

Received: 2013.01.23  
Accepted: 2013.07.22  
Published: 2013.11.27

## ***Oxalobacter formigenes* – charakterystyka i rola w rozwoju kamicy szczawianowo-wapniowej**

### *Oxalobacter formigenes* – characteristics and role in development of calcium oxalate urolithiasis

Agnieszka Torzewska

Zakład Immunobiologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki

#### **Streszczenie**

Drobnoustroje są jednym z istotnych czynników mających znaczenie w powstawaniu kamicy moczowej. Podczas gdy bakterie ureolityczne i nanobakterie przyczyniają się do tworzenia kamieni to pałeczki *Oxalobacter formigenes* pełnią rolę ochronną przed rozwojem kamicy moczowej. *Proteus mirabilis* alkalinizując środowisko dróg moczowych powoduje krystalizację głównie struwitu (fosforanu amonowo-magnezowego). Natomiast nanobakterie, ze względu na możliwość odkładania apatytu na powierzchni swoich komórek, były uważane za czynnik etiologiczny kamieni moczowych złożonych z fosforanów wapnia. *O. formigenes* stanowią naturalną mikroflorę przewodu pokarmowego ludzi i zwierząt. Są bakteriami beztlenowymi, dla których zasadniczym źródłem węgla i energii są szczawiany. Rozkładając szczawiany oraz regulując ich transport przez nabłonek jelita drobnoustroje te pełnią rolę kontrolną nad ilością wydalanych szczawianów. Mniejsza kolonizacja jelita grubego ludzi przez *O. formigenes* może skutkować zwiększeniem stężenia wydalanych szczawianów (hiperoksaluria) i prowadzić m.in. do rozwoju szczawianowo-wapniowej kamicy moczowej. Ze względu na wskazany wyżej korzystny wpływ *O. formigenes* prowadzone są badania nad wykorzystaniem tego drobnoustroju jako bakterii probiotycznych w profilaktyce bądź leczeniu pacjentów z hiperoksalurią zarówno wtórną, jak i pierwotną. Wyniki tych badań są obiecujące, ale nadal wymagają kontynuacji. Badania te dotyczą analizy metabolizmu, jak i budowy *O. formigenes* oraz opracowania metody zastosowania tych bakterii lub ich enzymów odpowiedzialnych za degradację szczawianów jako środka terapeutycznego.

**Słowa kluczowe:** *Oxalobacter formigenes* • kamica moczowa • hiperoksaluria • rozkład szczawianów

#### **Summary**

Microorganisms are one of the important factors for urinary calculi formation. While urease-positive bacteria and nanobacteria contribute to stone formation, *Oxalobacter formigenes* rods play a protective role against the development of urolithiasis. *Proteus mirabilis* alkaline environment of the urinary tract and cause crystallization mainly of struvite (magnesium ammonium phosphate). However, nanobacteria, due to the possibility of apatite deposition on the surface of their cells, have long been considered as an etiological factor of urinary calculi consisting of calcium phosphates. *O. formigenes* is an anaerobe using oxalate as the main source of carbon and energy and occurs as natural gastrointestinal microflora of humans and animals. These bacteria control the amount of oxalate excretion degrading oxalates and regulating their transport by intestinal epithelium. Lower colonization of the human colon by *O. formigenes* can cause increased oxalate excretion and lead to the development of oxalate urolithiasis. Due to the positive influence of *O. formigenes*, there is ongoing research into the

<b>Keywords:</b>	<i>Oxalobacter formigenes</i> • urolithiasis • hyperoxaluria • oxalate degradation
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1077814">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1077814</a>
<b>Word count:</b>	3796
<b>Tables:</b>	2
<b>Figures:</b>	1
<b>References:</b>	58

**Adres autorki:** dr Agnieszka Torzewska, Zakład Immunobiologii Bakterii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Instytut Mikrobiologii, Biotechnologii i Immunologii, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: toraga@biol.uni.lodz.pl

## WPROWADZENIE

Kamica moczowa jest jedną z najczęstszych chorób układu moczowego, a przyczyn powstawania kamieni moczowych jest wiele. W większości przypadków choroba ta wynika z zaburzeń metabolicznych, ale również z zakażeń dróg moczowych, nieprawidłowej diety, otyłości i różnych czynników środowiskowych, np. klimatu. W przypadku każdego rodzaju kamieni, pierwszym etapem powstawania jest krystalizacja bądź wytrącanie mineralnych składników moczu spowodowane nadmiernym ich stężeniem w stosunku do rozpuszczalności w moczu, a w dalszym etapie agregacja powstałych kryształów, zatrzymanie w drogach moczowych i tworzenie coraz to większych złożeń [4,52,58]. Najczęstszym następstwem zaburzeń metabolicznych powodujących kamieć moczową jest nadmierne nagromadzenie wapnia (hiperkalciuria) i szczawianów (hiperoksaluria). Wzrost stężenia szczawianów w moczu nawet przy fizjologicznie prawidłowym stężeniu wapnia może już powodować kamieć moczową [24,34]. Kamica szczawianowa należy do najczęstszych i stanowi około 82% wszystkich kamieni moczowych. Choroba ta nieleczona często nawraca, szacuje się, że po roku częstość nawrotów wynosi 10%, po 5 latach 35%, a po 10 latach nawet 50% [4,54]. Źródła szczawianów w moczu można podzielić na endogenne, stanowiące 75% wszystkich szczawianów i egzogenne, czyli dostarczane wraz z pokarmem. Endogenne szczawiany w prawidłowych warunkach pochodzą z metabolizmu wątrobowego, w tym z przemian kwasu glioksylogowego, askorbinowego i glicyny. W prawidłowej diecie zawartość szczawianów waha się 80-120 mg na dzień. Tylko 6-14% spożywanych szczawianów

jest wchłaniana w przewodzie pokarmowym [5,34,48]. Za hiperoksalurię uważa się stężenie szczawianów w moczu przekraczające 45 mmol/1,73m<sup>2</sup> powierzchni ciała na dobę. Hiperoksaluria związana jest z genetycznie uwarunkowanymi niedoborami enzymów wątrobowych, co skutkuje zwiększeniem stężenia endogennych szczawianów (tzw. hiperoksaluria pierwotna) lub też jest wynikiem zaburzenia wchłaniania i metabolizowania szczawianów w układzie pokarmowym (hiperoksaluria wtórna). Zwiększone wydalanie wapnia występuje również u osób cierpiących na choroby układu pokarmowego, takie jak: choroba Leśniowskiego-Crohna, zespół krótkiego jelita czy też inne choroby, np. mukowiscydozę [44,50]. Hiperoksaluria stwierdzana jest również u osób z otyłością olbrzymią poddanych zabiegowi założenia „bypass” żołądka. U tych pacjentów stwierdzono wzrost stężenia szczawianów już od 3 miesiąca po operacji osiągając stały wysoki poziom nawet do 1-2 roku oraz niewielką kolonizację przewodu pokarmowego *Oxalobacter formigenes* [1,13]. Głównym źródłem szczawianów w przewodzie pokarmowym człowieka są spożywane pokarmy pochodzenia roślinnego: warzywa i owoce. Bogate w te związki są np.: czekolada, szpinak, rabarbar czy migdały [51]. Jak dotąd, nie istnieje zbyt wiele metod skutecznego leczenia hiperoksalurii. Głównie polegają one na modyfikacji diety opartej m.in. na: ograniczeniu dostarczania szczawianów do jelita grubego, obniżeniu ilości spożywanych tłuszczów wpływających na złe wchłanianie, podawanie wapnia tworzącego kompleksy ze szczawianami lub środków wiążących kwasy żółciowe, takich jak np. cholestyramina [4,24]. Przy czym dieta wolna od szczawianów pozwala na znaczne ograniczenie (do około 50%) stężenia tych związków w moczu, ale

ze względu na to, że związek ten powszechnie występuje w pożywieniu jego znaczne ograniczanie może doprowadzić do zubożenia diety [24]. Ponadto jest dostępnych wiele leków, które mogą wpływać na stężenie szczawianów, np. diuretyki tiazydowe, cytrynian potasu, fosforan celulozy, ortofosforany, magnez czy pirydoksyna. Działanie zasadowych cytrynianów polega na tworzeniu rozpuszczalnych kompleksów z wapniem, co zmniejsza precypitację szczawianów wapnia i przesylenie nimi moczu [4,16,48].

Niedawo, jako kolejną przyczynę hiperoksalurii wtórnej, podano zmniejszenie liczby bakterii zasiedlających jelito grube i degradujących szczawiany, w tym *O. formigenes*. Przyjmuje się, że liczba bakterii *O. formigenes* między  $10^6$  a  $10^8$  CFU w jednym gramie kału jest wystarczająca do efektywnego obniżenia absorpcji szczawianów w jelicie [44]. Ze względu na właściwości *O. formigenes*, obecnie badane są czynniki wpływające na adhezję i utrzymywanie się tych bakterii w przewodzie pokarmowym oraz możliwości jego praktycznego wykorzystania u pacjentów z hiperoksalurią i nawracającą kamicą moczową.

### Charakterystyka *Oxalobacter formigenes*

Po raz pierwszy gatunek *O. formigenes* opisali i scharakteryzowali w 1985 roku Alison i wsp. [2]. Są to nieruchliwe, nieprzetrwalnikujące Gram-ujemne pałeczki zasiedlające jelito grube człowieka oraz żwacz przeżuwaczy. Budowa błony komórkowej i ściany komórkowej widoczna w mikroskopie elektronowym jest porównywalna z innymi bakteriami Gram-ujemnymi. Są one bezwzględnie beztlenowcami, których najbardziej interesującą cechą jest zdolność wykorzystywania szczawianów jako głównego źródła węgla i energii. Porównując szczepy izolowane z różnych źródeł wydzielono dwie grupy: reprezentantem I grupy jest szczep OxB, izolowany ze żwacza, a grupy II szczep OxC pochodzący z kału człowieka [2,11]. Grupy te różniły się m.in. profilem komórkowych kwasów tłuszczowych oraz reaktywnością z surowicami skierowanymi przeciw całemu komórkom bakteryjnym. Badania molekularne wykazały również, że grupa II jest bardziej zróżnicowana niż I grupa i możliwe jest wydzielenie w jej obrębie podgrup [2,40]. *O. formigenes* nie wzrasta na powszechnie używanych podłożach do hodowli bakterii beztlenowych, nawet gdy zostaną wzbogacone szczawianami. Podłoża do hodowli tych bakterii zawierają, poza zestawem soli mineralnych i ekstraktem drożdżowym, szczawian sodu (do 110 mM), rezazurynę i octan sodu, który jest dodatkowym źródłem węgla [10]. Poza wymienionymi składnikami na wzrost tych drobnoustrojów nie ma wpływu dostarczenie innych źródeł węgla w postaci cukrów czy alkoholi, a ogranicza go tylko obniżenie stężenia szczawianów [2]. Początkowo bakterie te ze względu na duże zróżnicowanie zostały zaklasyfikowane do odrębnej jednostki taksonomicznej, później jednak w toku dalszych badań zaklasyfikowano je do beta-proteobacteria [2,51].

### Kolonizacja układu pokarmowego zwierząt i ludzi przez *Oxalobacter formigenes*

Pałeczki *O. formigenes* zasiedlają przewód pokarmowy ludzi i zwierząt, gdzie regulują zarówno wchłanianie szczawianów, jak i ich poziom w surowicy. Przyjmuje się, że liczba komórek *O. formigenes* na gram kału wynosi  $10^7$ , a wydajność procesu rozkładu szczawianów w tym środowisku ocenia się na 0,1-4,4 nmol w ciągu godziny na g kału [1]. Badania kału pod względem obecności *O. formigenes* można wykonać zarówno metodą hodowli, jak i posługując się metodą PCR. Próbkę kału wysiewa się na podłoże agarowe zawierające szczawiany, po dłuższym czasie inkubacji (około 3 dni) widoczne są kolonie, wokół których jest przejaśnienie podłoża. Inną metodą określania obecności bakterii rozkładających szczawiany jest określenie spadku stężenia szczawianów w podłożu hodowlanym przez pomiar absorbancji. Metody hodowlane są często długotrwałe, a ponadto ze względu na zróżnicowanie optymalnych warunków hodowli (np. stężenia szczawianów) w obrębie szczepów zawodne i nie dają powtarzalnych wyników. Metoda PCR jest znacznie szybsza, trwa nie dłużej niż 1 dzień, a jak wykazano DNA *O. formigenes* jest stabilny w próbce kału do 24 godzin, co pozwala na powtórzenie badania. Metody molekularne oparte są na poszukiwaniu swoistych sekwencji genów *frc* i *oxc* kodujących enzymy *O. formigenes* odpowiednio transferazę formyl-CoA i dekarboksylazę szczawianylo-CoA, zaangażowanych w rozkład szczawianów. Jednak i w tym przypadku metoda ta nie daje jednoznacznych wyników. Początkowo okazała się bardziej swoista dla szczepów grupy I niż dla grupy II, przy czym szczepy II grupy są częściej izolowane z kału ludzi [40,42]. Zmiana starterów pozwala na amplifikację genu *oxc* wszystkich znanych szczepów *O. formigenes*. Stosując ten zestaw, około 18% próbek kału wykazanych w metodzie PCR jako dodatnie nie zawierało drobnoustrojów rozkładających szczawiany w warunkach beztlenowych, co wskazuje na potrzebę potwierdzenia wyników metodami hodowlanymi [42]. Ponadto stwierdzono, że w badanych próbkach kału u tego samego pacjenta ilość DNA *O. formigenes* różniła się nawet 1000-krotnie w ciągu dnia [38]. Duża zmienność i wspomniana już wcześniej, niejednoznaczność wyników wskazuje na potrzebę opracowania zarówno metody określania obecności *O. formigenes*, jak i zasad pobierania próbek do badań.

Zastosowane metody oznaczania obecności *O. formigenes* w jelicie grubym ludzi przyniosły wiele informacji o stopniu ich zasiedlenia przez ten drobnoustrój w różnych krajach i czasie życia człowieka. Na przykład u dzieci w Korei Południowej do 6 miesiąca życia drobnoustrój ten nie występuje, ale od 6 miesiąca do 3 lat 65% dzieci jest nim skolonizowana. Po uzyskaniu dojrzałości płciowej 90% ludzi posiada w jelicie *O. formigenes* [31]. W badaniach prowadzonych na Ukrainie wykazano, że *O. formigenes* stopniowo zasiedla jelito człowieka od 9-12 miesiąca życia, osiągając najwyższą częstość kolonizacji u zdrowych dzieci w wieku 6-8 lat. Według badań prowadzonych w Polsce u 26% dzieci stwierdzono obecność *O. formigenes* w jelicie [49]. Inni badacze

wykazali, że częstość kolonizacji w ciągu życia obniża się średnio o 25% do osiągnięcia wieku dorosłego [42]. U zdrowych dorosłych osób częstość kolonizacji osiąga 38% w USA, a we wspomnianej już wyżej Korei - 77%. Główną przyczyną spadku stopnia kolonizacji upatruje się w nieprawidłowym lub nadmiernym przyjmowaniu antybiotyków [28,33,42]. Wyniki badań na gryzoniach sugerują, że kolonizacja jest wynikiem horyzontalnego przenoszenia i to bezpośredni kontakt z drobnoustrojem jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za kolonizację. Różnicowanie w stopniu kolonizacji nie jest uzależnione położeniem geograficznym bardziej zależne jest od diety, składu mikrobiomu, czynników gospodarza wpływających na kolonizację i, jak już wspomniano, przyjmowanie antybiotyków oraz bezpośrednia ekspozycja na *O. formigenes* [33]. Niższy stopień kolonizacji w krajach wysoko rozwiniętych tłumaczy się zbyt wysokim stopniem higieny podczas opieki nad noworodkami. Wiadomo, że antybiotyki stanowią czynnik obniżający w przewodzie pokarmowym liczbę bakterii rozkładających szczawiany, ale wciąż mało jest informacji dotyczących wrażliwości tego drobnoustroju na antybiotyki. Badania lekowrażliwości szczepów *O. formigenes* izolowanych od ludzi wykazały, że bakterie te są wrażliwe na wiele powszechnie stosowanych antybiotyków, ale wartość MIC (Minimal Inhibitory Concentration, minimalne stężenie hamujące) jest bardzo zróżnicowana wśród szczepów. Według jednych wyników badań wszystkie badane szczepy *O. formigenes* były odporne na amoksylicynę, ampicylinę i streptomycynę natomiast wrażliwe na doksycylinę i klarytromycynę. Wykazują także szczepowozależną wrażliwość na chloramfenikol, kwas nalidyksowy, erytromycynę i amoksylicynę z kwasem klawulanowym [14,33]. W celu potwierdzenia wpływu długotrwałego podawania antybiotyków na zasiedlanie jelita grubego przez *O. formigenes* badano stopień kolonizacji u chorych leczonych ze względu na zakażenie *Helicobacter pylori*. Wykazano, że długotrwała antybiotykoterapia przyczyniła się do obniżenia stopnia kolonizacji, ale drobnoustroj ten był obecny u ponad 40% osób po miesiącu od rozpoczęcia leczenia [29]. Jednak ze względu na to, że pacjenci ci byli leczeni antybiotykami, na które *O. formigenes* jest wrażliwy można byłoby się spodziewać, że spadek ten będzie znacznie większy. Wynika z tego, że wpływ antybiotyków na *O. formigenes* jest bardziej złożony i może zależeć od sposobu podawania antybiotyku, dawki, także stężenia osiąganego w jelicie, wielkości populacji *O. formigenes* i innych czynników gospodarza [33]. Kolejnymi czynnikami wpływającymi na zasiedlanie przez te bakterie przewodu pokarmowego jest też stężenie rozpuszczalnych szczawianów będących w bezpośrednim kontakcie z nabłonkiem czyli miejscem ich bytowania, ilością spożywanych szczawianów, biodostępności składników odżywczych zawierających szczawiany, niekorzystnych warunków środowiska, takich jak: pH, obecność składników hamujących wzrost i zasiedlanie *O. formigenes* [17,33]. Doane i wsp. [12] wykazali, że liczba *O. formigenes* w kale wzrasta 5-14 razy u osób, u których dobową dietą została wzbogacona szpinakiem zawierającym około 1500 mg szczawianów.

### Rozkład szczawianów przez *Oxalobacter formigenes*

Szczawiany są związkami o wysokim stopniu utlenienia i aby mogły zostać wykorzystane przez bakterie, najpierw muszą ulec redukcji do glioksyłanu. Dalej związek ten może być przekształcony w semialdehyd tartronowy (kwas 2-hydrokso-3-keto-propionowy) lub w hydrokso-piropironian. Dla pałeczek *O. formigenes* charakterystyczne jest tworzenie semialdehydu tartronowego, gdzie głównym enzymem jest karboligaza glioksyłanowa. Szlak ten jest również wykorzystywany w asymilacji związków C<sub>2</sub>, takich jak: glikolan, glicyna, kwas moczowy [39]. W procesie rozkładu szczawianów przez *O. formigenes* związki te są aktywowane i metabolizowane do końcowych produktów dwutlenku węgla i mrówczanu, proces ten jest katalizowany przez dwa enzymy obecne w cytozolu. Przebieg reakcji przedstawiono na ryc 1. Proces rozpadu poprzedza transport przez błonę komórkową substratu. *O. formigenes* pobiera szczawian za pośrednictwem transportera OxIT kodowanego przez gen *oxIT*. Białko OxIT występuje w setkach tysięcy kopii w błonie i szacuje się, że stanowi ponad 10% wszystkich białek błonowych. Transporter ten działa jako antyport, gdzie pobieraniu szczawianów towarzyszy transport produktu – mrówczanu na zewnątrz komórki. Wewnątrz komórki szczawian podlega aktywacji przez połączenie z CoA pochodzącego z formylo-CoA. Reakcja ta katalizowana jest przez enzym formylo-CoA:szczawiano-CoA transferazę (formylotransferaza- CoA) [18,45,51]. Powstanie postaci aktywnej szczawiano-CoA pozwala już na redukcję szczawianów do końcowych produktów CO<sub>2</sub> i mrówczanu z udziałem enzymu – dekarboksylazy szczawianylo-CoA kodowanej przez gen *oxc*. Ten główny enzym w procesie rozkładu szczawianów stanowi około 10% rozpuszczalnego białka komórkowego bakterii i występuje jako tetramer o masie cząsteczkowej 265 kDa [45,51]. Ze względu na obecność w *O. formigenes* i znaczenie tego enzymu poszukiwanie sekwencji genu *oxc* metodą PCR w kale stało się, jak już wcześniej wspomniano, podstawą opracowania metody do oznaczania obecności drobnoustrojów rozkładających szczawiany [43].

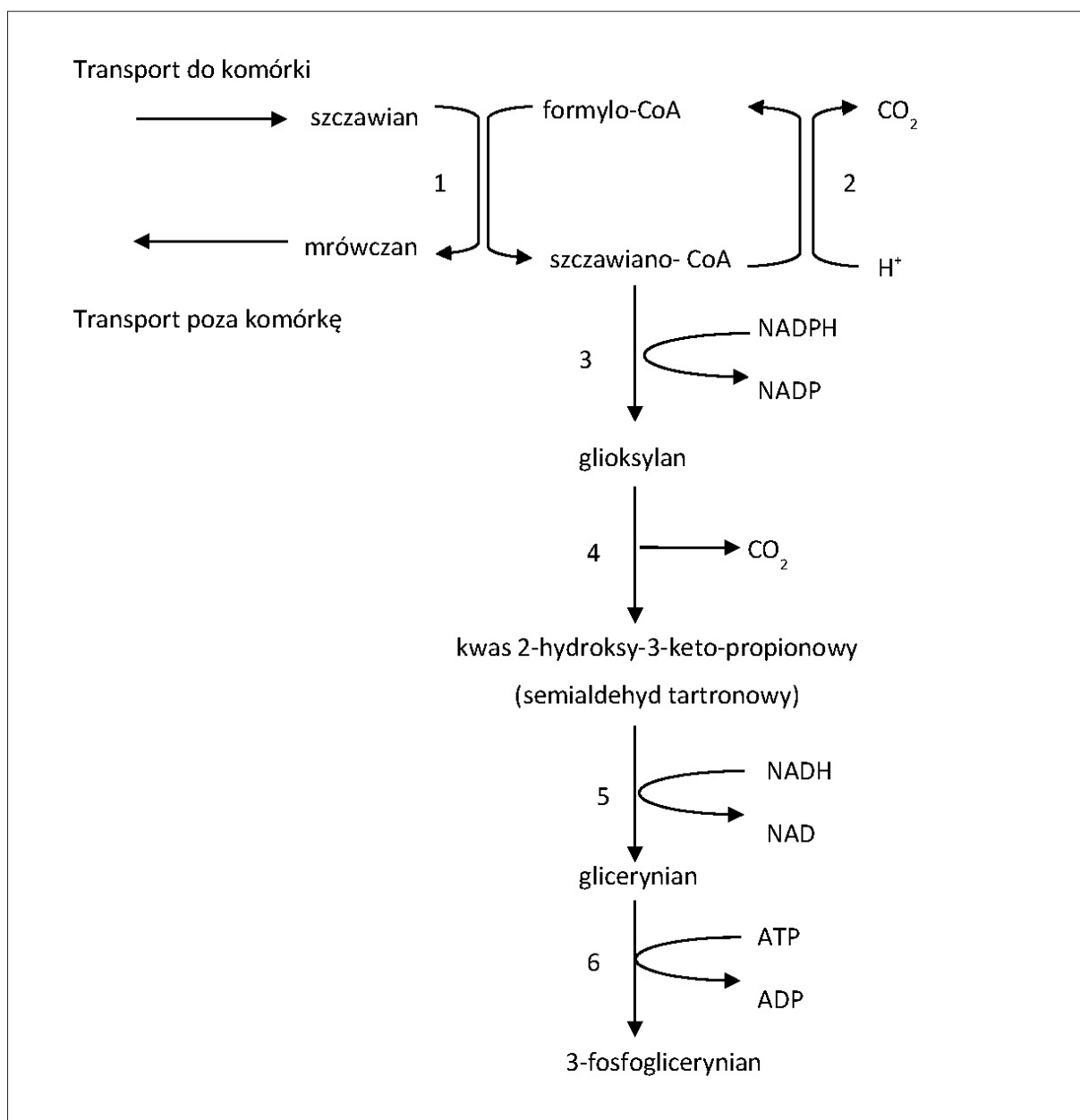
Zdolność do rozkładu szczawianów nie jest cechą unikalną *O. formigenes*. Opisano około 60 szczepów różnych gatunków bakterii wykorzystujących szczawiany jako źródło węgla i energii. Bakterie te są zróżnicowane pod względem środowiska życia czy pochodzenia filogenetycznego. W jelicie ludzi oraz zwierząt poza *O. formigenes* występuje, jak się szacuje, kilkanaście innych gatunków bakterii rozkładających szczawiany. Już w 1940 roku Barber i Gallimore opisali bakterie wykorzystujące szczawiany jako źródło węgla i energii w jelicie człowieka [1,39]. Ito i wsp. wyizolowali z kału ludzi gatunek nazwany *Eggerthella lanta* (dawniej *Eubacterium lentum*), który w szybkim tempie rozkładał szczawiany [27]. Zidentyfikowano również wśród dobrze znanych gatunków bakterii, takich jak *Providencia* sp. i *Enterococcus faecalis*, szczepy które podobnie jak *O. formigenes* zasiedlają jelito i rozkładają szczawiany w warunkach

beztlenowych [21,22]. Charakteryzując proces rozkładu szczawianów oraz układ enzymatyczny u obydwu powyżej wspomnianych gatunków stwierdzono obecność białek odpowiadających masą cząsteczkową enzymom degradującym szczawiany u *O. formigenes*. Stwierdzono, że białka te w reakcjach immunologicznych krzyżowo reagują ze swoistymi przeciwciałami, co może świadczyć o tym, że układ enzymatyczny odpowiadający za ten proces jest konserwatywny. Sam proces przebiega w nieco odmienny sposób, a co istotne w przypadku *Providencia* ssp. i *Enterococcus* ssp. stwierdzono, że tracą one tę właściwość w czasie pasażowania [15,21]. Trudno porównywać szybkość rozkładu szczawianów przez te

drobnoustroje, gdyż jak wspomniano są one bardzo zróżnicowane, ale jedno jest pewne, drobnoustrojem, który jak dotąd został najlepiej scharakteryzowany pod tym względem jest *O. formigenes*.

***Oxalobacter formigenes* a poziom szczawianów i tworzenie kamicy moczowej**

Wyniki wielu niezależnych badań wskazują na korelację obecności *O. formigenes* w przewodzie pokarmowym a rozwojem kamicy szczawianowej. Szacuje się, że w przypadku kolonizacji jelita grubego przez *O. formigenes* ryzyko rozwoju szczawianowo-wapniowej kamicy moczowej spada



**Ryc. 1.** Metabolizm szczawianów u *Oxalobacter formigenes*. W procesie bierze udział następujący układ enzymatyczny: 1 – transferaza formylo-CoA, 2 – dekarboksylaza szczawianylo - CoA, 3 – reduktaza oxalo-CoA, 4 – karboligaza glioksylanowa, 5 – reduktaza kwasu 2-hydroksy-3 keto-propionowego, 6 – kinaza glicerynianowa

**Tabela 1.** Porównanie częstości kolonizacji ludzi przez *O. formigenes* z różnych rejonów geograficznych z i bez kamicy szczawianowo-wapniowej

Pacjenci		Procent kolonizacji		Piśmiennictwo
Kraj	Wiek	Z kamicią [%]	Bez kamicy [%]	
Indie	7-68 lat	(n=63) 31-36	(n=40) 65	[30]
Indie	25-60 lat	(n=80) 31,3	(n=70) 62,3	[36]
USA	brak danych	(n=35) 26	(n=10) 60	[53]
USA	średnio 48 lat	(n=247) 17	(n=259) 38	[28]
Korea	średnio 47 lat	(n=103) 45,6	(n=233) 76,8	[31]
Polska	4-18 lat	(n=76) 27,6	(n=50) 26	[49]

n - liczebność badanej populacji

nawet o 70%. Wspomniane badania obejmowały analizę poziomu szczawianów w moczu oraz obecność *O. formigenes* w grupie pacjentów z kamicią szczawianową i u osób zdrowych. Jak przedstawiono w tabeli 1 w większości przykładów spadek kolonizacji u chorych z kamicią w porównaniu z osobami zdrowymi wynosi średnio 50%. Wyniki jednych z badań wskazują, że 62% wśród osób zdrowych było skolonizowanych przez te bakterie, natomiast o połowę mniej (31-36%) wykazano je u osób z jednym lub dwoma epizodami kamicy. Spadek ten jest szczególnie widoczny u chorych z nawracającą kamicią (więcej niż trzy epizody choroby), gdzie tylko 5-7% osób była skolonizowana przez *O. formigenes* [35]. Podobne badania w grupie 103 chorych ze stwierdzoną kamicią szczawianową pozwoliły uzyskać nieco inne wyniki. W tym przypadku stwierdzono obecność *O. formigenes* u prawie 50% osób z kamicią moczową, a średnia liczba bakterii w stolcu wynosiła  $1,1 \times 10^7$  j.t.k./ml (CFU/ml). Stwierdzono istotną statystycznie różnicę między grupą zasiedloną, a niezasiedloną tymi pałeczkami w stężeniu szczawianów w dobowej zbiórce moczu i wynosiły one odpowiednio 0,36 i 0,29 mmol. Stężenie szczawianów było zależne od liczby bakterii wraz ze wzrostem ich liczby malało stężenie szczawianów w moczu [32].

Niższą kolonizację *O. formigenes* i związaną z tym kamicią szczawianową stwierdzono również u osób cierpiących na przewlekłe zakażenia dróg moczowych. Siener i wsp. badali stężenie szczawianów w moczu dwóch grup kobiet z lub bez nawracających zakażeń dróg moczowych, u których stwierdzono kamicią szczawianową [47]. Badacze ci stwierdzili zna-

cząco wyższy poziom szczawianów u kobiet z nawracającym zakażeniem dróg moczowych. Zakażenia te mając charakter przewlekły i nawrotowy, wymagają długotrwałej antybiotykoterapii, co sprzyja eradykacji mikroflory jelitowej rozkładającej szczawiany m.in. *O. formigenes*. Konsekwencją tego było zwiększenie absorpcji i wydalania szczawianów pochodzących z przewodu pokarmowego. Skutkiem następującej hiperoksalurii jest powstawanie szczawianowych kamieni moczowych. Zakażenie dróg moczowych jest wywołane przez różne patogeny w tym najczęściej *Escherichia coli*, ale również przez bakterie ureazododatnie np. *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* czy *Klebsiella pneumoniae*. W przypadku zakażonych bakteriami ureazododatnimi np. *P. mirabilis* rozwój kamicy może być bardziej złożony. Ureaza tych bakterii powoduje hydrolizę mocznika i alkalizację moczu. Wzrost pH moczu powoduje wypadanie i krystalizację fosforanów wapnia i magnezu jako struwit (fosforan amonowo-magnezowy) i węglan apatyty (węglan fosforowo-wapniowy) [52]. Dodatkowo w podwyższonym pH dochodzi do powstawania szczawianów z kwasu askorbinowego obecnego w moczu [23]. W takich warunkach może wystąpić krystalizacja zarówno szczawianów wapnia, węglanu apatyty jak i struwitu.

#### Praktyczne wykorzystanie rozkładających szczawiany *Oxalobacter formigenes*

Wraz z udowodnieniem wpływu *O. formigenes* na utrzymywanie prawidłowego stężenia szczawianów pojawiła się hipoteza wykorzystania tego drobnoustroju jako

**Tabela 2.** Wpływ drobnoustrojów na stężenie wydalanych szczawianów. Drobnoustroje podawano pacjentom z hiperoksalurią przez 4 tygodnie

Drobnoustrój	Pacjenci	Spadek stężenia szczawianów w moczu [%]	Piśmiennictwo
<i>Oxalobacter formigenes</i>			
	2-11-miesięczne dziewczynki	24-44	[26]
	4 dorosłe osoby	40	[14]
	11 dzieci	24-48	[25]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>			
	6 dorosłych	40	[6]
<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> (Oxadrop <sup>®</sup> )			
	10 dorosłych	19	[35]

bakterii probiotycznych w leczeniu wszystkich schorzeń, którym towarzyszy hiperoksaluria. Początkowo sprawdzono, czy wprowadzenie do przewodu pokarmowego *O. formigenes* spowoduje kolonizację i zmianę stopnia wydalania szczawianów. Modelem do badań *in vivo* są szczury laboratoryjne, w których jelitach w przeciwieństwie do szczurów dzikich nie stwierdzono obecności *O. formigenes*. Badania wykazały, że nie wszystkie szczepy *O. formigenes* mają zdolność zasiedlenia przewodu pokarmowego tych zwierząt, szczepy wcześniej izolowane od świń, swinek morskich, dzikich szczurów i ludzi zasiedlały jelito ślepe szczurów laboratoryjnych, natomiast te, które pochodziły ze zwacza nie miały tej zdolności [9]. Dalsze badania wykazały, że wtórna kolonizacja jest również zależna od równowagi między ilością wapnia w świetle przewodu pokarmowego, a dostępnością szczawianów. Usunięcie z diety zwierzętom laboratoryjnym szczawianów i/lub zwiększenie stężenia wapnia powoduje wyeliminowanie w ciągu kilku dni (5-10 dni) sztucznie skolonizowanych *O. formigenes* [41]. Natomiast podawanie przynajmniej 0,5% szczawianów i dieta nisko wapniowa (0,01%) pozwala na dłuższe utrzymanie *O. formigenes* w przewodzie pokarmowym szczurów [8,17]. Kolonizacja zwierząt przez *O. formigenes* przyniosła zamierzony efekt, gdyż w przypadku szczurów, u których sztucznie wywoływano hiperoksalurię stwierdzono spadek stężenia wydalanych szczawianów po zasiedleniu tymi bakteriami [9,41]. Podobne badania przeprowadzono na ludziach. Pierwsze takie próby przeprowadzono na dwóch ochotnikach, którzy w wyniku długotrwałej antybiotykoterapii utracili kolonizację jelit *O. formigenes*. Podano im około 0,5 g mokrej masy bakterii w specjalnie przygotowanej kanapce. Szczepy pochodziły zarówno ze zwacza przeżuwaczy, jak i jelita grubego człowieka, a przed przygotowaniem inokulum bakterie przechowywano w temperaturze -20 °C. W obu przypadkach w wyniku kolonizacji ich jelita grubego przez podane szczepy *O. formigenes* wykazano zdolność prawidłowego wchłaniania i rozkładu szczawianów [14]. Mimo że podanie *O. formigenes* ludziom i zwierzętom laboratoryjnym doprowadziło do ograniczenia hiperoksalurii, to zastosowanie tej metody ma swoje ograniczenie. Zasiedlenie jelit zarówno zwierząt, jak i ludzi ma charakter przejściowy, po zaprzestaniu podawania bakterii po jakimś czasie *O. formigenes* nie jest już wykrywany w kale. Skłoniło to do zmiany podejścia terapeutycznego m.in. przez zastosowanie innych bakterii rozkładających szczawiany w tym probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej. W tym przypadku mamy do czynienia z łatwą izolacją bakterii i większą możliwością doboru szczepów, dobrą kolonizacją wtórną u ludzi, ale też bardzo zróżnicowaną i na ogół słabszą zdolność rozkładu szczawianów [20,35,37]. Porównano aktywność enzymu rozkładającego szczawiany (dekarboksylazy szczawianylo-CoA) *Oxalobacter formigenes* z aktywnością enzymu jednego z przedstawicieli bakterii fermentacji mlekowej – *Lactobacillus acidophilus* i stwierdzono istotnie słabszą enzymatycznie zdolność rozkładu szczawianów przez *L. acidophilus* [5]. Weese i wsp. określając zdolność różnych bakterii fermentacji mlekowej do rozkładu szczawianów

*in vitro* stwierdzili, że spośród 37 badanych bakterii fermentacji mlekowej tylko 17% degradowało szczawiany [56]. Campieri i wsp. wykazali brak lub słabą zdolność do rozkładu *L. plantarum* i *L. brevis* natomiast *L. acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium infants* rozkładają szczawiany [6]. Tabela 2 zawiera wybrane wyniki badań, w których podawano pacjentom *O. formigenes* lub bakterie fermentacji mlekowej. W każdym przypadku zaobserwowano spadek stężenia szczawianów w moczu po 4-tygodniowym leczeniu i na porównywalnym poziomie w przypadku obu grup drobnoustrojów.

Ze względu na napotykaną trudności w uzyskaniu i utrzymaniu wtórnej kolonizacji *O. formigenes* opracowano metodę obniżenia hiperoksalurii przez podawanie wyizolowanych bakteryjnych enzymów. Badania te przeprowadzono na szczurach, którym podawano wraz z pokarmem 2% szczawianów oraz kapsułki zawierające enzymy uzyskane z *O. formigenes* wraz z kofaktorami szczawiano-CoA, MgCl<sub>2</sub> i fosforan tiaminy. Po 15 dniach grupa zwierząt otrzymujących enzymy miała znacznie niższy poziom szczawianów niż grupa kontrolna [46]. Enzymy rozkładające szczawiany wytwarzane przez *O. formigenes* stosowano również w zapobieganiu odkładania składników mineralnych na biomateriałach. Mineralizacja biomateriałów, takich jak np. cewniki urologiczne, jest poważnym problemem medycznym i powodowana jest głównie przez tworzony na ich powierzchni biofilm bakteryjny, ale także może mieć charakter nieinfekcyjny zależny od odkładania się soli, głównie wapniowych na powierzchniach abiotycznych. Watterson i wsp. powlekali krążki z silikonu szczawianylo-CoA-dekarboksylazą, formylo-CoA-transferazą i CoA [55]. Powlekane fragmenty silikonu wszczepiono królikom do pęcherza moczowego. Po 30 dniach na krążkach powleczonych enzymami *O. formigenes* stwierdzono znacznie mniejszy stopień inkrustacji tego biomateriału solami mineralnymi niż w przypadku kontroli, którą były silikonowe fragmenty niezawierające enzymów. Autorzy tych badań sugerują, że może to stanowić podstawę do opracowania nowych technik zapobiegania inkrustacji biomateriałów, zwłaszcza, że nie zaobserwowano działania toksycznego.

*O. formigenes* został również zastosowany u pacjentów z hiperoksalurią typu I. Hiperoksaluria typu I jest chorobą dziedziczną i zagrażająca życiu, której konsekwencją jest nie tylko kamica szczawianowo-wapniowa, ale też nefrokalcynoza oraz uszkodzenie nerek i wątroby. Badania te miały charakter kliniczny i polegały na podaniu 9 dzieciom odpowiednio przygotowanych bakterii *O. formigenes*. Siedmiu dzieci miało nerki prawidłowo funkcjonujące, a dwoje dzieci w znacznym stopniu niewydolne. Dzieci otrzymywały dwa razy dziennie łyżeczkę od herbaty żywych zamrożonych komórek bakteryjnych. Efektem tego było zmniejszenie o 20-50% wydalania szczawianów w moczu z tendencją wzrostu po zakończeniu leczenia. U dzieci dializowanych widoczne było obniżenie stężenia szczawianów we krwi. Dobre wyniki badań zachęciły do dalszej pracy w kierunku opracowania lepszej postaci podawania bakterii, np. jako kapsułki

i zastosowania tego preparatu również u pacjentów z mukowiscydozą i hiperoksalurią typu II [25,46].

Wykorzystując enzymatyczną reakcję rozkładu szczawianów do przeciwdziałania hiperoksalurii Chen i wsp. przedstawili hipotezę, że dobrą metodą terapeutyczną byłoby otrzymanie komórek macierzystych mających zdolność rozkładu szczawianów [7]. Komórki macierzyste naturalnie występują na dnie mieszków jelitowych i odpowiadają za stałą regenerację i proliferację nabłonka jelitowego. Autorzy ci wprowadzili geny *O. formigenes* *frc* i *oxc* do mysich komórek macierzystych pochodzących z jelita, nadając im w ten sposób zdolność rozkładu szczawianów. Prowadzone są badania nad wykorzystaniem tej metody w leczeniu.

Jedną z przyczyn powstawania szczawianowych kamieni moczowych jest przypuszczalnie nieprawidłowy komórkowy transport szczawianów [57]. Stwierdzono znacznie wyższy przepływ szczawianów przez błonę erytrocytów u osób z kamicią moczową, niż w grupie kontrolnej [3]. Hesse i wsp. stosując test absorpcji szczawianów wyznakowanych <sup>13</sup>C, wykazali że u osób z nawracającą kamicią szczawianową występuje zwiększona absorpcja szczawianów przez jelita [19]. Test ten również wykazał silną korelację między absorpcją szczawianów w jelitach, a ich stężeniem w dobowej zbiórce moczu pacjentów z kamicią. Hatch i wsp. sprawdzili na modelu zwierzęcym czy *O. formigenes* kolonizując okrężnicę, zmniejsza wydalanie szczawianów przez zmianę transportu szczawianów w jelitach oraz wpływu zawartości wapnia w środowisku na kolonizację tych pałeczek [17]. Badając transport szczawianów w okrężnicy szczurów stwierdzili, że bakterie te poza zdolnością rozkładu szczawianów oddziałują z nabłonkiem jelita grubego,

regulując ilość wydalanych szczawianów. Wykazano, że w zależności od swoich potrzeb *O. formigenes* może wykorzystywać szczawiany również z endogennego źródła miejscowo indukując transport szczawianów przez nabłonek jelita i ich wydzielanie.

## PODSUMOWANIE

Drobnoustroje rozkładające szczawiany są w ostatnich latach intensywnie badane w kierunku praktycznego zastosowania ich w profilaktyce lub leczeniu szczawianowo-wapniowej kamicy moczowej. Pałeczki *O. formigenes* przeprowadzają proces rozkładu w sposób najbardziej efektywny i stanowią naturalną mikroflorę jelita grubego człowieka. Badania wykonane zarówno w warunkach *in vitro*, *in vivo* oraz badania kliniczne wykazały ścisłą korelację między zasiedleniem jelita człowieka przez te bakterie, stopniem przesylenia moczu szczawianami i tworzeniem kamicy moczowej. Jednak zastosowanie ich w leczeniu jest nadal niemożliwe i budzi kontrowersje. Problemy w praktycznym zastosowaniu bakterii wynikają głównie z trudnością w utrzymaniu wtórnej kolonizacji *O. formigenes* u chorych obciążonych hiperoksalurią. Wydaje się, że bardziej obiecujące jest opracowanie metody leczenia przez wykorzystanie bakteryjnych enzymów zaangażowanych w proces rozkładu szczawianów. Jednak dalsze prace powinny nie tylko skupiać się na badaniach klinicznych, ale również obejmować charakterystykę *O. formigenes*. Nadal brak jest wielu informacji dotyczących tego drobnoustroju, w tym czynników odpowiedzialnych za zasiedlanie i wzrost w organizmie gospodarza, a także wyjaśnienie zróżnicowania *Oxalobacter* sp. pod względem budowy, aktywności metabolicznej w tym m.in. stosunku do tlenu tych bakterii.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Allison M.J., Cook H.M., Milne D.B., Gallagher S., Clayman R.V.: Oxalate degradation by gastrointestinal bacteria from humans. *J. Nutr.*, 1986; 116: 455-460
- [2] Allison M.J., Dawson K.A., Mayberry W.R., Foss J.G.: *Oxalobacter formigenes* gen. nov., sp. nov.: oxalate-degrading anaerobes that inhabit the gastrointestinal tract. *Arch. Microbiol.*, 1985; 141: 1-7
- [3] Baggio B., Gambaro G., Marchini F., Cicerello E., Tenconi R., Clementi M.: An inheritable anomaly of red-cell oxalate transport in "primary" calcium nephrolithiasis correctable with diuretics. *N. Engl. J. Med.*, 1986; 314: 599-604
- [4] Bele U., Hajdinjak T.: The role of oxalate in urolithiasis. *Webmed-central Urology*, 2012; 3: WMC002877
- [5] Bendazzoli C., Turrone S., Gotti R., Olmo S., Brigidi P., Cavrini V.: Determination of oxalyl-coenzyme A decarboxylase activity in *Oxalobacter formigenes* and *Lactobacillus acidophilus* by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2007; 1: 350-356
- [6] Campieri C., Campieri M., Bertuzzi V., Swennen E., Matteuzzi D., Stefoni D., Pirovano F., Centi C., Ulisse S., Famularo G., De Simone C.: Reduction of oxaluria after an oral course of lactic acid bacteria at high concentration. *Kidney Int.*, 2001; 60: 1097-1105
- [7] Chen Z., Liu G., Ye Z., Kong D., Yao L., Guo H., Yang W., Yu X.: The construction of an oxalate-degrading intestinal stem cell population in mice: potential new treatment option for patients with calcium oxalate calculus. *Urol. Res.*, 2012; 40: 131-141
- [8] Daniel S.L., Hartman P.A., Allison M.J.: Microbial degradation of oxalate in the gastrointestinal tracts of rats. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987; 53: 1793-1797
- [9] Daniel S.L., Hartman P.A., Allison M.J.: Intestinal colonization of laboratory rats with *Oxalobacter formigenes*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1987; 53: 2767-2770
- [10] Dawson K.A., Allison M.J., Hartman P.A.: Characteristics of anaerobic oxalate-degrading enrichment cultures from the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980; 40: 840-846
- [11] Dawson K.A., Allison M.J., Hartman P.A.: Isolation and some characteristics of anaerobic oxalate-degrading bacteria from the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1980; 40: 833-839
- [12] Doane L.T., Liebman M., Caldwell D.R.: Microbial oxalate degradation: effect on oxalate and calcium balance in humans. *Nutr. Res.*, 1989; 9: 957-964



- [13] Duffey B.G., Miyaoka R., Holmes R., Assimos D., Hinck B., Korman E., Kielef F., Ikramuddin S., Kellogg T., Moeding A., Monga M.: Oxalobacter colonization in the morbidly obese and correlation with urinary stone risk. *Urology*, 2011; 78: 531-534
- [14] Duncan S.H., Richardson A.J., Kaul P., Holmes R.P., Allison M.J., Stewart C.S.: *Oxalobacter formigenes* and its potential role in human health. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002; 68: 3841-3847
- [15] Goldfarb D.S.: Microorganisms and calcium oxalate stone disease. *Nephron. Physiol.*, 2004; 98, p48-p54
- [16] Goldfarb D.S., Modersitzki F., Asplin J.R.: A randomized controlled trial of lactic acid bacteria for idiopathic hyperoxaluria. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007; 2: 745-749
- [17] Hatch M., Cornelius J., Allison M., Sidhu H., Peck A., Freel R.W.: *Oxalobacter* sp. reduces urinary oxalate excretion by promoting entering oxalate secretion. *Kidney Int.*, 2006; 69: 691-698
- [18] Heider J.: A new family of CoA-transferases. *FEBS Lett.*, 2001; 509: 345-349
- [19] Hesse A., Schneeberger W., Engfeld S., Von Unruh G.E., Sauerbruch T.: Intestinal hyperabsorption of oxalate in calcium oxalate stone formers: application of a new test with 13C2 oxalate. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999; 10: S329-S333
- [20] Hoels C.E., Altwien J.E.: The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *Eur. Urol.*, 2005; 47: 288-296
- [21] Hokama S., Honma Y., Toma C., Ogawa Y.: Oxalate degrading *Enterococcus faecalis*. *Microbiol. Immunol.*, 2000; 44: 235-240
- [22] Hokama S., Toma C., Iwanaga M., Morozumi M., Sugaya K., Ogawa Y.: Oxalate-degrading *Providencia rettgeri* isolated from human stools. *Int. J. Urol.*, 2005; 12: 533-538
- [23] Hokama S., Toma C., Jahana M., Iwanaga M., Morozumi M., Hatanoto T., Ogawa Y.: Ascorbate conversion to oxalate in alkaline milieu and *Proteus mirabilis* culture. *Mol. Urol.*, 2000; 4: 321-328
- [24] Holmes R.P., Goodman H.O., Assimos D.G.: Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. *Kidney Int.*, 2001; 59: 270-276
- [25] Hoppe B., Beck B., Gatter N., von Unruh G., Tischer A., Hesse A., Laube N., Kaul P., Sidhu H.: *Oxalobacter formigenes*: a potential tool for the treatment of primary hyperoxaluria type 1. *Kidney Int.*, 2006; 70: 1305-1311
- [26] Hoppe B., Dittlich K., Fehrenbach H., Plum G., Beck B.B.: Reduction of plasma oxalate levels by oral application of *Oxalobacter formigenes* in 2 patients with infantile oxalosis. *Am. J. Kid. Dis.*, 2011; 58: 453-455
- [27] Ito H., Miura N., Masai M., Yamamoto K., Hara T.: Reduction of oxalate content of foods by the oxalate degrading bacterium, *Eu-bacterium lentum* WHY-1. *Int. J. Urol.*, 1996; 3: 31-34
- [28] Kaufman D.W., Kelly J.P., Curhan G.C., Anderson T.E., Dretler S.P., Preminger G.M., Cave D.R.: *Oxalobacter formigenes* may reduce the risk of calcium oxalate kidney stones. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008; 19: 1197-1203
- [29] Kharlamb V., Schelker J., Francois F., Jiang J., Holmes R.P., Goldfarb D.S.: Oral antibiotic treatment of *Helicobacter pylori* leads to persistently reduced intestinal colonization rates with *Oxalobacter formigenes*. *J. Endourol.*, 2011; 25: 1781-1785
- [30] Kumar R., Mukherjee M., Bhandari M., Kumar A., Sidhu H., Mittal R.D.: Role of *Oxalobacter formigenes* in calcium stone disease: a study from North India. *Eur. Urol.*, 2002; 41: 318-322
- [31] Kwak C., Jeong B.C., Kim H.K., Kim E.C., Chox M.S., Kim H.H.: Molecular epidemiology of fecal *Oxalobacter formigenes* in healthy adults living in Seoul, Korea. *J. Endourol.*, 2003; 17: 239-243
- [32] Kwak C., Kim H.K., Kim E.C., Choi M.S., Kim H.H.: Urinary oxalate levels and the enteric bacterium *Oxalobacter formigenes* in patients with calcium oxalate urolithiasis. *Eur. Urol.*, 2003; 44: 475-481
- [33] Lange J.N., Wood K.D., Wong H., Otto R., Mufarrij P.W., Knight J., Akpınar H., Holmes R.P., Assimos D.G.: Sensitivity of human strains of *Oxalobacter formigenes* to commonly prescribed antibiotics. *Urology*, 2012; 79: 1286-1289
- [34] Liebman M., Al-Wahsh I.A.: Probiotics and other key determinants of dietary oxalate absorption. *Adv. Nutr.*, 2011; 2: 254-260
- [35] Lieske J.C., Goldfarb D.S., Simone C., Regnier C.: Use of a probiotic to decrease enteric hyperoxaluria. *Kidney Int.*, 2005; 68, 1244-1249
- [36] Mittal R.D., Kumar R., Mittal B., Prasad R., Bhandari M.: Stone composition, metabolic profile and the presence of the gut-inhabiting bacterium *Oxalobacter formigenes* as risk factors for renal stone formation. *Med. Princ. Pract.*, 2003; 12: 208-213
- [37] Murphy C., Murphy S., O'Brien F., O'Donoghue M., Boileau T., Sunvold G., Reinhart G., Kiely B., Shanahan F., O'Mahony L.: Metabolic activity of probiotics - oxalate degradation. *Vet. Microbiol.*, 2009; 136: 100-107
- [38] Prokopovich S., Knight J., Assimos D.G., Holmes R.P.: Variability of *Oxalobacter formigenes* and oxalate in stool samples. *J. Urol.*, 2007; 178: 2186-2190
- [39] Sahin N.: Oxalotrophic bacteria. *Res. Microbiol.*, 2003; 154: 399-407
- [40] Sidhu H., Allison M., Peck A.B.: Identification and classification of *Oxalobacter formigenes* strains by using oligonucleotide probes and primers. *J. Clin. Microbiol.*, 1997; 35: 350-353
- [41] Sidhu H., Allison M.J., Chow J.M., Clark A., Peck A.B.: Rapid reversal of hyperoxaluria in rat model after probiotic administration of *Oxalobacter formigenes*. *J. Urol.*, 2001; 166: 1487-1491
- [42] Sidhu H., Enatska L., Ogden S.D., Williams W., Allison M.J., Peck A.B.: Evaluating children in the Ukraine for colonization with the intestinal bacterium, *Oxalobacter formigenes*, using a polymerase chain reaction-based detection system. *Mol. Diagn.*, 1997; 2: 89-97
- [43] Sidhu H., Holmes R.P., Allison M.J., Peck A.B.: Direct quantification of the enteric bacterium *Oxalobacter formigenes* in human fecal samples by quantitative competitive-template PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 1999; 37: 1503-1509
- [44] Sidhu H., Hoppe B., Hesse A., Tenbrock K., Bromme S., Rietschel E., Peck A.B.: Absence of *Oxalobacter formigenes* in cystic fibrosis patients: a risk factor for hyperoxaluria. *Lancet*, 1998; 352: 1026-1029
- [45] Sidhu H., Ogden S.D., Lung H.Y., Luttg B.G., Baetz A.L., Peck A.B.: DNA sequencing and expression of the formyl coenzyme A transferase gene, *frc*, from *Oxalobacter formigenes*. *J. Bacteriol.*, 1997; 179: 3378-3381
- [46] Sidhu H., Schmidt M.E., Cornelius J.G., Thamilselvan S., Khan S.R., Hesse A., Peck A.B.: Direct correlation between hyperoxaluria/oxalate stone disease and the absence of the gastrointestinal tract-dwelling bacterium *Oxalobacter formigenes*: possible prevention by gut recolonization or enzyme replacement therapy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1999; 10 (Suppl. 14): 334-340
- [47] Siener R., Ebert D., Hesse A.: Urinary oxalate excretion in female calcium oxalate stone formers with and without a history of recurrent urinary tract infections. *Urol. Res.*, 2001; 29: 245-248
- [48] Siener R., Hesse A.: The effect of different diets on urine composition and the risk of calcium oxalate crystallization in healthy subjects. *Eur. Urol.*, 2002; 42: 289-296
- [49] Sikora P., Niedźwiadek J., Mazur E., Paluch-Oleś J., Zajączkowska M., Koziol-Montewka M.: Intestinal colonization with *Oxalobacter formigenes* and its relations to urinary oxalate excretion in pediatric patients with idiopathic calcium urolithiasis. *Arch. Med. Res.*, 2009; 40: 369-373
- [50] Spadło A., Kowalewska-Pietrzak M., Młynarski W.: Probiotyki w zapobieganiu i leczeniu hiperoksalurii i kamicy szczawianowo-wapniowej. *Przegląd Pediatryczny*, 2008; 38: 218-221

[51] Stewart C.S., Duncan S.H., Cave D.R.: *Oxalobacter formigenes* and its role in oxalate metabolism in the human gut. FEMS Microbiol. Lett., 2004; 230: 1-7

[52] Torzewska A.: Udział drobnoustrojów w powstawaniu kamieni moczowych. Postępy Mikrobiol., 2003; 42: 39-53

[53] Troxel S.A., Sidhu H., Kaul P., Low R.K.: Intestinal *Oxalobacter formigenes* colonization in calcium oxalate stone formers and its relation to urinary oxalate. J. Endourol., 2003; 17: 173-176

[54] Urbarri J., Oh M.S., Carrol H.J.: The first kidney stone. Ann. Intern. Med., 1989; 111: 1006-1009

[55] Watterson J.D., Cadieux P.A., Beiko D.T., Cook A.J., Burton J.P., Harbottle R.R., Lee C. Rowe E., Sidhu H., Reid G., Denstedt J.D.: Oxalate-degrading enzymes from *Oxalobacter formigenes*: a novel device coating to reduce urinary tract biomaterial-related encrustation. J. Endourol., 2003; 17: 269-274

[56] Weese J.S., Weese H.E., Yuricek L., Rousseau J.: Oxalate degradation by intestinal lactic acid bacteria in dogs and cats. Vet. Microbiol., 2004; 101: 161-166

[57] Williams H.E., Wandzilak T.R.: Oxalate synthesis, transport and the hyperoxaluric syndromes. J. Urol., 1989; 141: 742-749

[58] Zieliński J., Kokot F., Borkowski A., Leńko J.: Kamica moczowa. W: Urologia, Urologia kliniczna, red.: J. Zieliński, J. Leńko, PZWL Warszawa, 1995, 280-322

---

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.