

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

## **D-mannosio nelle cistiti recidivanti: attacco su due fronti**

A. Graziottin<sup>1</sup>, P. P. Zanello<sup>2</sup>, G. D'Errico<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Direttore, Centro di Ginecologia e Sessuologia Medica, H San Raffaele Resnati, Milano. Presidente, Fondazione Alessandra Graziottin per la cura del dolore nella donna Onlus

<sup>2</sup>Biologo, Dottore di Ricerca in Microbiologia e Virologia, Parma

<sup>3</sup>Divisione di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Civile di Vigevano (Pavia)

### **Introduzione**

Le cistiti ricorrenti sono un problema di crescente rilevanza anche nella pratica ginecologica. (Graziottin A 2014; Graziottin A et al., 2014). Si parla di infezioni ricorrenti del tratto urinario (UTI) quando si verificano almeno tre episodi infettivi caratterizzati da urinocolture positive negli ultimi 12 mesi, oppure quando si verificano almeno due episodi in 6 mesi (Albert X et al., 2004).

Le attuali strategie d'intervento prevedono la profilassi a lungo termine con sostanze antimicrobiche a basso dosaggio, oppure trattamenti antibiotici post-coitali. Tuttavia, entrambe queste strategie non diminuiscono il rischio associato all'insorgenza di recidive nel lungo termine (Stamm WE et al., 1980; Salonia A et al., 2013). I pazienti con UTI ricorrenti, infatti, rimangono protetti dalle infezioni durante il periodo di profilassi o di trattamento, ma il tasso di infezione ritorna al livello precedente quando questo viene interrotto, con pesanti ricadute per la salute (Nickel JC, 2005). Il trattamento delle UTI ricorrenti è caratterizzato da un costo elevato sia per la donna, sia per la sanità pubblica in termini di spese sanitarie, consulenze mediche, esami, farmaci, e si traduce in danno alla vita personale e di coppia. **Obiettivo del lavoro è analizzare il ruolo specifico del D-mannosio nella prevenzione e nella cura delle cistiti recidivanti. Dal punto di vista farmacologico, infatti, l'utilizzo di agenti profilattici alternativi, di estrazione naturale, come il D-mannosio, non dannosi per l'organismo umano e sicuri anche durante i primi mesi di gravidanza, di allattamento e il puerperio (Hudson DT e Hill McG 2008) potrebbe rappresentare una valida alternativa terapeutica, da affiancare ad altre misure personalizzate a seconda dei fattori predisponenti e/o precipitanti nella singola donna** (Graziottin A et al., 2014).

Va sottolineato tuttavia come l'intervento preventivo e terapeutico del medico, anche quando utilizzi principi attivi di estrazione naturale, semplici, efficaci e maneggevoli come il D-mannosio, debba comunque essere sempre inserito in una visione terapeutica strategica integrata, attenta alla correzione dei fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento, oggetto di precedenti pubblicazioni (Graziottin A 2014; Graziottin A et al., 2014 Graziottin A e Murina F 2014) (Tabella 1).

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

**Tabella 1. Le opzioni preventive e terapeutiche prevedono un approccio multidisciplinare con particolare attenzione ai fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento**

1. Normalizzazione degli estrogeni vaginali (in presenza di ipoestrogenismo) e del pH
2. Ottimizzazione del controllo metabolico glicemico
3. Stili di vita appropriati (riduzione di lieviti e zuccheri, abbigliamento che non causi irritazioni/abrasioni delle mucose genitali)
4. Rilassamento dell'iperattività del muscolo elevatore dell'ano in caso di comorbilità tra cistiti recidivanti e dispareunia con vestibolodinia provocata (fisioterapia, biofeedback di rilassamento)
5. Miglioramento della stipsi ostruttiva e della IBS spesso associata (macrogol, consigli alimentari, gastroenterologo)
6. Riduzione della carica batterica del germe patogeno
7. Riduzione dell'aggressività di *E.coli* uropatogeno (UPEC)
8. Ripristino del biofilm vescicale e dello strato di glicosaminoglicani (GAG)
9. Ostacolo alla formazione dei biofilm endocellulari patogeni

Modificato da Graziottin A, 2014

**1. Profilo farmacologico del D-mannosio: attività antiadesiva e riepitelizzante**

Il **D-mannosio** è uno zucchero semplice, un **monosaccaride isomero del glucosio, a basso peso molecolare e di estrazione vegetale**, che una volta ingerito viene scarsamente assorbito dalle cellule del nostro organismo e in buona parte è **eliminato non metabolizzato** attraverso le feci e le urine. L'attenzione che microbiologi e clinici stanno rivolgendo all'utilizzo delle sostanze antiadesive, e in particolare al D-mannosio come alternativa terapeutica alla terapia antibiotica in caso di infezioni alle vie urinarie causate da enterobacteriaceae o pseudomonadaceae, è rappresentata dall'**inibizione dell'adesione batterica all'urotelio, primo stadio del processo infettivo caratterizzato nel suo complesso da:**

1. adesione batterica;
2. invasione dell'urotelio;
3. produzione di metaboliti e tossine;
4. formazione di biofilm patogeni;
5. acquisizione di fenomeni di resistenza agli antibiotici e al sistema immunitario;
6. attivazione di processi infiammatori cronici;
7. danno strutturale alla parete della vescica.

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

**L'inizio dell'infezione batterica all'apparato uro-genitale è determinata dal legame del fattore di virulenza FimH di *Escherichia coli* con gli oligosaccaridi fisiologicamente presenti sulla superficie delle cellule dell'epitelio vescicale e vaginale (Sharon N, 2006).** Da diversi anni **l'affinità del D-mannosio per le adesine FimH, localizzate sulla punta delle fimbrie batteriche di tipo 1, mannosio sensibili**, è ampiamente riconosciuta (Reid G and Sobel JD 1987; Wellens A et al., 2008; Abgottspon D et al., 2010; Cusumano CK et al., 2011). Il D-mannosio, mimotopo dei residui glucidici dei recettori glicoproteici cellulari, quando presente in concentrazione sufficiente nelle urine "inganna" i batteri dotati di fimbrie mannosio sensibili, neutralizzandoli e agendo come **inibitore competitivo della loro adesione alle cellule dell'urotelio** (Michaels EK et al., 1983).

I **pili di tipo 1**, caratteristici della superficie di molti ceppi di *E. coli* uro-patogeno, sono responsabili delle infezioni urinarie poiché **indispensabili per l'adesione alle cellule della parete vescicale e della mucosa vaginale**, per la formazione di *Intra-Cellular Bacterial Communities* (IBCs), di biofilm intra ed extracellulari (responsabili della cronicizzazione delle infezioni), e per la differenziazione in *persister cells*, cellule a bassa attività metabolica, sensibili agli antibiotici, ma difficilmente raggiungibili sia dal sistema immunitario sia dagli antibiotici poiché racchiuse e protette negli strati più profondi del biofilm batterico (Ofek I et al., 2003; Lewis K, 2010; Graziottin A et al., 2014).

Nel metabolismo umano il D-mannosio è normalmente presente negli oligosaccaridi cellulari e svolge un ruolo fondamentale nella **glicosilazione di alcune proteine recettoriali, nello strato di mucopolisaccaridi e lipidi** presenti sulla superficie delle cellule. Inizialmente, si pensava che il mannosio presente negli oligosaccaridi potesse derivare principalmente dal glucosio plasmatico attraverso l'azione dell'enzima fosfomannosio isomerasi (PMI). La recente scoperta nei mammiferi dei trasportatori mannosio-specifici ha suggerito che anche una parte del mannosio ingerito, nonostante sia 100 volte meno concentrato rispetto al glucosio, può essere attivamente "captato" e contribuire direttamente alla sintesi degli oligosaccaridi presenti nei domini proteici e recettoriali superficiali (Panneerselvam K et al., 1997). Contrariamente alle aspettative, la maggior parte del **mannosio per la sintesi delle glicoproteine cellulari deriva proprio dal mannosio extracellulare**, piuttosto che dal glucosio, e un'assunzione quotidiana contribuisce a garantirne un corretto apporto anche nell'individuo sano. **Pertanto, il D-mannosio assunto quotidianamente o applicato localmente può contribuire a favorire la ristrutturazione superficiale delle mucose** (danneggiate da infezioni ripetute o da fenomeni infiammatori cronici), come ad esempio quella vaginale, garantendo così una maggiore **protezione da successivi insulti batterici** e risultando una scelta promettente **anche in casi complicati e di cistite interstiziale (CI)** (Panneerselvam K et al., 1997; Alton G et al., 1998).

## **2. Efficacia del D-mannosio: evidenze cliniche e modalità di azione**

Le prime evidenze sperimentali sulla potenziale efficacia dei carboidrati come D-mannosio e D-glucosio sulle infezioni causate da *E. coli* con fimbrie mannosio-sensibili risalgono a più di trent'anni fa. Ratti maschi adulti

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

Sprague-Dawley sottoposti ad inoculi cellulari con  $10^5$ ,  $10^7$  o  $10^8$  cellule di *E. coli* in 0,1 ml di soluzione fisiologica e lavaggi vescicali con soluzioni al 5% o 10% di D-mannosio o D-glucosio avevano mostrato significative riduzioni dei livelli di batteriuria nei giorni successivi al trattamento. In particolare, la riduzione di batteriuria era significativamente ridotta in ratti inoculati con  $10^5$  e  $10^7$  cellule di *E. coli* e trattati con una soluzione al 10% di D-mannosio rispetto ai controlli non trattati. I risultati ottenuti indicarono per la prima volta che D-mannosio e D-glucosio instillati per via endovescicale potevano ridurre significativamente la batteriuria entro 1 giorno e che la loro efficacia dipendeva dalla concentrazione dell'inoculo batterico e di zuccheri presenti in vescica (Michaels EK et al., 1983).

Queste prime evidenze sperimentali permisero di capire successivamente che la strategia di interferire con il fattore di virulenza FimH, responsabile dell'adesione di *E. coli* alle cellule dell'urotelio, somministrando solo D-mannosio o derivati, poteva **evitare la selezione di ceppi resistenti a lungo termine**, mostrando effetti paragonabili alla terapia antibiotica standard (Jiang X et al., 2012). Un'interessante lavoro condotto da Pak J. e collaboratori ha dimostrato che nelle urine di donne che soffrivano di cistiti ricorrenti si assisteva a una minore quantità di una glicoproteina denominata di Tamm Horsfall, ricca in D-mannosio e prodotta dal rene. Essa ha funzione di recettore solubile, si lega alle adesine delle fimbrie mannosio sensibili di *E. coli*, impedendo l'adesione del batterio alla parete vescicale e facilitandone l'eliminazione meccanica con il normale flusso urinario. Studi successivi, effettuati in topi knock-out, cioè sprovvisti del gene che codifica per la proteina di Tamm Horsfall, hanno dimostrato che essi risultavano molto più suscettibili alle infezioni all'apparato urinario specie se causate da microrganismi con lectine superficiali di tipo 1, rispetto a topi con quantità normali di questa proteina nelle urine (Pak J et al., 2001). Tutte queste osservazioni sono risultate preliminari ai primi studi clinici effettuati che hanno dimostrato come il **D-mannosio in polvere, assunto quotidianamente come agente profilattico per sei mesi, fosse efficace nel prevenire UTI ricorrenti**. In particolare, durante il periodo di assunzione la frequenza di UTI recidive risultava significativamente diminuita nelle pazienti che avevano assunto D-mannosio rispetto a quelle trattate con nitrofurantoina (Kranjčec B et al., 2013). Ulteriori studi clinici condotti presso l'Ospedale San Matteo di Pavia hanno dimostrato una significativa riduzione della frequenza di UTI recidive quando le pazienti assumevano 1 grammo di D-mannosio due volte al giorno, abbinato a 250 mg di sodio bicarbonato, come agente alcalinizzante, per un periodo di tempo di 24 settimane, rispetto a quelle sottoposti a una terapia antibiotica mirata ma ripetuta più volte nell'intervallo di tempo considerato (Porru D et al., 2014). Queste osservazioni aggiungono ulteriori evidenze sperimentali a supporto del D-mannosio come valida, promettente e sicura alternativa agli antibiotici nel trattamento, ma soprattutto nella prevenzione di UTI acute e ricorrenti.

In sintesi, il D-mannosio agisce con una duplice modalità:

1. **difensiva**, perché impedisce l'impianto di *E. coli* sui recettori delle cellule vescicali e dell'epitelio vaginale o ne facilita il distacco meccanico grazie alla elevata affinità per le adesine delle fimbrie batteriche (Reid G and Sobel JD, 1987; Wellens A, 2008; Abgottspon D, 2010; Cusumano CK, 2011);

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

2. **riparativo-ricostruttiva**, perché contribuisce alla ristrutturazione dello strato di mucopolisaccaridi (Glicosaminoglicani, GAG) della parete vescicale e della mucosa vaginale danneggiate, garantendo così una maggiore protezione da successivi insulti batterici (Panneerselvam K et al., 1997; Alton G et al., 1998).

## **Conclusioni**

Cistiti e vaginiti recidivanti costituiscono un problema di crescente rilevanza per la donna, per la coppia e per il medico. Le attuali terapie antibiotiche sono per lo più in grado di risolvere episodi acuti di cistite, ma risultano quasi completamente inefficaci nella prevenzione delle infezioni uro-ginecologiche recidivanti e nel mantenimento di un buono stato di salute dell'apparato uro-genitale. Inoltre, resistenze batteriche sempre più frequenti, causate dall'utilizzo talvolta indiscriminato di antibiotici, stanno rendendo più complicata l'eradicazione delle forme infettive cronico-recidivanti, oltre a causare elevata disbiosi intestinale e vaginale (Mazzulli T, 2002; Harry L e Mobley T, 2012; Salonia A et al., 2013, Graziottin A et al., 2014).

In base alle ultime evidenze pubblicate, **una valida alternativa alla terapia antibiotica è rappresentata dal D-mannosio, che costituisce una sostanziale strategia preventiva, terapeutica e di mantenimento dei risultati clinici ottenuti, grazie alla sua duplice azione, difensiva e riparativo-ricostruttiva.**

Il D-mannosio può quindi entrare a pieno titolo nelle strategie di prevenzione e cura perché maneggevole, innocuo ed efficace. È compito del medico curante valutare nella singola paziente se e quando integrare il D-mannosio con interventi fisioterapici volti a rilassare un pavimento pelvico ipertonico (biofeedback elettromiografico, fisioterapia hands-on, massaggio e stretching del segmento posteriore del muscolo elevatore), quando aggiungere estrogeni vaginali (in caso di ipoestrogenismo da amenorrea ipotalamica, durante il puerperio o dopo la menopausa) e/o altre misure complementari per uscire dalla spirale della recidività e restituire alla donna la piena salute vescicale, vaginale, sessuale, e con essa la sua libertà.

## **Bibliografia**

- Abgottspon D, Rabbani S, Herold J, Jiang X, Ernst B. FimH antagonists for the oral treatment of urinary tract infection: from design and synthesis to in vitro and in vivo evaluation. *Klein, J Med Chem Dec 2010; 53(24): 8627-41.*
- Albert X, Huertas I, Pereiro I, et al. Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women. *Cochrane Database Syst Rev 2004; 3: CD001209.*
- Alton G, Hasilik M, Niehues R, Panneerselvam K, Etchison JR, Fana F and Freeze HH. Direct utilization of mannose for mammalian glycoprotein biosynthesis. *Glycobiol 1998; 8 (3): 285–295.*
- Cusumano CK, Pinkner JS, Han Z, Handerson JP, Croweley JR, Hultgren SJ. Treatment and prevention of urinary tract infection with orally active FimH inhibitors. *Sci Transl Med Nov 2011; 3(109):109-115.*

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

- Graziottin A, Murina F. Vulvodinia. Strategie di diagnosi e cura. Springer Verlag Ed., Milano 2011.
- Graziottin A, Zanello PP, D'Errico G. Cistiti e vaginiti recidivanti: ruolo dei biofilm e delle persister cells. *Dalla fisiopatologia a nuove strategie terapeutiche*. Minerva Ginecologica, *accettato, in stampa 2014*.
- Graziottin A. Recurrent cystitis in women: why the gynecologist has a say. Studd J., Seang L.T. Chervenak F.A. (Eds) *Curr Prog in Ob and Gyn Vol 2*, Suketu P. Kothari-TreeLife Media, Mumbai, India, 2014, p.319-336
- Harry L and Mobley T. Bacterial stress responses as determinants of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67:2069-20.
- Hudson DT e Hill McG. *Women's Encyclopedia of Natural Medicine*. 2008. pag 70
- Jiang X, Abgottspon D, Kleeb S, Rabbani S, Scharenberg M, Wittwer M, Haug M, Schwardt O, Ernst B. Antiadhesion therapy for urinary tract infections--a balanced PK/PD profile proved to be key for success. *J Med Chem* 2012; 55(10):4700-13.
- Kranjčec B, Papeš D, Altarac S. D-mannose powder for prophylaxis of recurrent urinary tract infections in women: a randomized clinical trial. *World J Urol* 2013; 32(1):79-84.
- Lewis K. Persister cells. *Annu Rev Microbiol* 2010; 64, 357-372.
- Mazzulli T. Resistance trends in urinary tract pathogens and impact on management. *J Urol* 2002; 168: 1720–1722.
- Michaels EK, Chmiel JS, Plotkin BJ, Schaeffer AJ. Effect of D-mannose and D-glucose on Escherichia coli bacteriuria in rats. *Urol Res* 1983; 11: 97–102.
- Nickel JC. Practical management of recurrent urinary tract infections in premenopausal women. *Rev Urol* 2005; 7:11–17.
- Ofek I, Hasty DL, Doyle RJ. *Bacterial Adhesion to Animal Cells and Tissues*, ASM Press, Washington, 2003.
- Pak J, Pu Y, Zhang ZT, Hasty DL, Wu XR. Tamm-Horsfall protein binds to type 1 fimbriated Escherichia coli and prevents E. coli from binding to uroplakin Ia and Ib receptors. *J Biol Chem* 2001; 276(13):9924-30.
- Panneerselvam K, Etchison JR, and Freeze HH. Human Fibroblasts Prefer Mannose over Glucose as a Source of Mannose for N-Glycosylation. *J Biol Chem* 1997; 272 (37) 23123–23129.
- Porru D, Parmigiani A, Tinelli C, Barletta D, Choussos D, Di Franco C, Bobbi V, Bassi S, Miller O, Gardella B, Nappi RE, Spinillo A and Rovereto B. Oral D-mannose in recurrent urinary tract infections in women: A pilot study. *J Clin Urol* 2014; 20 (10) 1–6.
- Reid G and Sobel JD. Bacterial Adherence in the Pathogenesis of Urinary Tract Infection: A Review *Clin Infect Dis* 1987; 9 (3): 470-487.

Graziottin A. Zanello P.P. D'Errico G.

D-mannosio nelle cistiti e vaginiti recidivanti: attacco su due fronti

Full text della relazione presentata al 89° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia e Ostetricia (SIGO) su "Isola Donna, al centro del mondo medico e sociale"

Cagliari, 28 settembre - 1 ottobre 2014

**DRAFT COPY – PERSONAL USE ONLY**

- Salonia A, Clementi MC, Graziottin A, Nappi RE, Castiglione F, Ferrari M, Capitanio U, Damiano R, Montorsi F. Secondary provoked vestibulodynia in sexually-active women with recurrent uncomplicated urinary tract infections. *J Sex Med* 2013; 10 (9): 2265-73.
- Sharon N. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1760(4):527-37.
- Stamm WE, Wagner KF, Amsel R, et al. Antimicrobial prophylaxis of recurrent urinary tract infections: A double-blind, placebo controlled trial. *Ann Intern Med* 1980; 92: 770–775.
- Wellens A, Garofalo C, Nguyen H, Van Gerven N, Bouckaert J. Intervening with urinary tract infections using anti-adhesives based on crystal structure of the FimH-ologomannose-3 complex. *PLoS one* 2008; 3(4):e2040