

LA SINDROME DELLE FRONTIERE INFRANTE, CON FOCUS SU INFETZIONI MICOTICHE DA CANDIDA

Alessandra Graziottin

Direttore, Centro di Ginecologia, H. San Raffaele Resnati, Milano

Presidente, Fondazione Alessandra Graziottin per la cura del dolore nella donna Onlus

Introduzione

La salute degli organismi viventi richiede (anche) **integrità biodinamica delle frontiere**: cellulari, tessutali, d'organo e di organismo. L'inadeguata competenza o lesione delle frontiere altera l'omeostasi cellulare e tessutale, ed è fattore critico di patologia. La comprensione dei meccanismi di lesione delle frontiere, per fattori endogeni e/o esogeni, è prerequisito per la prevenzione, per la loro riparazione in caso di danno e per il recupero dell'omeostasi cellulare, tessutale e sistemica.

Obiettivo della presentazione è analizzare **alcuni dei principali meccanismi patogeni che ledono le barriere cellulari e tessutali**, e le implicazioni per la salute della donna. Verranno qui analizzati i principali meccanismi di attacco delle frontiere cellulari e tissutali da parte della *Candida Albicans*, come paradigma patogenetico di lesione delle frontiere cellulari, mucosali e tessutali.

Epidemiologia

La vaginita da *Candida* è la seconda per frequenza, dopo la vaginosi batterica. Il 70-75% delle donne ha un'infezione da *Candida* nell'arco della vita. Il 40-45% recidiva (Sobel 2016). Il 20% recidiva 4 o più volte l'anno. Il 28,1% delle adolescenti italiane che si rivolge a un ambulatorio pubblico ospedaliero ha un'infezione da *Candida*.

La prevalenza dell'infezione è in aumento, in Italia e nei Paesi ad alto reddito, per l'aumento di fattori predisponenti e precipitanti. Tra i fattori predisponenti, emergono:

1. la crescente tendenza a un'alimentazione ricca di zuccheri semplici e di lievitati, ipercalorica, con ridotta attività fisica: questo facilita livelli glicemici al quartile superiore di norma, o più alti, che costituiscono un fattore predisponente sia al viraggio da spora ad ifa, sia a un'aumentata vulnerabilità cellulare alla *Candida*, per l'aumentata espressione dei recettori cellulari a cui la *Candida* può aderire per attaccare la cellula;
2. fattori iatrogeni, come l'abuso di antibiotici, che contribuiscono alla creazione di *biofilm* patogeni extracellulari ad alta carica micotica.

Comprendere i meccanismi di attacco e violazione delle frontiere cellulari, mucosali e tessutali da parte della *Candida* è quindi di rilevante interesse per la pratica clinica.

La *Candida Albicans* e le sue strategie di attacco delle frontiere

La *Candida Albicans* (CA) è un commensale, presente in forma dormiente, di spora, in tutti gli esseri umani, fin dalla nascita. Nei **soggetti sani**, le mucose sono spesso colonizzate da CA, in stato di spora. Il numero esiguo del

microrganismo (**bassa carica micotica**) non induce danno delle cellule epiteliali e, di conseguenza, non viene evocata alcuna risposta infiammatoria che coinvolga macrofagi, mastociti e cellule dendritiche: un processo definito **colonizzazione**.

Lo sviluppo di ife ha un ruolo importante nell'invasività della CA. **Le ife inducono la produzione di citochine da parte delle cellule epiteliali**, attivando sia la via MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*, o MAP kinase), sia un secondo percorso della MAPK che porta all'attivazione di MAPK fosfatasi 1 (MKP1). Questi eventi innescano **la produzione di IL-1 α e IL-6, e i correlati sintomi infiammatori** (Gow et al, 2012; Mantovani, 2020).

La Candida è in fungo responsabile di molteplici patologie. È in crescita esponenziale a causa del dilagante uso di antibiotici, ma anche di un'alimentazione con eccesso di zuccheri semplici (glucosio e saccarosio) che ne facilitano la proliferazione (Graziottin et al, 2020a), come è stato dimostrato nei soggetti diabetici e con genetica incline al diabete per familiarità (Gonçalves et al, 2016).

Studi *in vitro* hanno evidenziato che **alti livelli di glucosio facilitano nella Candida l'espressione di recettori che ne facilitano l'aggancio alle cellule della persona diabetica**. Contemporaneamente, gli alti livelli di glucosio agiscono anche sulle cellule del soggetto diabetico: aumenta infatti **l'espressione dei recettori di membrana ICAM-1** (*Intercellular Adhesion Molecule 1*, noto anche come CD 54, *Cluster of Differentiation 54*). È una proteina che negli umani è codificata dal gene ICAM1. Il gene codifica una glicoproteina di superficie che è tipicamente espressa sulle cellule endoteliali e sulle cellule del sistema immunitario, ma anche sulle cellule mucose. Le ICAM 1 sono anche un sito di vulnerabilità perché consentono l'aggancio della Candida e rendono la cellula più vulnerabile ai suoi attacchi (Mikamo et al, 2018). La Candida glabrata è la seconda più diagnosticata nei soggetti diabetici, dopo la *Candida albicans*.

La CA presenta almeno tre strategie di attacco delle frontiere:

- cellulari;
- tessutali;
- sistemiche.

Nell'attacco cellulare, la CA può causare **una lesione citopatica progressivamente aggressiva**, in un continuum di lesione delle frontiera cellulare in quanto può:

- **inserirsi tra due cellule contigue**, facendosi strada tra le giunzioni cellulari (*tight junctions*) poste fra una cellula e la contigua;
- **scavare un solco nel citoplasma di una cellula**, dopo averne violato la membrana cellulare, causando il primo livello di lesione citopatica cellulare;
- **causare una erosione citoplasmatica marginale**, quando l'ifa giunge in contatto con la superficie cellulare e l'attacca;
- **causare veri e propri fori citoplasmatici**, quando la ifa perfora una sola faccia della cellula, quindi da un solo lato della membrana cellulare;
- **creare un vero e proprio tunnel nel citoplasma cellulare** con forame di entrata e uscita (Minello, 2019).

L'effetto citopatico e citolitico nasce quindi da meccanismi complementari: **elevata aggressività dell'agente patogeno**, in questo caso la Candida, ma

anche aumentata vulnerabilità dell’ospite:

- attraverso una minore competenza del sistema immunitario;
- per maggiore espressione sulla membrana dei recettori per i patogeni, ossia dei potenziali siti di attacco (come è successo per gli ACE 2 recettori nell’infezione da Covid-19, espressi nelle cellule dell’epitelio sia polmonare sia gastrointestinale).

La capacità della Candida di ledere le frontiere cellulari si manifesta anche attraverso la **Candida-lisina**, una tossina peptidica che induce la produzione di mediatori infiammatori da parte delle cellule epiteliali. Questo richama le cellule del sistema immunitario, tra cui neutrofili, macrofagi, cellule dendritiche (una vera e propria polizia di frontiera) e le cellule innate di tipo 17, che collaborano con le cellule epiteliali per liberarsi dell’aggressione da Candida (Naglik et al, 2017).

Nell’attacco tessutale, la Candida sembra procedere in tre fasi principali:

- adesione all’epitelio;
- penetrazione epiteliale e invasione delle ife, con le modalità progressive di danno citopatico sopra descritte;
- disseminazione vascolare locoregionale.

La **ripetuta violazione delle barriere mucosali vestibolari** da parte della Candida, in caso di vaginita micotica recidivante, in presenza di una risposta immunoallergica alterata con iperreattività, contribuisce alla comparsa della **vestibolite vulvare (vestibolodinia provocata)**, causa frequente di dolore coitale (dispareunia introitale). Tre episodi di vaginita da Candida sono sufficienti a scatenare la patologia vestibolare fino alla vulvodinia, come è stato ben dimostrato sperimentalmente nel modello murino (Farmer et al, 2011).

Nell’attacco sistematico, la Candida si diffonde grazie alla penetrazione delle ife nel torrente sanguigno, con colonizzazione di altri tessuti e penetrazione in altre cellule successive alla disseminazione (Gow et al, 2012).

La **prevenzione della lesione delle frontiere cellulari e tessutali** da parte della Candida si basa sulla diagnosi e modificazione dei fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento.

I **fattori predisponenti** includono:

- **estrogeni**: la Candida vira da spora a ifa dopo la pubertà, in quanto gli estrogeni, e in particolare le fluttuazioni estrogeniche correlate al ciclo mestruale, agiscono da fattori permittenti al viraggio da spora a ifa (le infezioni da Candida in età pediatrica compaiono solo in caso di severa immunodepressione, in corso di terapie oncologiche);
- **fattori iatrogeni** (*in primis* terapie antibiotiche eccessive, ripetute e/o inappropriate), che causano disbiosi in quanto alterano il microbiota intestinale, vaginale, mucocutaneo ed eventualmente respiratorio, quest’ultimo in caso di severa immunodepressione, con progressiva lesione dell’integrità delle frontiere mucosali tissutali. La creazione di **biofilm patogeni ad alta carica micotica**, ben dimostrata in caso di infezioni da Candida Glabrata in corso di trattamento antibiotico con Amfotericina B (Rodriguez, 2016), predispone poi a recidive locali innescate anche da brevi cicli di antibiotici successivi;
- **diabete, e familiarità per diabete** (Graziottin e al, 2020b) per aumentata espressione dei recettori di membrana ICAM-1;

- **alimentazione ricca di zuccheri e lieviti**, con alterazione del microbiota intestinale (Jeziorek et al, 2019);
- **patologie intestinali** (sindrome dell'intestino irritabile, IBS), per effetto sommatorio degli agenti lesivi sull'integrità biodinamica della barriera intestinale;
- **abbigliamento sintetico e/o attillato**;
- **sport con possibili microtraumi vulvari** (bicicletta, motocicletta, equitazione);
- **ipertono del muscolo elevatore**, sia primario, *lifelong*, su base di vaginismo (Graziottin et al, 2015; Graziottin 2017), sia acquisito, *acquired*, in risposta difensiva all'infiammazione e al dolore causato da infiammazioni e/o infezioni anteriori, uretro-vesicali o vaginali, e/o posteriori, anorettali (Graziottin e Gambini, 2017; Graziottin, 2020c). L'ipertono predispone alla lesione biomeccanica delle frontiere mucosali durante il rapporto sessuale, con conseguente contatto tra Candida vaginale e sistema immunitario dell'ospite.

I fattori precipitanti includono:

- **rapporti sessuali vaginali** in condizioni di secchezza, e/o di ipertono del muscolo elevatore, con microabrasioni e dispareunia. Le microabrasioni della mucosa vestibolare, con **lesione biomeccanica della frontiera mucosa**, mettono in contatto la Candida residente in vagina con le cellule dendritiche e altre cellule di difesa del sistema immunitario, fra cui i mastociti. In presenza di un'iperreattività imunoallergica della donna-ospite, la Candida può allora evocare una risposta infiammatoria responsabile della vestibolite vulvare (vestibolodinia provocata) (Graziottin e Murina, 2017);
- **antibiotici**, che possono scompensare in modo acuto un microbiota già alterato, con **biofilm patogeni micotici ad alta carica**, e parallela aumentata vulnerabilità biomeccanica delle frontiere mucose intestinali e vaginali;
- **alterazioni metaboliche**, con scarso controllo glicemico e/o dieta con eccesso di zuccheri.

I fattori di mantenimento includono:

- **mancata prevenzione, mancata diagnosi o mancata/inadeguata cura** dei fattori predisponenti e/o precipitanti;
- **inadeguata aderenza della donna** alle misure di prevenzione, diagnosi e cura indicate;
- **inadeguatezza del riconoscimento immunitario e difficoltà/incapacità immunitaria** della donna-ospite di controllare la colonizzazione delle mucose da parte della Candida, con successiva violazione dell'integrità delle frontiere mucosali (Weissenbacher et al, 2009);
- **innesco di meccanismi di autoimmunità**, fra cui aumentata sensibilizzazione ad allergeni alimentari (Yamaguchi et al, 2006), con possibili conseguenze temibili, tra cui la celiachia e, sembra, anche la sclerosi multipla;
- **fattori genetici** che aumentano le risposte iperergiche, di tipo immunoallergico.

Conclusioni

Le infezioni da Candida hanno un'alta prevalenza e causano importanti comorbilità. La crescente comprensione dei meccanismi patogenetici di aggres-

sione da parte della Candida indica che la progressiva violazione delle frontiere cellulari, mucosali, tessutali e sistemiche costituisce un paradigma di riferimento dei meccanismi generali di vulnerabilità ai patogeni.

In parallelo, crescenti evidenze sostanziano altre modalità di vulnerabilità complementari riferite all'ospite, che rendono più fragili le frontiere stesse: per inadeguatezza delle difese immunitarie, per risposte iperergiche delle stesse, per sovraesposizione di recettori cellulari ICAM-1 che, in questo caso, facilitano l'attacco da parte della Candida. La sovraesposizione dei recettori può essere indotta da vulnerabilità genetiche, come il diabete, e/o da inadeguati stili alimentari, con eccesso di zuccheri semplici quali glucosio e saccharosio, cui possono concorrere inadeguati stili di vita, tra cui l'inattività fisica e il sovrappeso/obesità, importanti cofattori di sindrome metabolica e di vulnerabilità agli attacchi della Candida.

Nella donna, un fattore vestibolo-vaginale specifico di vulnerabilità biomeccanica all'aggressione da Candida è costituito dall'ipertono, primario o secondario, del **muscolo elevatore dell'ano**, con conseguente restrizione dell'entrata vaginale, aumentata vulnerabilità alle microabrasioni mucosali, per lesione biomeccanica delle frontiere mucosali e conseguente contatto tra Candida vaginale e sistema immunitario dell'ospite.

Fattori iatrogeni, tra i quali l'abuso di antibiotici sistemici, predispongono alla creazione di **biofilm patogeni extracellulari ad alta carica micotica**, che costituiscono un temibile *reservoir* di microrganismi pronti all'attacco delle frontiere cellulari mucosali.

La diagnosi accurata dei fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento della **lesione microbiologica e biomeccanica delle frontiere cellulari, mucosali e tessutali** è quindi prerequisito per una strategia terapeutica multimodale, capace di visione multisistemica, a breve e lungo termine.

Bibliografia

- Farmer MA, Taylor AM, Bailey AL, et al. Repeated vulvovaginal fungal infections cause persistent pain in a mouse model of vulvodynia. *Sci Transl Med*. 2011;3(101):101ra91
- Gonçalves B., Ferreira C., Alves CT et al. Vulvovaginal candidiasis: Epidemiology, microbiology and risk factors *Crit Rev Microbiol*. 2016 Nov;42(6):905-27
- Gow NAR, Van de Veerdonk FL, Nrown AJP et Al. Candida Albicans morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nature reviews Microbiology*, 10, 113-118, 2012
- Graziottin A, Gambini D, Bertolas L. Genital and sexual pain in women. In: Vodusek D. Boller F. (Eds), *Neurology of Sexual and Bladder Disorders (Handbook of Clinical Neurology, Volume 130, 3rd Series)*, Elsevier, 2015, p. 395-412
- Graziottin A. Fisiopatologia e diagnosi del vaginismo. In: Jannini E.A. Lenzi A. Maggi M. (Eds), *Sessuologia Medica. Trattato di psicosessuologia e medicina della sessualità*, Edra LSWR, nuova edizione, 2017, p. 418-423
- Graziottin A, Gambini D. Evaluation of genito-pelvic pain penetration disorder. In: Waguilh W.I. (Ed), *The Textbook of Sexual Medicine*, Springer Verlag 2017
- Graziottin A, Murina F. Vulvar pain from childhood to old age. Springer Verlag 2017
- Graziottin A, Murina F, Gambini D, Taraborrelli S, Gardella B, Campo M. Vu-Net Study Group. Vulvar pain: the revealing scenario of leading comorbidities in 1183 cases *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020a May 30;252:50-55.
- Graziottin A, Murina F, Gambini D. Vu-Net Study Group. Recurrent vulvovaginal candidiasis and vestibulodynia: data from the VuNet national study on 1183 cases. *Minerva Ginecologica* (submitted) 2020b
- Graziottin A. Chronic pelvic pain: a clinical perspective. In: Di Renzo G.C., *Obstetric and Gynecological Women's Health. Prevention and Safeguard*, Springer Verlag (2020c, in press)
- Jeziorek M, Frei-Madzzak M, Choroszy-Krol I. The influence of diet on gastrointestinal Candida spp. colonization and the susceptibility of Candida spp. to antifungal drugs. *Rocznik Panstw Zakl Hig*. 2019;70(2):195-200.
- Mantovani A. Il fuoco interiore. Mondadori, Milano, 2020
- Mikamo H, Yamagishi Y, Sugiyama H. High glucose-mediated overexpression of ICAM-1 in human vaginal epithelial cells

- increases adhesion of *Candida albicans*. *J Obstet Gynaecol* 2018 Feb;38(2):226-230.
- Miniello G. Easy colposcopy full immersion. Edra Edizioni, 2019
 - Naglik JR et Al. *Candida albicans*-epithelial interactions and induction of mucosal innate immunity. *Curr Opin Microbiol*. Nov 17;40:104-112, 2017
 - Rodrigues CF, *Candida glabrata*'s recurrent infections: biofilm formation during Amphotericin B treatment. *Lett Appl Microbiol*. 2016 Aug;63(2):77-81
 - Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(1):15-21
 - Weissenbacher TM, Witkin SS, Gingelmaier A, Scholz C, Friese K, Mylonas I. Relationship between recurrent vulvovaginal Candidosis and immune mediators in vaginal fluid. *Eur. J. Obstet Gynecol Reprod Biol* 144, 59-63, 2009
 - Yamaguchi N, Sugita R, Miki A, Takemura N, Kawabata J, Watanabe J, Sonoyama K. Gastrointestinal *Candida* colonisation promotes sensitisation against food antigens by affecting the mucosal barrier in mice. *Gut*, 2006 Jul;55(7):954-60. doi: 10.1136/gut.2005.084954. Epub 2006 Jan 19