CZU 579.8

Studiul nanobacteriilor în calculii biliari și renali

Anastasia LEȘCO, licențiat anul IV,
Universitatea de Stat din Tiraspol
dr., lec. univ. Alina TROFIM,
Universitatea de Stat din Moldova
dr., conf. cerc. Nina FRUNZE,
Institutul de Microbiologie AȘM
dr., conf. univ. Eugenia MELENTIEV,
Universitatea de Stat din Tiraspol

La sfârșitul secolului XX, în izvoarele termale de lângă Napoli, geologul american de la Universitatea din Texas, Robert Folk, a descoperit un nou tip de bacterie.

Utilizând microscopul electronic, au fost studiate bacteriile ce aveau o formă ovoidă şi prismatică, din centrul substanțelor anorganice (Fig. 1A). Nanobacteriile aveau învelişul format din apatite, care era un mediu favorabil de dezvoltare și de protecție a bacteriilor de mediul înconjurător pe o perioadă îndelungată. Nanobacteriile au fost descoperite într-un număr mare în ser şi în urina omului. Conform surselor bibliografice [6], nanobacteriile au fost izolate din sânge, urină, calculi dentari şi dintr-un şir de țesuturi moi (Fig. 1B).

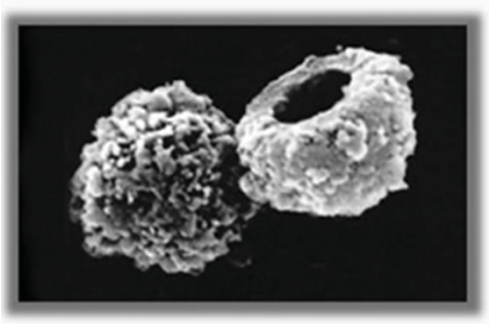


Fig. 1A. ***Microfotografia electronică a nanobacteriilor cu un diametru de aproximativ 2 µm. [5]***

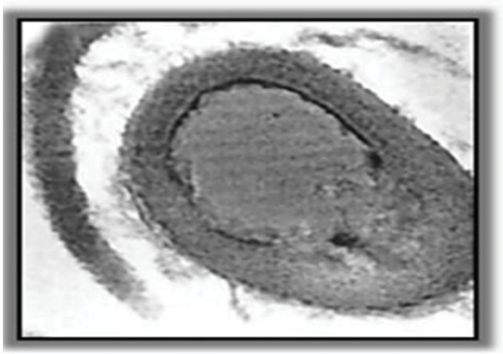


Fig. 1B. ***Nanobacterie depistată în interiorul*** **unui cal*cul renal parțial dizolvat [5]***

Recent, datorită dezvoltării microscopiei electronice și metodelor biologiei moleculare, a devenit posibilă cercetarea nanobacteriilor cu dimensiunea de 200-300 nm, acestea fiind denumite „ultramicrobacterii" sau „nanoforme". Aceste microorganisme sunt răspândite în natură, ele putând fi depistate doar cu microscopul electronic, așa cum au fost descoperite pe apatite. Integrarea nanobacteriilor în noțiunea de microorganisme se datorează faptului că ele sunt capabile de reproducere [3,4,5].

La sfârșitul anilor '90 ai secolului trecut, o grupă de savanți microbiologi finlandezi, sub conducerea lui Olavi Kajander, au decelat în organismul uman microorganisme vii ce se înmulțesc, numite nanobacterii, cu diametrul de 200 nm [11, 12, 13].

Rolul nanobacteriilor în patogeneza formării calculilor renali este studiat mai aprofundat în ultimele decenii. Rezultatele specialiștilor din domeniul urologiei din China au arătat prezența mai multor celule de nanobacterii aderente la pietrele renale [1].

Nanobacteriile au fost depistate de asemenea în apele potabile [2]. Cercetările recente au demonstrat că calitatea apei potabile în multe țări este determinată de prezența nanobacteriilor și că numărul lor în apa potabilă depinde de mineralizare, duritatea totală și conținutul de fier (Tabelul 1).

Tabelul 1

Efectivul numeric al nanobacteriilor în 1 ml de apă

Nr.	Probele examinate	Cantitatea de nanobacterii în 1 ml, *104
1	Apa cu cantitatea normală de fier	95
2	Apa cu cantitatea mică de fier	23
3	Apa cu cantitatea mare de fier	180
4	Apa termală sulfuroasă	285
5	Apă de iod-brom	188
6	Apă din izvor	20

Potrivit microbiologului Conova I., nanobacteriile se dezvoltă abundent și în soluri. Reprezentanții nanobacteriilor aparțin mai multor structuri sistematice, inclusiv Filumului *Nanoarchaeota*. Dar este indiscutabil faptul că anume nanobacteriile participă în procesele de transformare a fierului în sol, precum și în alte procese importante [3,4].

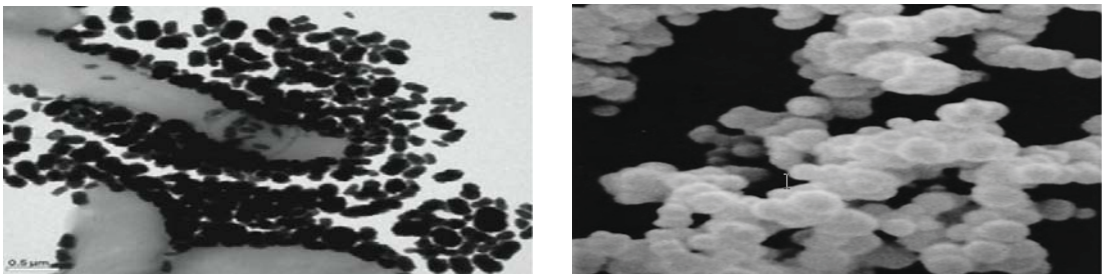


Fig 2. ***Nanobacterii la studierea cu microscopul electronic. Scara albă din colțul din dreapta jos este 100 nm [10].***

Problema studierii bacteriilor nanoforme (ultramicrobacterii) a atras atenția savanților în ultimul timp, odată cu creșterea interesului față de dezvoltarea nanotehnologiei. A fost lansată opinia că bacteriile nanoforme sunt parte componentă a diversității bacteriilor din sol, funcțiile cărora în biosferă practic nu sunt studiate. Aceste organisme pot să joace un rol important în procesele de formare a solului [14, 15, 16, 17].

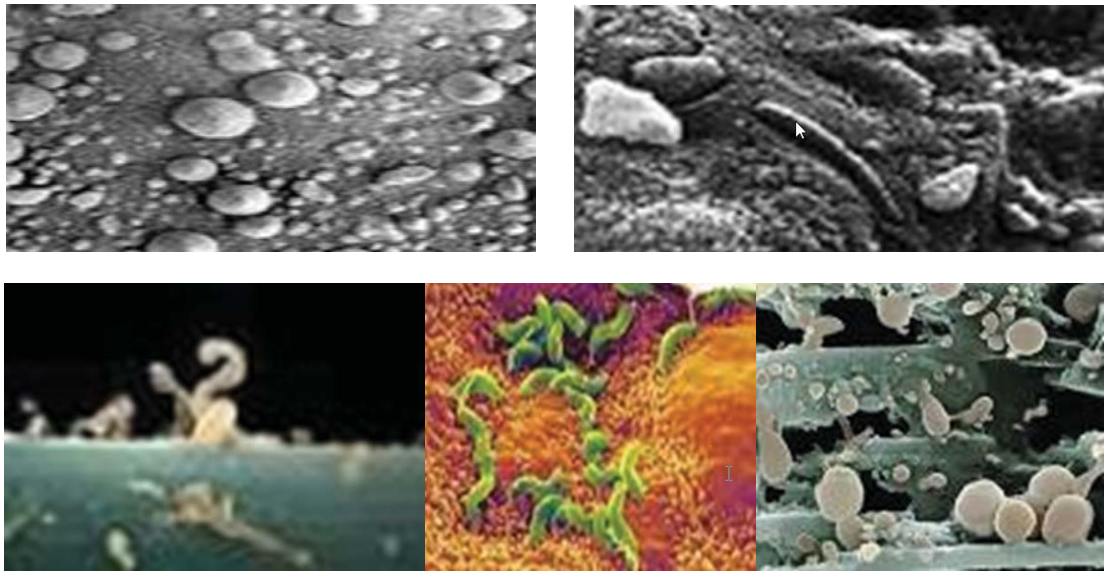


Fig. 3. ***Aspectul exterior al nanobacteriilor [13]***

Savantul rus Vanicova A.A. [17] a stabilit că o parte importantă a bacteriilor de turf-podzolic și din zonele rădăcinilor plantelor de lucernă au dimensiuni ultramicroscopice, diametrul mediu al celulelor fiind de 0,31±0,22 μm, iar lungimea – de 0,55±0,27 μm.

Se presupune că nanoformele sunt adevărații locuitori ai solurilor, sunt prezente în toate mediile naturale, inclusiv în corpul uman. De asemenea, acestea sunt cauza îmbătrânirii organismelor vii. Nanobacteriile sunt agenți patogeni care, pătrunzând cu ușurință în țesuturi și celulele vii, provoacă cele mai grave maladii ale civilizației contemporane. Prin urmare, problemele legate de habitatul nanobacteriilor în sol și circulația lor în biocenoză rămân practic neexplorate și sunt o direcție prioritară a cercetărilor actuale.

Nanobacteriile sunt agenți patogeni noi care formează minerale, aceasta fiind de fapt cauza prezenței lor în rocile sedimentare. Aceste microorganisme produc apatita biogenică *in vitro* și *in vivo*. Apatita este considerată principalul component care declanșează formarea calculilor la rinichi. Astfel, nanobacteria este cauza apariției acestor calculi. Experimentele de laborator pe mamifere arată că nanobacteriile injectate în sânge prin celulele renale trec în urină. Prin urmare, ele contribuie la formarea apatitelor sau a altor tipuri de sedimente renale [7].

Rolul nanobacteriilor în declanșarea unui șir de maladii a fost stabilit de mai mulți savanți. De exemplu, aceste microorganisme au fost depistate, în afară de calculii renali, în calculii dentari și calculii biliari [8].

În urma studierii formării calculilor renali la om, a fost demonstrată legătura strânsă între calculii renali și calcificarea nanobacteriei. În procesul de studiere a pietrelor renale și a nanoparticulelor calcificatoare (CNP), s-a demonstrat că 69% din pietrele analizate prin scanarea electronică microscopică (SEM) conțin agregate de nanobacterii. După demineralizarea acestor pietre cu HCI, nanobacteriile, izolate sau în grupuri, au fost vizualizate prin SEM. Spectroscopia cu raze X a demonstrat că în componența calculilor intră, în principiu, calciul, fosfatul și aluminiul din hidroxoapatită. S-a constatat, de asemenea, că la 35% - 40% dintre pacienți 80% din pietrele la rinichi conțin calciu sintetizat [9].

Scopul prezentei lucrări este studiul nanobacteriilor din calculii biliari și renali ai omului.

Materiale și metode

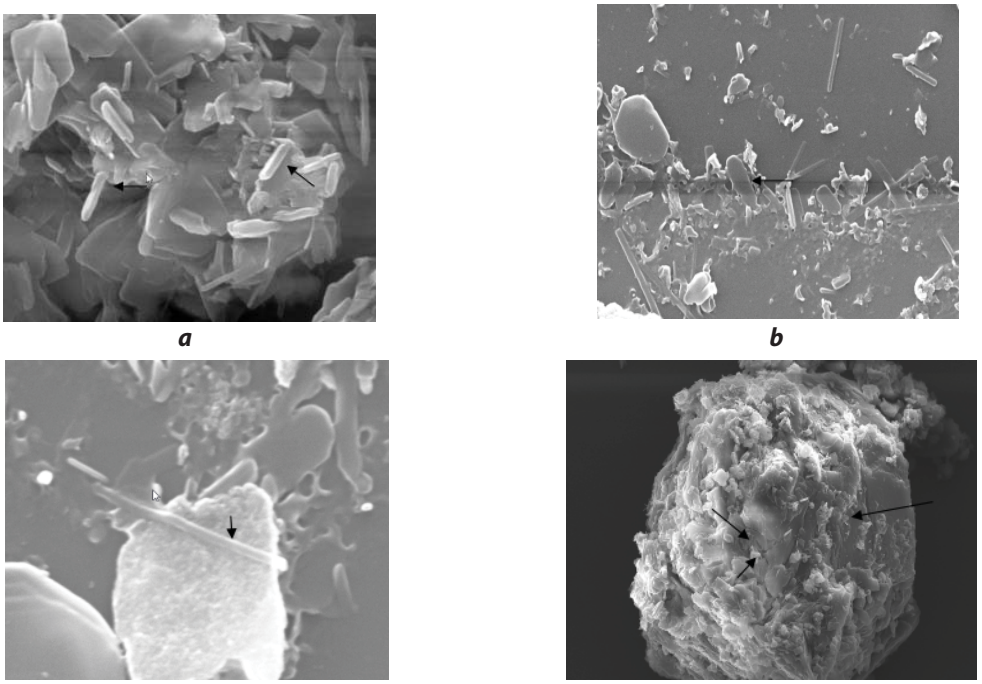
Investigațiile au fost efectuate conform metodei descrisă în sursa [18], materialul de studiu reprezintă formațiunile colectate de la diferiți pacienți (calculi biliari și renali) – Figura 4.



A B C D

Fig. 4. ***Aspectul exterior al calculilor biliari (A, B, C) și renali (D), depistați în mostrele cercetate***

Studiile au fost efectuate conform următoarei proceduri: calculii minerali au fost uscați la o temperatură de +18... +20 °C timp de 4-6 ore, apoi zdrobiți mecanic și solubilizați în H_2SO_4 0,1 N, HCl de 0,1 N acid acetic. După aceasta, probele au fost analizate la microscopul electronic JEM-100, JEOL (Laboratorul Iași) la diferite mărimi.



a ***b*** ***c*** ***d***

Fig. 5. ***Imagini originale cu nanobacterii din probele de calculi renali***

Cercetările au demonstrat că formațiunile calcificate din vezica biliară și rinichi se dizolvă cel mai bine în urma adăugării 0,1 N acid acetic. După distrugerea calculilor și mărunțirea lor, nanobacteriile au fost separate și vizualizate la microscopul electronic JEM-100, JEOL. Majoritatea nanoformelor bacteriene au fost localizate pe structurile calculilor.

În Figura 5 observăm aspectul exterior al calculilor renali, vizionați la microscopul electronic, pe care sunt prezente bacterii de dimensiuni foarte mici. Presupunem că aceste microorganisme sunt nanobacteriile care contribuie la formarea calculilor renali și biliari.

Nanobacteriile din imagine sunt prezente pe toate formațiunile minerale ale calculilor biliari. Numărul lor a variat de la 8 la100 în proba analizată. Nanobacteriile au, de regulă, forma de bastonaș cu dimensiuni de până la 300 nm.

S-a stabilit deja că nanobacteriile sunt considerate provocatoare ale maladiilor renale și biliare, precum și ale calculilor dentari. În opinia noastră, studiul nanoformelor bacteriene poate fi considerat o metodă de constatare a afecțiunilor renale și biliare.

Concluzii

Calculii renali și biliari cercetați de noi se dizolvă în acid acetic (CH_3COOH) 0,1 N. Pe formațiunile minerale au fost depistate, cu ajutorul microscopului electronic, bacterii de dimensiuni foarte mici, care pot fi nanobacterii. Considerăm că studiul nanobacteriilor ce provoacă calcifierea în diferite organe reprezintă un pas important în explorarea etiologiei formării calculilor.

REFERINȚE

1. HONG, Xin, XIAOFENG, W., TIAN, W., CHENGFAN, Y., HUI, L. 2016: *Role of nanobacteria in the pathogenesis of kidney stone formatio,* J Transl Res, 8(7), p. 3227-3234.

2. ВОЛКОВА, Н. 2006: *Исследование биоминерализационного геоэкологического фактора в подземных водах Томского района.* Диссертация, 152-с.

3. КОНОВА, И. 2013: *Наноформы бактерий в некоторых почвах России: диссертация кандидата биологических наук:* 03.02.03, Гос. ун-т им. М.В. Ломоносова, Москва, с- 119.

4. ЛЫСАК, Л. и др. 2013: *Численность, жизнеспособность и таксономический состав наноформ бактерий в железо-марганцевых,* Почвоведение, №6, с. 707-714.

5. ДЕМИН, Н. 2008: *Мочекаменная болезнь. Основные принципы лечения.* Регулярные выпуски «РМЖ» №5 М., http://www.rmj.ru/articles_5843.htm, стр. 353.

6. BANOV, P. 2014: *Aspecte actuale ale etiopatogenei litiazei renale,* Buletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe medicale, 4 (45), p. 227-237.

7. CIFTCIOGLU, N., BJÖRKLUND, M., KAJANDER, O. 1999: *Stone formation and calcification by Nanobacteria in human body*. Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Kuopio; Kuopio University Hospital, Clinical Physiology, Kuopio; Central Hospital of the Central Finland, Jyva¨skyla¨, Finland, Kidney International, Vol. 56 , p. 1893–1898.

8. СМИРНОВ, Д., ВОЛКОВА, Н. 2006: *Нанобактерии – как биоиндикатор экологического неблагополучия среды или заболевания человека,* Известия Томского политехнического университета, Т. 309, № 8, с. 179-182.

9. AMAURI, B., CARLOS, T., CINTIA, D., KAREN, C., PAULO, R., GELSA, E. 2012: *Occurrence of Nanobacteria-Like Particles in Renal Stones of a Southern Brazilian Population.* Open Journal of Urology 2, p. 1–5.

10. FOLK, R.L. 1993: *SEM imaging of bacteria and Nano bacteria in carbonate sediments and rocks.* In: J. Sediment Petrol, p. 63–99.

11. KAJANDER, O., CIFTÇIOGLU, N. 1998: *Nanobacteria: an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation.* In: Proc. Nat. Acad. Sci. USA, Vol. 95 (14), p. 8274–8279.

12. KAJANDER, E.O. 2006: *Nanobacteria – propagating, calcifying, nanoparticles.* In: Letters in Applied Microbiology, Vol. 42 (6), p. 549–552.

13. MILLER, V. et al. 2004: *Evidence of nanobacterial-like structures in calcified human arteries and cardiac valves.* In: Am J. Physiol Heart Circ Physiol., Vol. 287 (3), p. 1115 –1124.

14. ПОЛЯНСКАЯ, Л., ПИНЧУК, И., ЗВЯГИНЦЕВ, Д. 2015: *Оценка численности, биомассы и размеров клеток методом «каскадной» фильтрации в различных почвах.* В: Eurasian Soil Science, а. № 3, с. 330–336.

15. ПОЛЯНСКАЯ, Л., ГОРОДНИЧЕВ, Р., ВОРОБЬЕВА, Е., ЗВЯГИНЦЕВ, Д. 2015: *Численность и размеры бактерий в ходе культивирования их мелких форм*. В: Почвоведение, б. № 4, С. 447–451.

16. KOGURE, K., SIMIDU, V., TAGA, N. *A tentative direct microscopic: methods for counting living marine bacteria*. In: Can. J. Microbiol.,1979, Vol. 25, p. 415–420.

17. ВАНЬКОВА, А. 2013: *Наноформы бактерий в системе «почва – растение»*. Автореф. дисс. д.б.н., Москва, 43 с.

18. СМИРНОВ, Д., ВОЛКОВА Н. 2006: *Нанобактерии – как биоиндикатор экологического неблагополучия среды или заболевания человека,* Известия Томского политехнического университета, Т. 309, № 8 , с. 179–182.

REZUMAT

Studiul nanobacteriilor în calculii biliari și renali. Nanobacteriile cu dimensiuni foarte mici – aproximativ 200-300 nm – pot fi vizualizate doar cu ajutorul microscopului electronic. Au fost identificate în sol, apă, piatră dentară, sânge, urină și țesuturi moi. De asemenea, au fost depistate în calculii renali și biliari, acestea provocând o serie de maladii care duc la deces.

Cuvinte-cheie: *nanobacterie, calculii renali, calculii biliari.*

ABSTRACT

Study of Nanobacteria in Biliary and Renal Calculi. Nanobacteria are very small in size (about 200-300 nm). They can only be viewed using the electronic microscope. Nanobacteria have been identified in soil, water, dental stone, blood, urine and soft tissues. They were also found in renal and biliary calculi, causing a number of diseases leading to death.

Key words: *Nanobacteria, renal calculi, biliary calculi.*

РЕФЕРАТ

Изучение нанобактерий в желчных и почечных камнях. Нанобактерии очень маленьких размеров – примерно 200-300 нм, можно увидеть только с помощью электронного микроскопа. Были выявлены в почве, воде, зубном камне, крови, моче и мягких тканях. Нанобактерии были обнаружены и в желчных и почечных камнях, они вызывают ряд заболеваний, которые приводят к смертельному исходу.

***Ключевые слова**: нанобактерия, почечные камни, желчные камни.*