FORMIGENES* ПРИ ОКСАЛАТНО-КАЛЬЦІЄВІЙ НЕФРОПАТІЇ У ДІТЕЙ

Одеський національний медичний університет

Сьогодні викликає занепокоєння зростання рівня обмінних нефропатій з активним каменеутворенням у структурі захворювань сечової системи у дітей. Особливо гостро постає ця проблема у підлітків і дітей раннього віку. Визначаються несприятливі тенденції рецидивного нефролітіазу, частота якого сягає 40–50 %, а перебіг набуває ускладненого характеру.

Процеси літогенезу у сечовій системі зумовлені численними етіопатогенетичними факторами, які включають складні порушення метаболізму, генетичну детермінованість, анатомічні вади розвитку, уродинамічні розлади, хронічну сечову інфекцію. Активно вивчається вплив факторів

середовища та особливостей способу життя в формуванні дисметаболических нефропатій [2; 6]. Втім, питання патогенезу залишаються остаточно не вирішеними та потребують подальшого вивчення.

Традиційно проблема уролітіазу розглядається в колі захворювань сечовивідної системи, однак висока частота супровідної патології з боку травної, ендокринної, дихальної, кісткової та інших систем потребує інтеграційного підходу до вивчення патогенетичних аспектів і для оптимізації тактики ведення хворих.

Враховуючи дані щодо участі інтестинальних механізмів при дисметаболических нефропатіях, у даній роботі поставлено за мету вивчення ролі

*Oxalobacter formigenes* при оксалатно-кальцієвій кристалурії у дітей.

## Матеріали та методи дослідження

Під спостереженням знаходилося 45 пацієнтів з діагностованою оксалатно-кальцієвою кристалурією (ОКК) віком від 5 до 18 років. Комплексне обстеження дітей включало детальний аналіз клініко-анамнестичних даних, а також проведення лабораторно-інструментальних досліджень (загальні аналізи сечі, крові, визначення добової екскреції кальцію, фосфатів, оксалатів, рівня креатиніну, наявність кальцифікації сечі, копрологічне та мікробіологічне дослідження калу, УЗД органів травлення



Таблиця 1

## Рівень добової екскреції оксалатів у обстежених дітей, мг

Рівень екскреції оксалатів	Пацієнти з ОКК		Контрольна група		P
	n	%	n	%	
< 20	5	11,1±4,6	7	35,0±10,6	<0,05
20–29	8	17,7±5,6	7	35,0±10,6	>0,05
30–39	19	42,2±7,3	4	20,0±8,9	>0,05
≥ 40	13	28,8±6,7	2	5,0±4,9	<0,05

та сечової системи). Для отримання референтних показників паралельно проведено обстеження 20 здорових дітей.

Ідентифікацію *Oxalobacter formigenes* (Ox<sub>F</sub>) у пацієнтів з ОКК проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). У ході аналізу досліджено 37 зразків калу. Для аналізу використовували 20–30 мг калу, зібраного у пластикові контейнери. Виділення ДНК проводили не пізніше 1–2 год з моменту взяття біологічного матеріалу за допомогою набору “NucleoSpin®Tissue” для виділення геномної ДНК з біологічних тканин “Genomic DNA from Tissue” (Німеччина). Процедура виконували згідно з протоколом “Support protocol for genomic DNA from stool”. Отриману високо-очищену геномну ДНК елюювали у 25,0 мкл розчину TE (1 мМ Na<sub>3</sub>ЕДТА; 10 мМ трис-НСІ; рН 8,0). Для ампліфікації геномної ДНК використовували пару олігонуклеотидних праймерів, специфічних для ділянок гена Ox<sub>f</sub> бактерії *Oxalobacter formigenes*: Ox<sub>f</sub>-6: AATGTAGAGTTGACTGA; Ox<sub>f</sub>-7: TTGATGCTGTTGATACG. Для контролю виділення тотальної фракції геномної бактеріальної ДНК проводили ампліфікацію ДНК з парою олігонуклеотидних праймерів, які специфічні для ділянок більшості анаеробних бактерій: Bac-1: AACTGGAGGAAGGTGGGGAT; Bac-2: AGGAGGTGATCCCAACCGCA. Використані праймери синтезовано Науково-виробничою фірмою «Литех» (Росія).

Ампліфікацію геномної ДНК здійснювали на термоциклері “GeneAmp® PCR 2720” (США). До складу реакційної суміші входили універсальний реакційний буфер (“Applied Biosystems”, США), що містив суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTPs) та ДНК-полімеразу Taq-Gold (5 Од/мкл). Об’єм реакційної суміші дорівнював 25,0 мкл. Для ПЛР використовували 1,0–5,0 нг виділеної

ДНК. Ампліфікацію ДНК виконували за таких умов: першу денатурацію проводили при температурі 94 °С протягом 5 хв, наступні 10 циклів здійснювали за схемою: денатурацію при 94 °С — 1 хв, відпал при 59 °С — 1 хв, елонгацію при 72 °С — 1 хв; під час 30 основних циклів денатурацію проводили при 94 °С — 1 хв, відпал при 55 °С — 1 хв, елонгацію при 72 °С — 1 хв; останню елонгацію при 70 °С — 5 хв.

Продукти ампліфікації виділеної ДНК розділяли методом горизонтального «підводного» електрофорезу в електрофоретичній камері та візуалізували в УФ-спектрі. Молекулярний розмір ДНК *Oxalobacter formigenes* становив 416 бп.

Математичну обробку результатів проводили за допомогою програми STATISTICA 6.0. з використанням методів параметричної та непараметричної статистики.

### Результати дослідження та їх обговорення

За даними обстеження, середній вік дітей з ОКК становив (12,2±5,3) року, за гендерним складом несуттєво переважали пацієнти жіночої статі — (57,7±7,3) % (p>0,05). Середня тривалість диспансерного спостереження з приводу дисметаболическої нефропатії дорівнювала 3,2 року (95 % ДІ 0,6–5,8). У обстежених хворих виявлено персистуючий сечовий синдром у вигляді кристалурії (100 %), лейкоцитурії — (22,2±6,1) %, еритроцитурії — (35,5±7,1) %. Тест на кальцифікацію сечі виявився по-

зитивним у (66,6±7,0) % пацієнтів. Підвищення рівня добової екскреції оксалатів спостерігалось у 57,7 % дітей з ОКК. Середній показник вмісту оксалатів сечі протягом доби у обстежених з ОКК становив (39,7±14,1) мг, а у групі контролю — (23,9±10,1) мг (p>0,05). Вірогідна різниця між показниками в групах порівняння виявлялася при рівні оксалурії протягом 24 год < 20 мг або >40 мг (табл. 1).

Аналіз результатів ПЛР дозволив ідентифікувати *Oxalobacter formigenes* у 8 з 27 досліджених проб калу пацієнтів з ОКК та у 7 з 10 проб контрольної групи (табл. 2).

Дані, наведені у табл. 2, свідчать, що за наявності ОКК виділення *Oxalobacter* було вірогідно (p≤0,03) нижчим, ніж у групі дітей без ознак дисметаболическої нефропатії.

Таблиця 2

### Ідентифікація *Oxalobacter formigenes* у групах обстежених дітей

Показники	<i>Oxalobacter formigenes</i>	
	Результат +	Результат -
Група з ОКК, n (%)	8 (29,6)	19 (70,4)
Контрольна група, n (%)	7 (70)	3 (30)
χ <sup>2</sup>	4,93 p≤0,03	
V <sup>2</sup>	4,80 p≤0,02	
Коефіцієнт Фішера	0,13 p≤0,03	
ВШ	0,18 p=0,04–0,88	



Також у процесі роботи ми проаналізували умовний рівень *Oxalobacter* при ОКК (рис. 1).

Як видно з наведеної діаграми, серед пацієнтів із позитивним результатом ПЛР у більшості випадків (14,8 %) виявлено середній умовний рівень *Oxalobacter*, а мінімальний та максимальний — у 7,4 %.

У ході дослідження для з'ясування значення колонізації *Ox*F при обмінних нефропатіях у дітей проведено аналіз кореляційних зв'язків між лабораторними показниками. Наявність асоціацій досліджуваних показників вивчали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції R. При значенні  $R=0,30-0,69$  вважали силу зв'язку середньою, при значенні  $R=0,70-0,99$  — сильною.

За отриманими результатами коефіцієнт кореляції R між наявністю *Ox*F та рівнем екскреції оксалатів із сечею дорівнює  $-0,74$ . Сильний зворотний зв'язок демонструє підвищення рівня оксалурії за відсутності колонізації *Ox*F (рис. 2).

При визначенні характеру зв'язку між ступенем кристалурії за загальним аналізом сечі та наявністю *Ox*F у калі

отримано коефіцієнт кореляції  $R = -0,48$ .

Враховуючи, що *Ox*F посідає певне місце у мікроекології шлунково-кишкового тракту, проведено дослідження калу для визначення стану мікробіоценозу кишечника у дітей з ОКК. Мікробіологічний аналіз показав зниження титру лактобактерій ( $<10^8$ ) у 53,3 %, біфідобактерій ( $<10^7$ ) — у 42,2 % випадків. Змінена загальна кількість кишкової палички встановлена у 22,2 %, а наявність умовно-патогенної флори ( $>10^5$ ) — у 17,7 % досліджень.

Вивчення асоціацій між позитивними пробами на *Ox*F і зрушеннями кишкового мікробіоценозу показало кореляційний зв'язок на рівні  $R=-0,37$ . Важливо наголосити, що при мікроскопічному аналізі проб калу у  $(6,66\pm 3,70)$  % випадків виявили кристали оксалатів, що також вказує на залучення інтестинальних механізмів у процеси метаболізму.

Метаболізм оксалатів в організмі відбувається у гліоксилат — гліцин — етаноловому циклі та пов'язаний із екзогенним надходженням щавлевої кислоти з їжею та її ендогенним синтезом. Підтримка гомео-

стазу оксалатів відбувається за рахунок виведення надлишку щавлевої кислоти нирками та ШКТ (рис. 3).

У нормі з кишковими випорожненнями втрачається 90 % оксалатів, а 10 % адсорбується і надалі виводиться нирками разом із ендогенно-синтезованими метаболітами. За відсутності *Ox*F підвищена адсорбція спричиняє навантаження на нефрон і призводить до виникнення гіпероксалурії [6].

Специфічна грам-негативна анаеробна бактерія *Oxalobacter formigenes* використовує оксалати як постачальник енергії [1–3]. Метаболічна активність *Ox*F обумовлена специфічними ферментами: *Oxalyl-CoA decarboxylase* та *formyl-CoA transferase*. В експериментальних моделях було показано, що штучна колонізація *Ox*F викликає значне зниження оксалурії завдяки інтракишковому розщепленню оксалатів екзогенного походження [5]. Дослідження, проведені у дорослих із сечокам'яною хворобою, довели, що за наявності *Ox*F знижується ризик виникнення оксалатних конкрементів на 70 % [4].

Гістограма (Spreadsheet1 10v\*45c)  
Var2 = 27\*1\*normal(x; 0,5926; 1,0099)

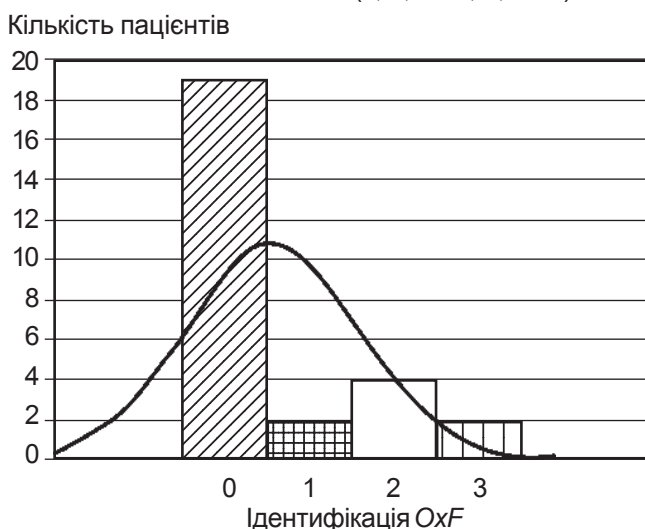


Рис. 1. Результати ідентифікації *Oxalobacter formigenes* у дітей з ОКК: 0 — негативний результат; 1 — мінімальне значення; 2 — середнє значення; 3 — максимальне значення

Scatterplot (Spreadsheet1 10v\*45c)  
Var2 = 2,4849-0,0443\*x

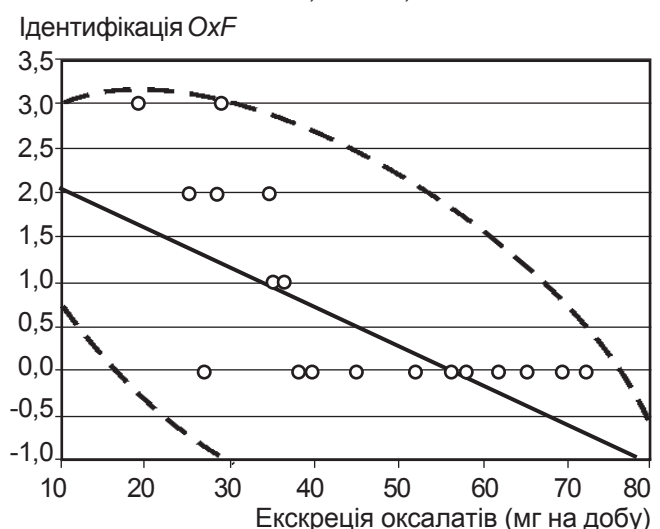


Рис. 2. Кореляційний зв'язок між наявністю *Oxalobacter formigenes* та рівнем екскреції оксалатів із сечею

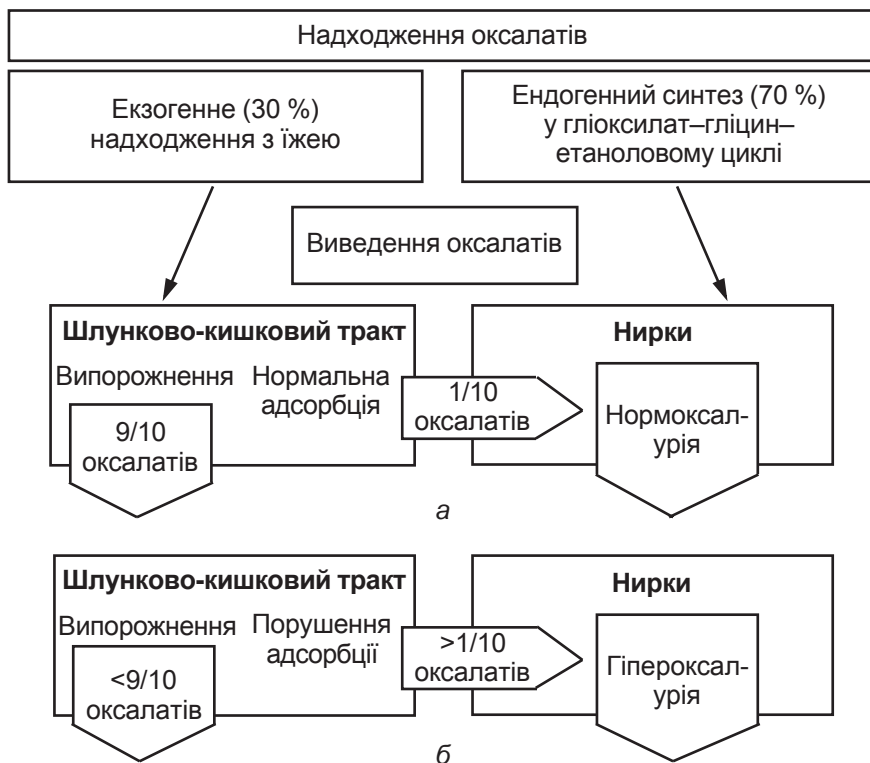


Рис. 3. Схема метаболізму оксалатів у організмі: а — в нормі; б — при порушеннях інтестинальних механізмів метаболізму

Таким чином, у дітей з оксалатно-кальцієвою кристалурією дослідження особливостей кишкового біоценозу, зокрема *OxP*, цілком виправдане, поширює уявлення про патогенетичні механізми, надає додаткових можливостей для

етиопатогенетично-спрямованої корекції.

#### Висновки

1. Ідентифікація *Oxalobacter formigenes* методом ПЛР при оксалатно-кальцієвій кристалурії у дітей виявляє 29,6 %

позитивних результатів, що вірогідно нижче, ніж у групі здорових дітей.

2. Встановлено зворотний кореляційний зв'язок між наявністю *Oxalobacter formigenes* та рівнем оксалурії ( $R=-0,74$ ) при ОКК у дітей.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Siva S. A critical analysis of the role of gut *Oxalobacter formigenes* in oxalate stone disease / S. Siva, R. Barrack, G. Reddy // *BJU International*. – 2008. – N 103. – P. 18–21.

2. Johri N. An Update and Practical Guide to Renal Stone Management / N. Johri, B. Cooper, W. Robertson // *Nephron Clin Practice*. – 2010. – N 116. – P. 159–171.

3. Liebman M. Probiotics and Other Key Determinants of Dietary Oxalate Absorption / M. Liebman, I. Alwahsh // *American Society for Nutrition*. – 2011. – N 2. – P. 254–260.

4. Kaufman D. *Oxalobacter formigenes* May Reduce the Risk of Calcium Oxalate Kidney Stones / D. Kaufman, J. Kelly, G. Curhan // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2008. – N 19. – P. 1197–1203.

5. Hoppe B. *Oxalobacter formigenes*: a potential tool for the treatment of primary hyperoxaluria type 1 / B. Hoppe, B. Beck, N. Gatter // *Kidney International*. – 2006. – N 70. – P. 1305–1311.

6. Воцула В. И. Мочекаменная болезнь: этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика / В. И. Воцула. – Мн. : ВЭВЭР, 2006. – 268 с.

УДК 616.314+616-002.828

Т. П. Терешина<sup>1</sup>, О. Л. Чулак<sup>2</sup>

## ВПЛИВ ІНТЕНСИВНОСТІ ЗУБНИХ ВІДКЛАДЕНЬ І МІКРОБНОЇ КОЛОНІЗАЦІЇ ЗУБА НА ЕСТЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ РЕСТАВРАЦІЇ

<sup>1</sup> ДУ «Інститут стоматології НАМН України», Одеса,

<sup>2</sup> Одеський національний медичний університет

#### Актуальність теми

Реставраційні роботи, що проводяться з приводу дефекту твердих тканин у фронтальній ділянці зубних рядів, сьогодні є актуальним методом стоматологічного лікування [1–3].

Основне завдання таких реставрацій полягає не лише у відновленні цілісності зуба, але і забезпеченні зовнішньої естетики. Водночас саме цього не завжди можна досягти через появу раннього ускладнення, що виявляється у вигляді позначення межі та візу-

ально фіксується між емаллю зуба і косметичною пломбою, так званого крайового забарвлення. Це може бути пов'язано з адсорбцією на місці з'єднання пломба-зуб пігментуютьворувальних мікроорганізмів, які активно розмножуються через недостатнє очищення по-

