

D-MANNOGIO: RUOLO BIOMECCANICO E STRATEGICO NELLA PREVENZIONE E NELLA CURA DELLE CISTITI

Alessandra Graziottin

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

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

Introduzione

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) rappresentano un significativo problema sanitario. Nei soli Stati Uniti, la **spesa sanitaria** per le IVU ammonta a circa 6 miliardi di dollari, con più di 1 milione di accessi al Pronto Soccorso, più di 10 milioni di visite ambulatoriali e più di 2 miliardi di dollari di costi sanitari annuali considerando le prescrizioni farmacologiche e i test diagnostici effettuati (Schappert e Rechtsteiner, 2011).

Nelle donne, la **cistite** è la presentazione clinica più frequente di IVU. La cistite è definita come un'infezione batterica del tratto urinario inferiore che provoca sia dolore durante la minzione, sia urgenza, ematuria e dolore sovrapubico non associato alla minzione.

In base ad alcuni **dati epidemiologici**, si stima che fino al 70% delle donne soffrirà di cistite nel corso della vita; di queste il 30% avrà episodi di cistiti ricorrenti (Albert et al, 2004).

Le IVU, in particolare quelle **ricorrenti** (rIVU), caratterizzate da almeno tre episodi di IVU all'anno o due episodi negli ultimi sei mesi, hanno un grande impatto sulla sfera psico-fisico della donna, rappresentando a lungo termine un danno al benessere, alla vita personale e di relazione (Graziottin A., 2014a). Più della metà delle pazienti con IVU presenta disturbi ansioso-depressivi. Diagnosi tempestive, trattamento appropriato e profilassi adeguata rappresentano condizioni fondamentali per poter garantire un incremento della qualità della vita delle pazienti (Renard et al, 2015).

ASPETTI MICROBIOLOGICI

I **biofilm** patogeni

Le IVU sono causate principalmente da batteri Gram-negativi, primi fra tutti l'*Escherichia Coli*, in particolare del patotipo uropatogeno (*E. Coli* UPEC, quasi il 90% dei casi registrati), ma anche *Proteus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Chlamydia*, e più raramente da Gram-positivi come gli stafilococchi, i virus e i micopatogeni (Kline e Lewis, 2016; Latthe et al, 2008). Tutti questi microrganismi hanno un'elevata capacità di formare *biofilm*.

Si parla di **biofilm extracellulari** per indicare comunità batteriche compatte e saldamente ancorate ai tessuti, grazie alla produzione di sostanze adesive polisaccaridiche, che le rende più resistenti alla rimozione durante la minzione, nonché meno attaccabili da difese immunitarie e trattamenti antibiotici. Inoltre, nella parte più profonda del *biofilm* è presente una sottopopolazione di cellule batteriche quiescenti (0,1-1%), denominate *persistor cells*, resistenti agli antibiotici e alle difese immunitarie, pronte a ripristinare la carica batterica pre-esistente una volta completata la terapia antibiotica.

Si definiscono invece **biofilm endocellulari** (“*intracellular bacterial communities*”, IBCs) le comunità batteriche caratterizzate da microrganismi, e soprattutto dall'*Escherichia coli* Uropatogeno (“*Uropathogenic Escherichia Coli*”, UPEC), che dopo essersi liberati la membrana esterna entrano nelle cellule uroteliali, vi si annidano e vi si moltiplicano periodicamente: costituiscono così uno stimolo infiammatorio persistente per la parete vescicale e un potente *reservoir* infettivo endogeno, pronto a riattivarsi per effetto biomeccanico-traumatico dopo un rapporto sessuale in condizioni di scarsa lubrificazione e/o ipertono del muscolo elevatore dell’ano, per colpi di freddo o per stipsi. Quando il *biofilm* si riattiva, si assiste a una rapida moltiplicazione endocellulare all’interno dell’urotelio, sino alla rottura delle membrane cellulari e alla fuoriuscita dei germi nelle urine, in vescica. Solo allora l’esame colturale può essere positivo. Altrimenti la donna lamenta sintomi di cistite con esame colturale negativo (prima delle evidenze sui *biofilm* endocellulari, i medici parlavano di “cistite senza cistite”). I germi coinvolti nei *biofilm* endocellulari si comportano quindi come veri e propri terroristi in casa, pronti ad attaccare il corpo, e la vescica in particolare, dall’interno, in modo rapido, insidioso e pericoloso.

La formazione di *biofilm*, *extra* ed endocellulari, e la presenza delle *persistor cells* rappresentano meccanismi fondamentali alla base dell’insorgenza della resistenza agli antibiotici e della cronicizzazione e ricorrenza delle IVU (Graziottin, 2014a; Lewis, 2010).

Escherichia coli uropatogeno: meccanismi d’attacco

L’adesione di E. Coli UPEC alla parete vescicale, in *primis* alle cellule dell’urotelio, è mediata da **appendici filiformi** chiamate “pili” o “*fimbriae*”. Allo stato attuale sono sette i tipi di fimbrie noti: F1C, P, S, Auf, Tipo 1, Tipo 3 e F9. Fra queste le più note e più comuni sono la tipo 1 e la tipo P. Le fimbrie di tipo 1 hanno una forte affinità per l’uropalachina 1a (UP1a), glicoproteina di membrana delle “cellule ad ombrello” presenti sullo strato più esterno dell’epitelio delle vie urinarie. Al contrario, nell’ambiente intestinale, i pili di attaccamento più importanti sono le fimbrie di tipo P, che hanno una maggiore affinità per i residui contenenti mannosio (o galattosio).

Le fimbrie di Tipo 1 presentano alla loro estremità specifiche glicoproteine denominate “adesine”. In particolare l’**adesina FimH** è la più importante tra quelle coinvolte nel meccanismo di adesione dell’E. Coli UPEC all’urotelio.

D-mannosio: caratteristiche e meccanismo d’azione

Il D-mannosio è uno zucchero aldoso naturale, considerato l’“epimero C-2” del glucosio, poiché si differenzia da questo per l’inversione chirale sull’atomo di carbonio in posizione 2.

Tale molecola desta **particolare interesse** in quanto:

- si tratta di uno zucchero semplice;
- viene quasi totalmente assorbito a livello intestinale (almeno il 90%);
- non subisce trasformazioni metaboliche nell’uomo, e quindi non aumenta il carico calorico;
- viene rapidamente rimosso dal circolo sanguigno (l’emivita $T_{1/2}$ varia da 30

minuti ad alcune ore, a seconda della dose);

- è escreto in forma non convertita in gran parte attraverso le urine e in minor misura attraverso le feci (l'escrezione avviene entro 30-60 minuti, il resto entro le 8 ore successive) (Alton et al, 1998).

La sua azione anti-infettiva si esercita attraverso l'inibizione competitiva dell'adesione batterica; il D-mannosio, con la sua struttura molto simile al sito di legame dell'uropilachina 1a, si lega in modo reversibile (forze di van der Waals, legami ad idrogeno, formazione di reti e interazioni idrofobiche/idrofile) all'adesina FimH, saturandone l'area di legame, e rendendo così incapace il patogeno di aderire all'urotelio (Öhman et al, 1985). Va aggiunto che le adesine FimH in condizioni di flusso (urinario) subiscono una transizione da una conformazione "swimming" a una conformazione che le rende altamente affini al mannosio o a proteine mannosilate.

Questo modello di interazione fra *Escherichia Coli* e il suo ospite prende il nome di **meccanismo di cattura-legame** (*catch-bond mechanism*).

Concentrazioni urinarie di mannosio libero sufficientemente elevate sono quindi in grado di saturare le lectine FimH garantendo l'eliminazione del patogeno durante la minzione, essendo impedita l'interazione con l'organismo dell'ospite (Scribano et al, 2020).

Il peculiare meccanismo d'azione del D-mannosio può essere considerato di tipo biomeccanico, in quanto:

- 1) **non farmacologico**: non si può parlare di meccanismo di interazione *ligando-recettore*. Poiché le fimbrie non sono recettori e non sono in grado di riconoscere o rispondere a segnali chimici endogeni, non si ha una trasduzione del segnale, né tantomeno si attiva una cascata a valle (Scribano et al, 2020); inoltre i cambiamenti conformazionali delle lectine FimH (a cui si è accennato nel paragrafo precedente) si verificano indipendentemente dalla presenza di D-mannosio. Il mannosio libero si limita a "ingannare" i recettori del batterio che sono già nella forma pronta per l'adesione, saturando il sito di legame (o, in alternativa, provocando un ingombro sterico) e impedendo l'interazione con le proteine mannosilate dell'epitelio urinario; la "copertura" dei siti di legame da parte del D-mannosio avviene mediante legami reversibili e non covalenti (legami a idrogeno, forze di Van der Waals, formazione di reti e interazioni idrofobiche/idrofile) (Öhman et al, 1985). Studi in vitro hanno infatti dimostrato che una volta che il D-mannosio esogeno viene lavato via in coltura, il patogeno riacquista la sua piena capacità di aderire alle cellule dell'ospite (Scribano et al, 2020);
- 2) **non metabolico**: il D-mannosio infatti viene recuperato intatto dopo il "contatto" con i batteri e non influenza la velocità di crescita batterica (Scribano et al, 2020);
- 3) **non batteriostatico e non battericida**: poiché non influenza la vitalità dei microrganismi né modifica l'integrità strutturale della cellula batterica (Scribano et al, 2020).

Il D-mannosio alle concentrazioni presenti in commercio non ha alcun effetto dose-risposta, indicando che non agisce farmacologicamente sulla vitalità e sulla crescita dell'*Escherichia Coli*. Per le suddette proprietà consegue che il rischio di sviluppare resistenza in seguito all'uso di dispositivi

medici e/o integratori alimentari a base di D-mannosio è praticamente nullo, anche dopo un uso prolungato (Sarshar et al, 2020).

- 4) **non stimolante le resistenze agli antibiotici.** Il fatto che il D-mannosio non eserciti pressioni selettive tali per cui il patogeno attraverso meccanismi di "escape" (ossia l'acquisizione di meccanismi di resistenza) acquisisca sempre maggior virulenza è un risvolto davvero notevole dal punto di vista sanitario. Secondo i dati dell'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), nel 2018 in Italia la resistenza dell'*Escherichia Coli* è arrivata al 64,5% per le aminopenicilline; al 41% per i fluorochinoloni; al 28,7% per le cefalosporine di terza generazione. La situazione è ancora più grave per quanto riguarda la *Klebsiella Pneumoniae*, con una resistenza del 52,7% ai fluorochinoloni e del 53,6% alle cefalosporine di terza generazione. Per questo motivo, a partire da marzo 2019, EMA e AIFA hanno relegato l'uso dei fluorochinoloni in caso di cistiti non complicate esclusivamente ai casi in cui gli antibiotici comunemente raccomandati non possano essere impiegati; stessa cosa vale anche per l'uso di *amoxicillina/acido clavulanico*, non più consigliati in terapia empirica (*European Medicines Agency*, 2019).

Il fenomeno della **resistenza batterica** infatti complica potenzialmente la gestione di ogni infezione, indipendentemente da quanto lieve possa essere al momento della prima presentazione; da qui la necessità di mettere in atto alcuni accorgimenti e assumere una terapia non antibiotica al fine di evitare, se possibile, l'assunzione di antibiotici.

Dato che le IVU ricorrenti sono frequenti nella vita della donna, effettuare una terapia antibiotica ripetuta, oltre alla possibilità di causare reazioni avverse e avere costi elevati, incrementa i fenomeni di resistenza batterica, indebolisce il sistema immunitario, distrugge la flora microbica Gram positiva intestinale e vaginale, favorendo l'**insorgenza di cistiti e vaginiti**, anche da candida, molto spesso trattate con nuove terapie antibiotiche o antimicotiche, e instaurando così un **circolo vizioso** senza una definitiva risoluzione. Inoltre, l'infiammazione persistente vulvare, vaginale o vescicale può dare origine a un dolore neuropatico persistente e amplificato anche in assenza di batteriuria (Graziottin, 2014a; Graziottin et al, 2021).

Cistiti: fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento

Nel contesto delle cistiti ricorrenti hanno un ruolo chiave tre tipi di fattori: predisponenti, precipitanti e di mantenimento. Intervenire su questi fattori è fondamentale per prevenire e trattare fenomeni di ricorrenza (Graziottin, 2014b). L'uso del D-mannosio può essere efficace anche in relazione ad alcuni di questi fattori.

In particolare, tra i **fattori predisponenti** si riscontra quello:

- 1) **metabolico:** diversi studi hanno dimostrato una correlazione fra diabete e aumentato rischio di rIVU (Donders, 2002). La maggiore vulnerabilità dei soggetti diabetici, o con familiarità per il diabete, alle infezioni vescicali, vulvari e vaginali è confermata anche dallo studio VuNet su 1183 casi di donne con dolore vulvare seguite in 21 centri italiani (Graziottin et al, 2021). In questo scenario l'utilizzo del D-mannosio è sicuro ed efficace in quanto questo zucchero – a differenza del glucosio o del fruttosio – non entra in modo si-

gnificativo nel metabolismo dei carboidrati se assunto per via orale, e quindi non ha alcun effetto metabolico;

- 2) **intestinale**: condizioni di disbiosi intestinale possono determinare una crescita eccessiva di enterobatteri residenti opportunisti, primi fra tutti l'E. Coli UPEC. Una delle ipotesi maggiormente accreditate nella patogenesi delle IVU suggerisce che condizioni di **leaky-gut** ("intestino che perde", nel senso di presentare soluzioni di continuità della parete intestinale, causate dall'infiammazione che ne lede la funzione di frontiera selettiva) aumentino la **traslocazione** di specifici agenti uropatogeni residenti nell'intestino verso lo spazio periuretrale, a cui seguono la colonizzazione uretrale e l'ascensione del patogeno alla vescica urinaria.

Si è visto che le fimbrie di *Escherichia coli* giocano un ruolo chiave per l'invasione e traslocazione *extra* intestinale attraverso l'epitelio intestinale (Poole et al, 2017). Avere quindi una sostanza come il D-mannosio che permette di saturare i siti di legame, impedendo l'interazione del patogeno con le proteine mannosilate dell'epitelio dell'ospite, riduce la probabilità di traslocazione del microrganismo.

Per quel che concerne poi i **fattori di mantenimento** si evince come strategie di trattamento inadeguate contribuiscano alle recidive, quando i fattori che sostengono le IVU non sono affrontati in modo completo (Graziottin A, 2014a).

L'efficacia del D-mannosio ha un ulteriore rationale di grande interesse, soprattutto nelle cistiti recidivanti ad andamento familiare. In tali casi, ci potrebbe essere in famiglia una ridotta produzione da parte del rene della **proteina di Tamm-Horsfall** (THP), dal nome dei ricercatori tedeschi Igor Tamm e Frank Horsfall che l'hanno scoperta nel 1952. Nota anche come "uromodulina", è la proteina più rappresentata nelle urine di persone sane. Ha due grandi ruoli: riduce la formazione di calcoli renali e combatte i germi, come l'*Escherichia coli* uropatogeno (UPEC), il maggiore responsabile delle infezioni urinarie recidivanti. L'aspetto interessante è che tale proteina è ricchissima di mannosio. Se la produzione è geneticamente carente, l'apparato urinario si difende meno dalle infezioni. In positivo, l'assunzione per bocca di D-mannosio potrebbe vicariare la THP carente e aiutare la vescica a difendersi meglio dagli attacchi dei germi patogeni.

Infine, molti studi hanno dimostrato che, a dosi intorno ai 4-6 g/die, il D-mannosio è utile per trattare le infezioni non complicate in atto, mentre assunto a lungo termine a dosi più basse (1,5-2 g/die) può prevenire l'insorgenza di episodi ricorrenti (De Nunzio et al, 2021).

Conclusioni

L'utilizzo del D-mannosio rappresenta una valida strategia per la prevenzione e il trattamento delle cistiti non complicate, soprattutto se recidivanti, perché maneggevole, ben tollerato, privo di effetti collaterali ed efficace, con l'importante vantaggio, da un lato, di non indurre meccanismi di "escape" da parte del patogeno (essenziali per l'insorgenza di resistenze antibiotiche) e, dall'altro, di avere un basso costo finanziario.

Sarà poi il medico curante a valutare in base alla storia clinica della singola paziente se e quando integrare i prodotti a base di D-mannosio con ulteriori in-

terventi atti a contrastare i fattori predisponenti, precipitanti e di mantenimento delle IVU. Infine, il D-mannosio può essere utilizzato come coadiuvante durante trattamenti antibiotici o con altri farmaci, poiché non vi è alcuna interferenza nei meccanismi di azione.

Bibliografia

- Albert, X., Huertas, I., Pereiro, I., Sanf elix, J., Gosalbes, V., & Perrotta, C. (2004). Antibiotics for preventing recurrent urinary tract infection in non-pregnant women. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd001209.pub2>
- Alton, G., Hasilik, M., Nichues, R., Panneerselvam, K., Etchison, J. R., Fana, F., & Freeze, H. H. (1998). Direct utilization of manose for mammalian glycoprotein biosynthesis. *Glycobiology*, 8(3). <https://doi.org/10.1093/glycob/8.3.285>
- De Nunzio, C., Bartoletti, R., Tubaro, A., Simonato, A., & Ficarra, V. (2021). Role of d-mannose in the prevention of recurrent uncomplicated cystitis: State of the art and future perspectives. *Antibiotics*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/antibiotics10040373>
- Donders, G. G. G. (2002). Lower genital tract infections in diabetic women. *Current Infectious Disease Reports*, 4(6). <https://doi.org/10.1007/s11908-002-0042-y>
- European Medicines Agency. (2019). Disabling and potentially permanent side effects lead to suspension or restrictions of quinolone and fluoroquinolone antibiotics. Quinolone and fluoroquinolone. Article - 31 referral.
- Graziottin A. Zanella P.P. D'Errico G. (2014a). Cistiti e vaginiti ricidivanti: ruolo dei biofilm e delle persister cells. Dalla fisiopatologia a nuove strategie terapeutiche. *Minerva Ginecologica* 2014, 66, 497-512
- Graziottin A. Zanella P.P. D'Errico G. (2014b). D-mannosio: profilo farmacologico e indicazioni d'uso. Graziottin A. (a cura di), *Approfondimenti di farmacologia in ginecologia-ostetricia e sessuologia medica, Corso ECM su "Dolore in ostetricia, sessualit  e disfunzioni del pavimento pelvico. Il ruolo del ginecologo nella prevenzione e nella cura"*, organizzato dalla Fondazione Alessandra Graziottin per la cura del dolore nella donna Onlus, Milano, 6 giugno 2014, p. 45-52
- Graziottin A, Gambini D. Boero E. Murina F. Ricercatori del Gruppo VuNet. Dolore vulvovaginale, candidosi ricidivante e rischio familiare di diabete. I fattori critici emersi dallo studio VuNet su 1183 casi. Parte II. *La Rivista Italiana di Ostetricia e Ginecologia (LRIOG)*, 2021, 2; 107-116
- Kline, K. A., & Lewis, A. L. (2016). Gram-Positive Uropathogens, Polymicrobial Urinary Tract Infection, and the Emerging Microbiota of the Urinary Tract. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.uti-0012-2012>
- Latthe, P. M., Toozs-Hobson, P., & Gray, J. (2008). Mycoplasma and ureaplasma colonisation in women with lower urinary tract symptoms. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 28(5). <https://doi.org/10.1080/01443610802097690>
- Lewis, K. (2010). Persister cells. In *Annual Review of Microbiology* (Vol. 64). <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.112408.134306>
-  hman, L., Magnusson, K. E., & Stendahl, O. (1985). Effect of Monosaccharides and Ethyleneglycol on the Interaction Between Escherichia Coli Bacteria and Octyl-Sepharose. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Series B: Microbiology*, 93 B(1-6). <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1985.tb02864.x>
- Poole, N. M., Green, S. I., Rajan, A., Vela, L. E., Zeng, X. L., Estes, M. K., & Maresso, A. W. (2017). Role for FimH in extraintestinal pathogenic Escherichia coli invasion and translocation through the intestinal epithelium. *Infection and Immunity*, 85(11). <https://doi.org/10.1128/IAI.00581-17>
- Renard, J., Ballarini, S., Mascarenhas, T., Zahran, M., Quimper, E., Choucair, J., & Iselin, C. E. (2015). Recurrent Lower Urinary Tract Infections Have a Detrimental Effect on Patient Quality of Life: a Prospective, Observational Study. *Infectious Diseases and Therapy*, 4(1). <https://doi.org/10.1007/s40121-014-0054-6>
- Sarshar, M., Behzadi, P., Ambrosi, C., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Scribano, D. (2020). FimH and anti-adhesive therapeutics: A disarming strategy against uropathogens. In *Antibiotics* (Vol. 9, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9070397>
- Schappert, S. M., & Rechtsteiner, E. A. (2011). Ambulatory medical care utilization estimates for 2007. *Vital and Health Statistics. Series 13, Data from the National Health Survey*, 169
- Scribano, D., Sarshar, M., Prezioso, C., Lucarelli, M., Angeloni, A., Zagaglia, C., Palamara, A. T., & Ambrosi, C. (2020). D-Mannose treatment neither affects uropathogenic Escherichia coli properties nor induces stable fimH modifications. *Molecules*, 25(2). <https://doi.org/10.3390/molecules25020316>