

FERRARA, 22 MAGGIO 2015

RIDOTTO TEATRO COMUNALE
Cso Martiri della Libertà

LE INFEZIONI DEL BASSO
TRATTO UROGENITALE
FEMMINILE



LATTOFERRINA COME AGENTE TERAPEUTICO NELLE INFEZIONI UROGENITALI.

Dott. Demetrio Costantino
Dirigente Medico I livello
Azienda USL Ferrara
Centro Salute Donna

LATTOFERRINA: GLICOPROTEINA NATURALE QUASI 80 ANNI DI STORIA

Scoperta nel 1939

Lactoferrin concentrations in human secretions	
Biological fluids	Concentration (mg/mL)
Colostrum	8
Milk	1.5–4
Tears	2
Saliva	0.008
Joint fluid	0.001
Vaginal secretion	0.008
Seminal fluid	0.112
Cerebrospinal fluid	Undetectable
Plasma	0.0004

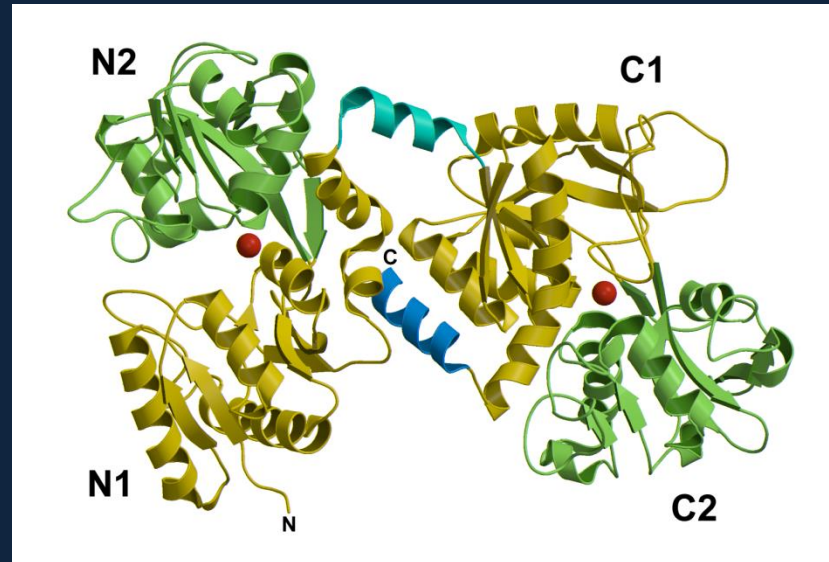


LA LATTOFERRINA

1. E' sintetizzata dai neutrofili e dalle ghiandole esocrine.
2. È un fattore dell'immunità naturale presente nelle mucose e nei granuli dei neutrofili insieme ad altri fattori quali il lisozima e la lattoperossidasi
3. Ha proprietà immunoregolatoria e batteriostatica propria.
4. Rafforza, quindi, la risposta immunitaria direttamente e indirettamente. I recettori specifici della lattoferrina sono presenti nei linfociti, nei monociti e nei macrofagi. Inoltre è direttamente coinvolta nella regolazione dell'attività delle cellule killer naturali (NK)
5. È un prebiotico sulla flora intestinale.
6. Resiste, assunta per os, alla degradazione proteolitica da parte degli enzimi del tratto gastrointestinale.

7. Lega il Ferro e lo trasporta intatto all'intestino, legandosi agli enterociti, ne facilita l'entrata nella cellula, mettendo a disposizione il ferro per le necessità dell'organismo.
8. Grazie a questo fine meccanismo di regolazione dell'omeostasi sistemica del ferro, la lattoferrina ripristina i valori fisiologici di ferro sierico totale, ferritina, emoglobina, transferrina e globuli rossi.
9. Inoltre la lattoferrina, funzionando da chelante, impedisce al ferro libero nei tessuti e nella secrezione di formare radicali liberi dell'ossigeno.
10. Si parla di Olattoferrina nella sua forma di legame con il Fe e di Apolattoferrina nella sua forma senza ferro.

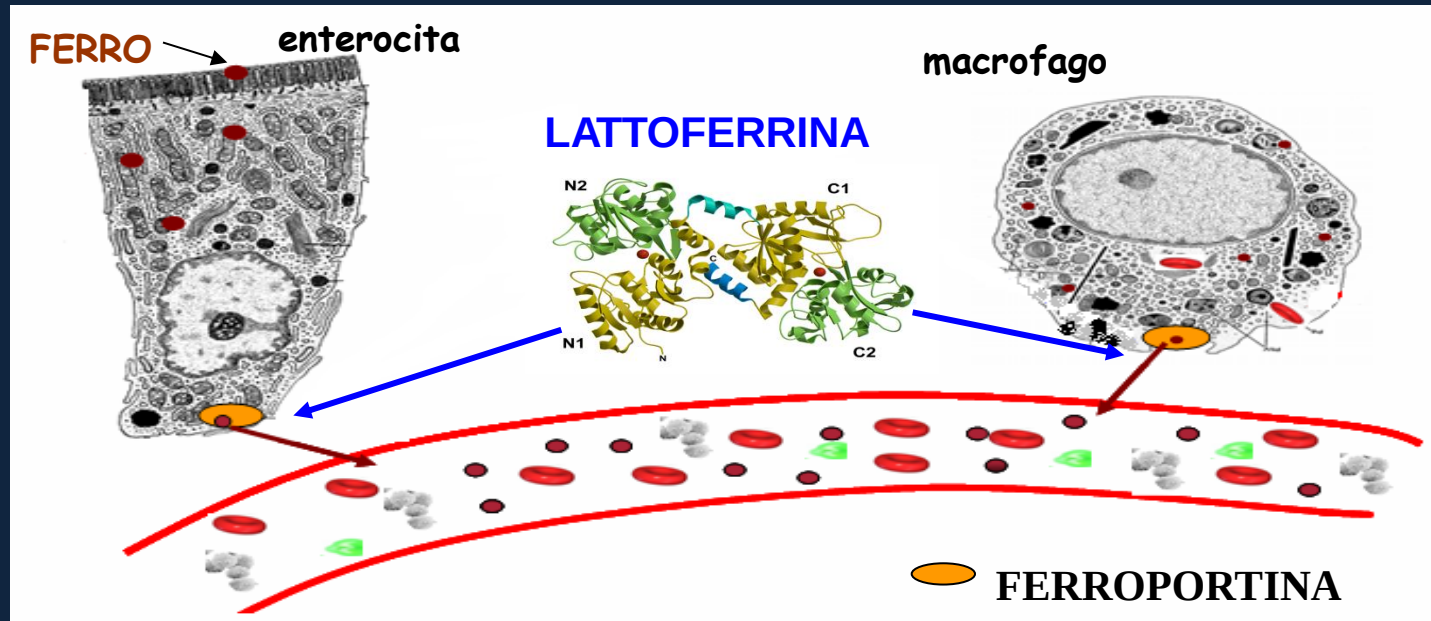
Struttura della lattoferrina



La lattoferrina è una glicoproteina bilobata (lobi N e C), costituita da circa 690 aminoacidi. Ciascun lobo lega in modo reversibile uno ione ferrico per molecola.

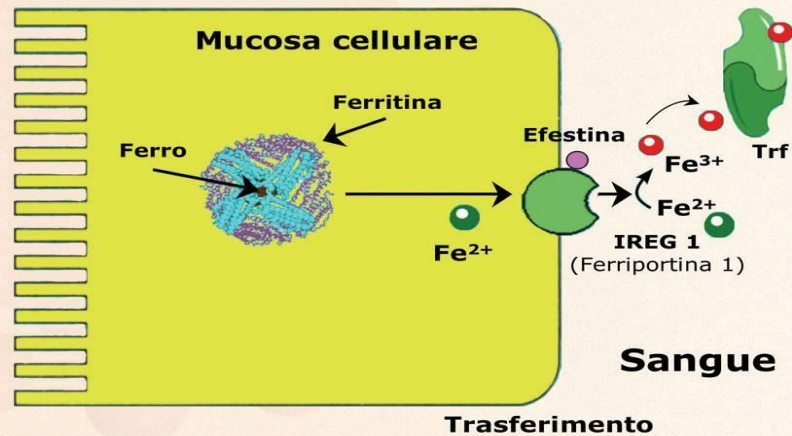
La funzione principale è quella di sequestrare il ferro e di renderlo biologicamente utilizzabile.

AZIONE DELLA LATTOFERRINA: RIPRISTINO DEI VALORI FISIologici DEL FERRO SERICO



La lattoferrina, assorbita negli enterociti, raggiunge il nucleo dove modula l'espressione genica di importanti fattori per la regolazione sistemica della **epcidina**, e della **ferroportina**. L'**epcidina** è un peptide di origine epatica che, essenzialmente, agisce bloccando l'assorbimento del ferro nell'intestino ed impedendone il rilascio dai macrofagi. La **ferroportina** rappresenta il più importante esportatore di ferro verso l'esterno delle cellule.

Meccanismo per l'assunzione di ferro



L'epcidina è in grado di legarsi alla ferroportina, determinando la sua internalizzazione e distruzione nella cellula, regola perciò negativamente il trasporto del ferro dalle cellule al plasma. La regolazione dell'assorbimento del ferro da parte della lattoferrina è determinato proprio dalla sua capacità di modulare queste due proteine

Bibliografia

- **Lactoferrin: molecular structure and biological function.** Lonnerdal B, Iyer S. 1995, ANN REV NUTR 15:93-110.
- **Lactoferrin: a multifunctional glycoprotein** Vorland LH 1999, APMIS n. 107:971-981.
- **The survival of ingested lactoferrin in the gastrointestinal tract of adult mice.** Kuwata H, Yip T, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H, Tomita M, Hutchens W. 1998, BIOCHEM J 321-323.
- **Lactoferrin and Iron.** Perraudin JP, 0 DOMO - FOOD INGREDIENTS.
- **Lactoferrina proteina multifunzionale.** Costa F. 2000 INTEGRATORE NUTRIZIONALE 3(1):23-27.
- **Structure and biological actions of Lactoferrin.** Nuijens JH, van Berkel PH, Schanbacher FL. 1996, JOURN of MAMMARY GLAND BIOLOGY AND NEOPLASIA (1)3:285-295.
- **Molecular structure, binding properties and dynamics of lactoferrin.** Baker EN, Baker HM. CELL MOL LIFE SCI 2005, 62:2531-2539.
- **Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview.** Ward PP et al. CELL MOL LIFE SCI. 2005, 62:2540- 2548.
- **Oral administration of lactoferrin increases hemoglobin and total serum iron in pregnant women.** Paesano R, Torcia F, Berlutti F, Pacifici E, Ebano V, Moscarini M, Valenti P. BIOCHEM CELL BIOL. 2006, 84:377-380.
- **Ipoferremia e anemia da carenza di ferro in gravidanza. Evidenze cliniche della maggior efficacia della lattoferrina, somministrata per os, rispetto al solfato ferroso.** Paesano R, Pacifici E, Ermini B, Pietropaoli M, Valenti P. IL GINECOLOGO; 3(1) 2008.

- **Lattoferrina e anemia in gravidanza.**
Guaraldi C, Costantino D. RIVISTA ITALIANA DI MEDICINA PERINATALE; 2005, Settembre, 7(3):15-20.
- **Terapia dell'anemia in gravidanza: associazione di ferro, ac. folico e lattoferrina.**
Costantino D, Guaraldi C. CONTRACCEZIONE FERTILITA' SESSUALITA'. 2005, 32(4):227-234.
- **Lattoferrina: l'approccio innovativo nell'anemia sideropenica in gravidanza.**
Costantino D., Guaraldi C. In Fitoterapia ed integratori in ostetricia e ginecologia 2009 International up to date - 261; 2009, CIC Edizioni Internazionali; pagg. 54 – 60.
- **Anemia sideropenica in gravidanza: lattoferrina vs ferro in varie formulazioni e idrolizzato di cartilagine di pesce marino.**
Costantino D., Guaraldi C. Il Ginecologo Rivista di Ostetricia e Ginecologia Vol.4 suppl. al n° 1 Marzo 2009; pagg. 2 – 8.
- **Lattoglobina: nuovo approccio nella prevenzione dell'anemia sideropenica in gravidanza.**
Costantino D., Guaraldi C. in Atti del 2° Congresso Nazionale della FIOG, 17° Congresso AGUI, 15° Congresso AGICO, 11° Congresso AGE0; 2009 (CD-Rom)
Comunicazioni libere al 81° congresso Nazionale SIGO (46° Congresso AOGOI, 13° congresso AGUI), 20 – 24 Settembre 2005, Bologna; in ATTI della società Italiana di Ginecologia ed Ostetricia – vol LXXXI:

LATTOFERINA

PROPRIETA' ANTIMICROBICHE



EFFETTI ANTI- MICROBICI

Sebbene l'effetto più conosciuto della lattoferrina è quello di proteina che si lega con il ferro.

La lattoferrina è un potente agente antimicrobico che inibisce un'ampia gamma di batteri patogeni e altri microbi.

Il meccanismo sembra avere un'affinità estremamente elevata con questo metallo: molti batteri patogeni necessitano di avere del ferro libero per moltiplicarsi; in presenza della lattoferrina sono potentemente inibiti o uccisi.

L'apolattoferrina sequestra nell'unità di tempo una maggiore quantità di Fe^{3+} ha attività battericida/batteriostatica più immediata .

Minerva Ginecologica 2008 Aprile;60(2):121-5

ARTICOLI ORIGINALI

Studio preliminare sull'utilizzo di una crema contenente Lattoferrina nel trattamento della vulvovaginite acuta da candida

Costantino D.¹, Guaraldi C.²

¹ Centro Salute Donna, Azienda USL, Ferrara, Italia

² Reparto di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale di Valdagno, Valdagno, Vicenza, Italia

Obiettivo. L'obiettivo dello studio è verificare l'efficacia clinica del trattamento con crema contenente lattoferrina nella vulvovaginite acuta da Candida.

Metodi. Sono state reclutate 34 pazienti di età compresa fra i 25 e i 45 anni che presentavano segni e sintomi di vulvovaginite acuta da Candida. Le pazienti sono state trattate con crema contenete lattoferrina al 4% (Elleffe 100 crema DICOFARM®), 5 g di crema in vagina e 2 cm applicata esternamente a livello vulvare, per due volte al giorno per 7 giorni. Alla fine del trattamento la paziente ritornava in ambulatorio e veniva eseguito un esame clinico e microscopico per valutare l'efficacia della terapia.

Risultati. I risultati ottenuti dimostrano che 27 pazienti hanno avuto completo beneficio dalla teapi, 5 un netto miglioramento e 2 risultavano ancora ffette da vuvlovaginitie al controllo.

Conclusioni. Dai dati del nostro studio, una crema che contiene lattoferrina sembra risultare clinicamente efficace nel trattamento della vulvovaginite acuta da Candida, con una buona risposta su tutti i sintomi caratteristici di questa infezione.

lingua: Italiano

LATTOFERRINA E INFEZIONI DEL BASSO TRATTO GENITALE FEMMINILE

Effect of Lactoferrin and Iron on the Growth of Human Pathogenic *Candida* Species

Hashem Al-Sheikh

Department of Biology, College of Science, King Faisal University,
Al-Hassa, Saudi Arabia

Abstract: Effect of lactoferrin and iron have been studied on the multiplication and pseudohyphae production by three pathogenic *Candida* species viz., *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis*. Results showed that lactoferrin showed significant antifungal effect on the three species tested, while the addition of iron enhance the multiplication of *Candida* species.

1. J Reprod Med. 2004 Nov;49(11):859-66.

Activated lactoferrin's ability to inhibit *Candida* growth and block yeast adhesion to the vaginal epithelial monolayer.

Naidu AS, Chen J, Martinez C, Tulpinski J, Pal BK, Fowler RS.

UNA DUPLICE E SINERGICA ATTIVITA' ANTIMICROBICA

L'effetto antimicrobico della lattoferrina è attribuito :

- Attività chelante il ferro**
- Meccanismo diretto indipendente dall'attività chelante il ferro**

***ATTIVITA' CHELANTE IL Fe^{3+} :
PROPRIETA' BATTERICIDA/BATTERIOSTATICA***

**MOLTI BATTERI PER SOPRAVVIVERE E MOLTIPLICARSI HANNO BISOGNO DI FERRO
IL PRIMO EFFETTO ANTIBATTERICO DELLA LATTOFERRINA E' STATO
ATTRIBUITO ALLA SUA CAPACITA' DI LEGARE IL FERRO NON
RENDENDOLO COSI' DISPONIBILE AI POTENZIALI PATOGENI**

**Iron-binding Proteins in Milk and Resistance to
Escherichia coli Infection in Infants**

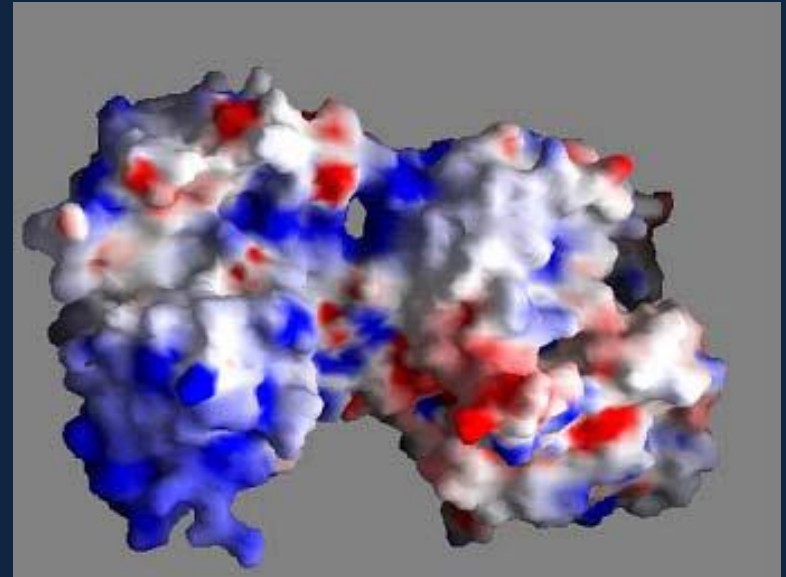
J. J. BULLEN, HENRY J. ROGERS, L. LEIGH. British Medical Journal, 1972, 1, 69-75

LA STRATEGIA DIFENSIVA DEI BATTERI

Alcuni batteri tendono ad adattarsi all'assenza di ferro attraverso la produzione di molecole siderofore, capaci di complessarsi con il ferro e di competere con la lattoferrina per questo ione. In aggiunta, alcune specie batteriche appartenenti alla famiglia delle Neisseriaceae si sono adattate alle restrittive condizioni imposte dalla assenza di ferro, sintetizzando specifici recettori in grado di legarsi alla lattoferrina ed estrarre tale elemento direttamente dalla proteina.

ATTIVITA' ANTIMICROBICA DIRETTA

Grazie alla natura cationica la lattoferrina è in grado di legarsi a diverse strutture batteriche e virali. Si lega inoltre a molecole con residui anionici come DNA, eparina, glicosamminoglicani, LPS e LTA



Superficie cationica

Superficie anionica

Il lipopolisaccaride “LPS” è un'endotossina molto tossica. Viene rilasciato una volta che il batterio muore. Quando la cellula si rompe, l'LPS viene rilasciato e provoca un'intensa risposta da parte dell'organismo, con febbre e shock dovuto all'aumento della permeabilità vasale e alla vasodilatazione. A concentrazioni elevate può essere fatale.

LTA (acido lipoteicoico) componente della parete dei gram-positivi, importantissimo nella formazione della capsula negli streptococchi.

ATTIVITA' BATTERICIDA DIRETTA

Il legame della lattoferrina con strutture batteriche indispensabili per la vita determina la morte del batterio. Questa attività battericida della lattoferrina sembra si possa imputare alla presenza nella regione N-terminale di un peptide cationico chiamato lactoferricina.

Biochim Biophys Acta. 1992 May 22;1121(1-2):130-6.

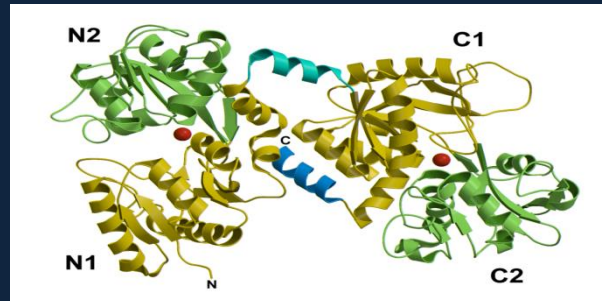
Identification of the bactericidal domain of lactoferrin.

Bellamy W¹, Takase M, Yamauchi K, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M.

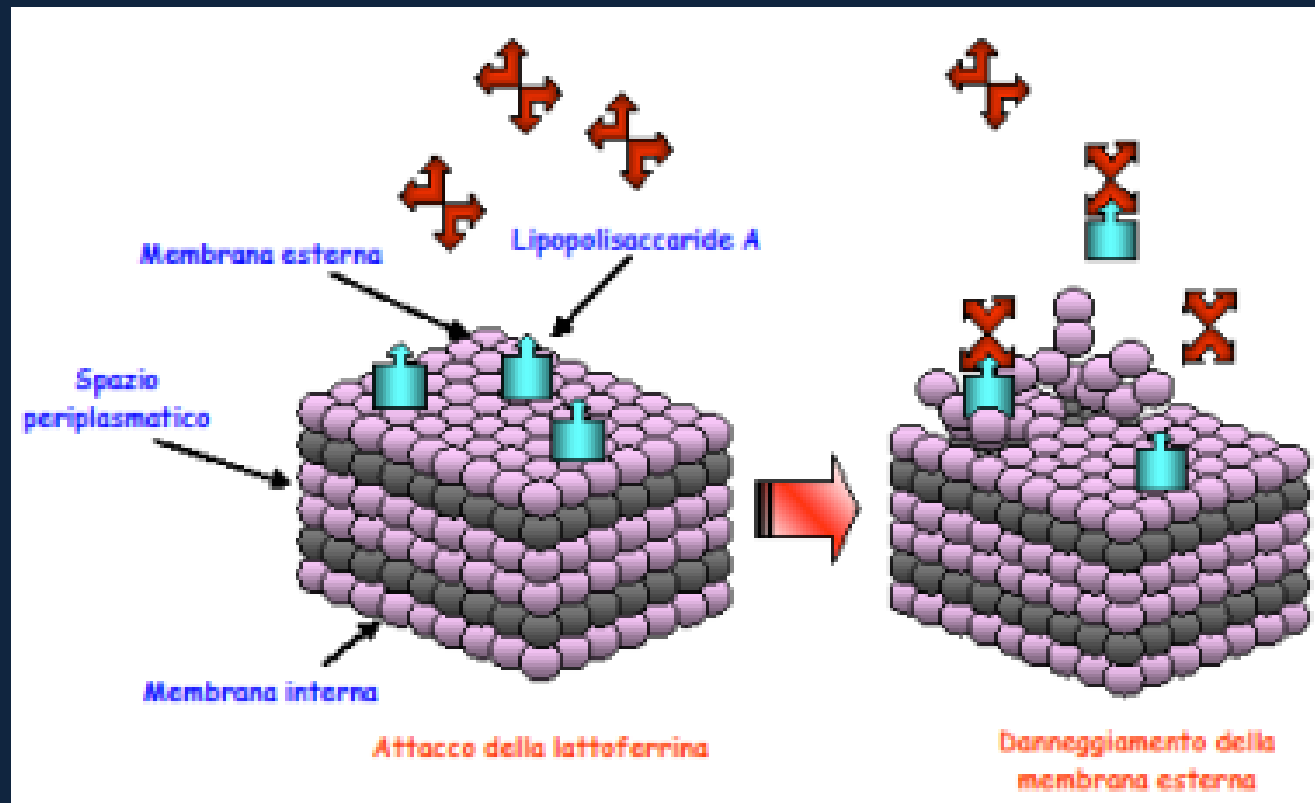
J Appl Bacteriol. 1992 Dec;73(6):472-9.

Antibacterial spectrum of lactoferricin B, a potent bactericidal peptide derived from the N-terminal region of bovine lactoferrin.

Bellamy W¹, Takase M, Wakabayashi H, Kawase K, Tomita M.



ATTIVITA' BATTERICIDA DIRETTA

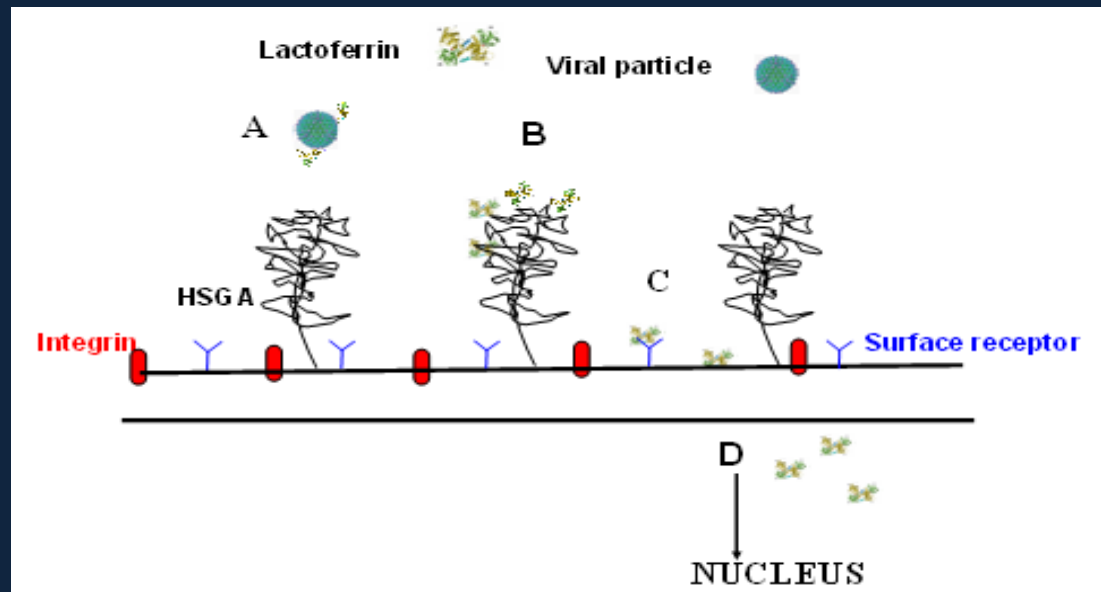


L'ATTIVITA' ANTIMICROBICA DIRETTA AD AMPIO SPETTRO
INSIEME ALL'ELEVATA ATTIVITA' CHELANTE IL Fe^{3+}
GARANTISCE UN ABBATTIMENTO PIU' PRONTO DELLE UFC*
(UNITA FORMANTI COLONIE)

* MISURAZIONE MOLTO PIU' ATTENDIBILE DELLA CONTA DELLE COLONIE DEI MICROORGANISMI

ATTIVITA' VIRUCIDA

- ❖ THE BINDING TO VIRAL PARTICLES
- ❖ THE BINDING TO HEPARAN SULFATE GLYCOSAMINOGLYCANS (HSGA)
- ❖ THE BINDING TO VIRAL RECEPTORS
- ❖ INTRACELLULAR LOCALIZATION, INVOLVING APOPTOSIS OR INFLAMMATORY PATHWAYS



Antiviral Properties of Lactoferrin—A Natural Immunity Molecule
F. Berlutti Molecules 2011, 16, 6992-7018; doi:10.3390/molecules16086992

La lattoferrina inibisce sia direttamente che indirettamente i diversi virus che causano malattie nell'uomo.

Inibisce direttamente i virus legandosi con i siti dei recettori virali impedendo in tal modo che il virus infetti le cellule sane.

Uccide indirettamente o inibisce il virus, aumentando la risposta immunitaria sistemica all'invasione virale.

Interessante notare che c'è una carenza sistemica di lattoferrina in chi è affetto da HIV.

Swart, Kuipers, Smit, Van Der Strate, Harmsen, Meijer "antiviral activity of lactoferrin" Adv Exp Med Biol – 1998

In svariati studi in vitro la lattoferrina ha dimostrato di avere potenti effetti antivirali contro la replicazione sia dell'HIV umano che del Citomegalovirus (CMV) e senza alcun effetto citopatico sulle cellule sane.

Oltre all'HIV e al CMV, ulteriori studi hanno riscontrato che la lattoferrina inibisce l'infezione da Herpes Simplex di tipo 1 delle cellule sane.

ATTIVITA' ANTINFIAMMATORIA

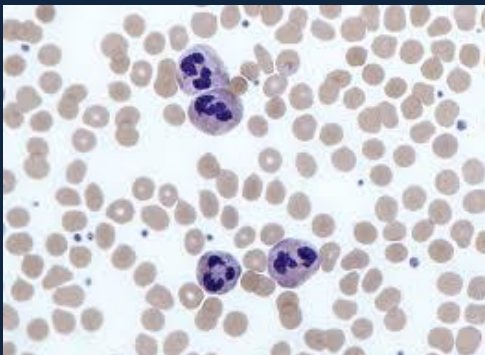
Lactoferrin downregulates pro-inflammatory cytokines upexpressed in intestinal epithelial cells infected with invasive or noninvasive *Escherichia coli* strains

Francesca Berlutti,^a Serena Schippa,^a Clara Morea,^b Serena Sarli,^a Brunella Perfetto,^b Giovanna Donnarumma,^b

Piera Valenti

Riduce di 3-4 volte la sintesi di IL-6, TNF α e citochine, di 1.8 volte la sintesi di IL-8 in culture di cellule epiteliali intestinali infettate da *Escherichia coli*

L'eccesso di Fe³⁺ attiva un processo infiammatorio che richiama i neutrofili che determinano una esacerbazione dell'infiammazione stessa.



I neutrofili producono sostanze pro-infiammatorie

Due studi con volontari umani in buone condizioni di salute hanno dimostrato che l'ingestione di lattoferrina derivata dal latte di mucca ha avuto effetti immunoregolatori positivi sui soggetti.

I ricercatori hanno concluso a tal proposito “ i dati suggeriscono che l'ingestione di lattoferrina bovina può essere applicata clinicamente per migliorare il sistema immunitario dei pazienti”

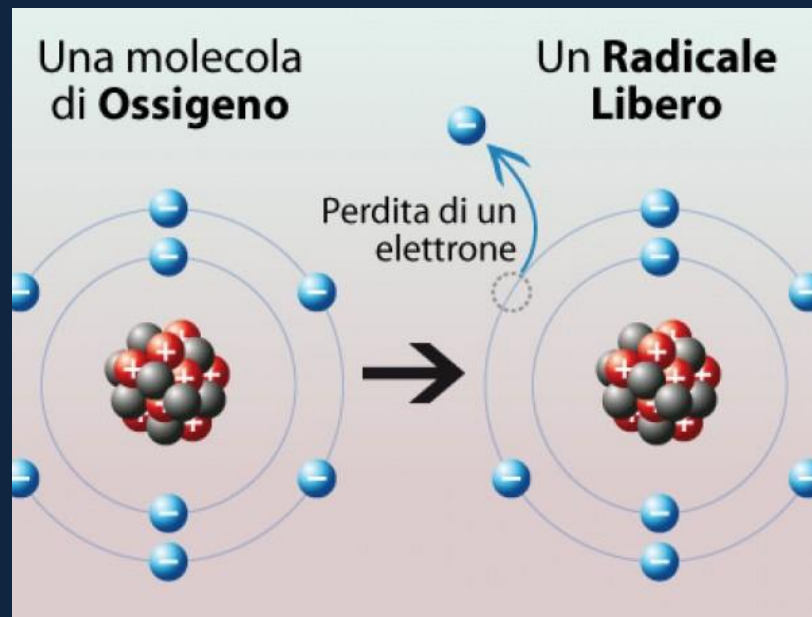
Immunoregulatory effects of a nutritional preparation containing bovine lactoferrin taken orally by healthy individuals. Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 1998; 46 (4):231-40. PMID: 9779289

Zimecki M, Wlaszczyk A, Cheneau P, Brunel AS, Mazurier J, Spik G, Kübler A

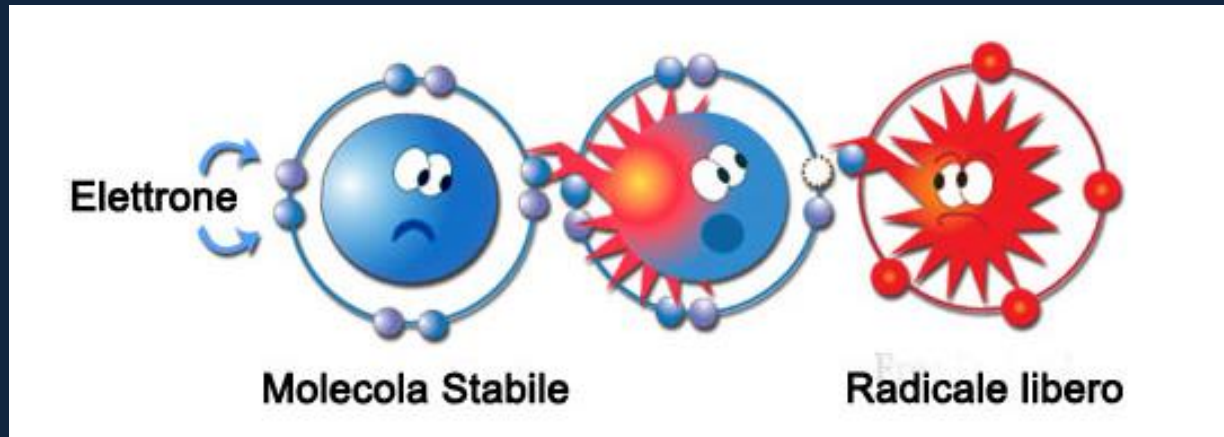
Effect of orally administered bovine lactoferrin on the immune system of healthy volunteers”
Adv Exp Med Biol – 1998

Yamauchi, Wakabayashi, Hashimoto, Teraguchi, Hayasawa, Tomita “

LATTOFERINA PROPRIETA' ANTIOSSIDANTI



Le conseguenze dello Stress Ossidativo



L'**infiammazione** è la prima conseguenza dello stress ossidativo.

ANTIOSSIDANTI E STRESS OSSIDATIVO

- Lo stress ossidativo è una condizione patologica causata dalla rottura dell'equilibrio fisiologico, in un organismo vivente, fra la produzione e l'eliminazione di specie chimiche ossidanti.
- Le specie ossidanti possono avere o meno una natura radicalica (con un elettrone spaiato nell'orbitale esterno) e possono contenere atomi di vari elementi (ossigeno, carbonio, azoto, alogeni...)
- Lo stress ossidativo risulta essere alla base di svariati problemi patologici e dei loro effetti dannosi sull'organismo
- Lo stress ossidativo è coinvolto, anche se con pesi differenti, nella patogenesi di numerose patologie. Dalle patologie vascolari a quelle neurologiche a tutte le patologie che in generale sono caratterizzate dalla presenza di un processo infiammatorio, perché infiammazione e stress ossidativo sono strettamente correlati e si amplificano e sostengono a vicenda.

- Schematizzando il processo infiammatorio possiamo dire che i vari stimoli proinfiammatori aumentano i radicali liberi. I radicali liberi attivano i neutrofili, che sono le prime cellule coinvolte nel processo e i neutrofili attivati rilasciano citokine che richiamano altri leucociti e li attivano. I vari tipi di leucociti attivati a loro volta rilasciano altre citokine infiammatorie e altri radicali liberi che amplificano così il fenomeno infiammatorio.

Lo stress ossidativo ha diverse conseguenze:

- Infiammazione: il superossido capostipite di tutti i ROS è un mediatore cellulare che induce biosintesi e rilascio di citochine infiammatorie, in particolare IL-1, IL-6 e TNF-).
- Stress ossido nitrativo (il perossinitrito NO_3^- che si forma in seguito alla reazione del O_2^- con l'NO è citotossico e può indurre apoptosi).
- Riduzione delle risorse energetiche cellulari (conseguente al danneggiamento delle membrane mitocondriali).

Questo spiega perché quando parliamo di molecole antiossidanti stiamo parlando di principi attivi ad azione anche antinfiammatoria.

STIMOLI PROINFIAMMATORI
Infezioni, Diabete, ischemia, traumi, alterazioni ormonali, fumo,
farmaci, radiazioni

ROS

NEUTROFILI

ROS

IL-1, IL-6, TNF- α altre citokine

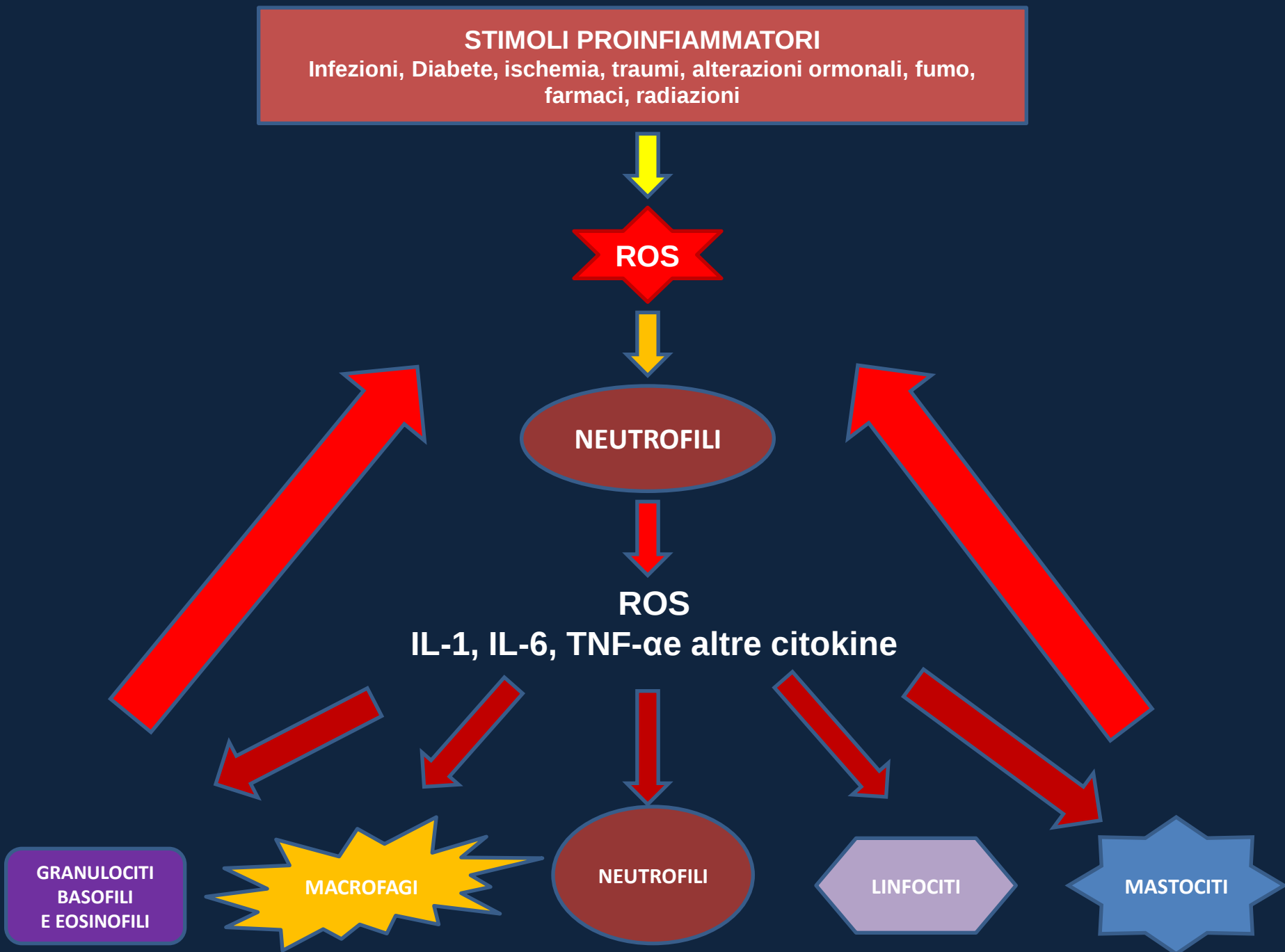
**GRANULOCITI
BASOFILI
E EOSINOFILI**

MACROFAGI

NEUTROFILI

LINFOCITI

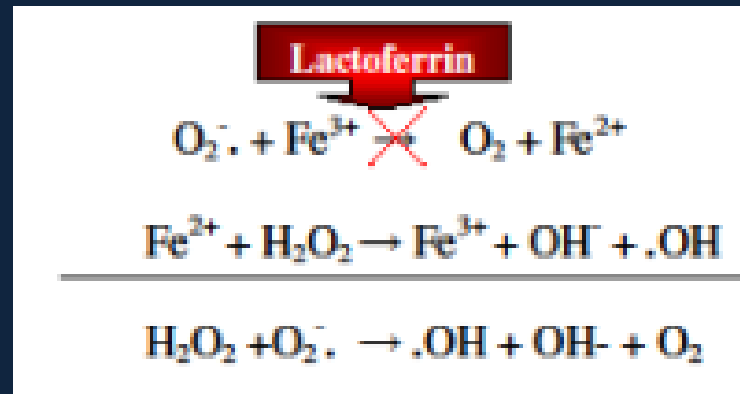
MASTOCITI



Meccanismo di difesa antiossidante

La lattoferrina sequestra il ferro catalitico generato dai processi di distruzione cellulare, minimizzando in tal modo le lesioni tessutali prodotte dagli idrossidi radicalici che, durante i processi infiammatori, sono anche associati alla produzione di neutrofili ossidanti

L'abilità della lattoferrina di inibire il primo step della reazione di Haber-Weiss è alla base del meccanismo di azione antiossidante che previene la formazione di radicali liberi



La reazione di Haber-Weiss: converte, in presenza di ione ferroso (Fe^{2+}), l' O_2^- e l' H_2O_2 in radicali idrossilici ($\cdot OH$).

OBSTETRICS

Vaginal lactoferrin in asymptomatic patients at low risk for pre-term labour for shortened cervix: Cervical length and interleukin-6 changes

M. Locci¹, G. Nazzaro¹, M. Miranda¹, E. Salzano¹, S. Montagnani², C. Castaldo² & G. De Placido¹

Departments of ¹Obstetrics and Gynecology and ²Human Anatomy, University of Naples Federico II, Naples, Italy

A total of 3,324 singleton pregnant women were screened for pre-term delivery and 128 women were finally randomised and analysed for outcome showing borderline cervical length (25–29 mm) and elevated cervico-vaginal interleukin 6 levels. To verify if vaginal administration of lactoferrin might have an influence on these variables, two groups of 64 patients were formed. Study cases were submitted to lactoferrin for 21 days; controls received no treatment. An inverse relation was found between interleukin 6 levels and cervical length. On day 30 from the beginning of the treatment, study cases showed a decrease in interleukin 6 levels and an increase in cervical length. A greater number of women with regular uterine contractions and reduced cervical consistency before the 37th week of gestation were found in the controls. Our data show that lactoferrin could play a role in reducing the number of women at risk for pre-term birth for shortened cervical length and elevated interleukin 6 levels.

Conclusion

In our opinion, the efficacy of vaginal lactoferrin in decreasing local IL-6 levels is of immense interest. The dose and the duration of the treatment that we have used in the present study have been calculated on the basis of previous studies on animal models, and proportionally reproduced (Machnicki et al. 1993; Hasegawa

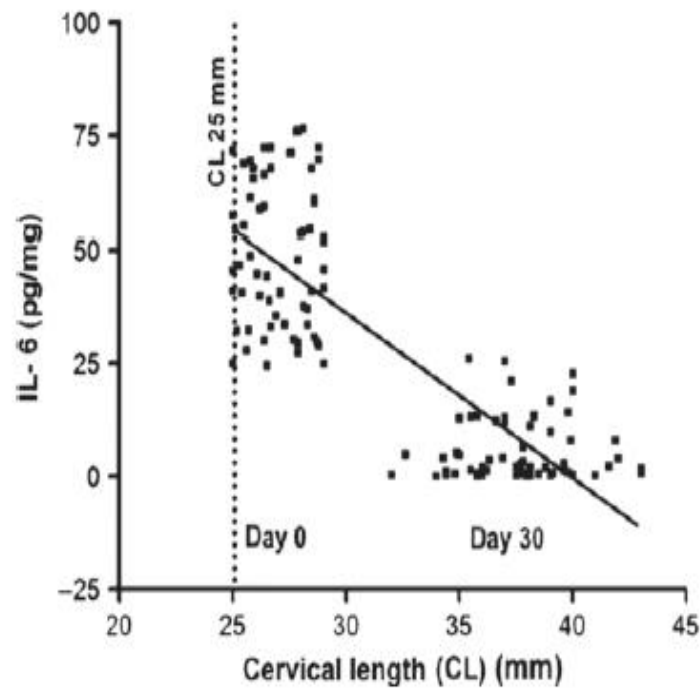


Figure 4. Cervical length measurements and IL-6 levels on day 0 and on day 30 in the study group. The decrease in IL-6 levels is inversely related to an increase in CL measurements.

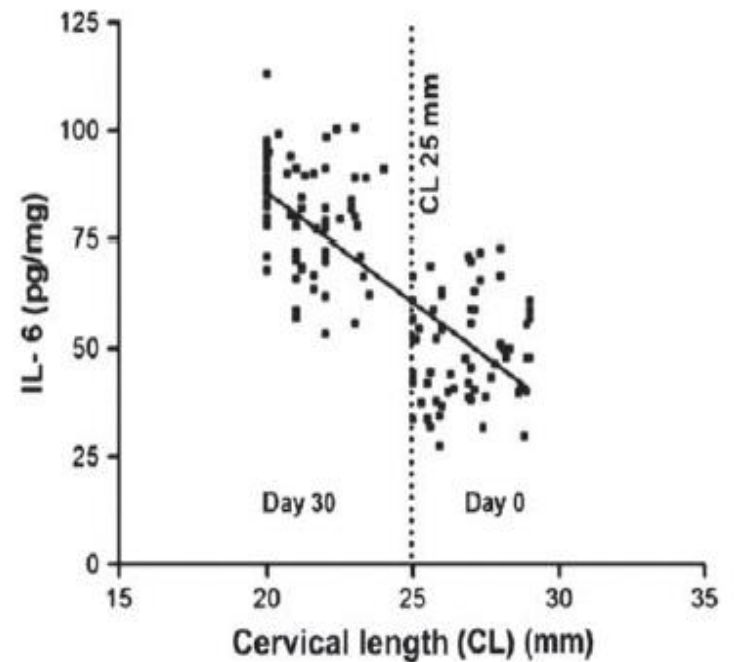


Figure 5. Cervical length measurements and IL-6 levels on day 0 and on day 30 in the control group. The increase in IL-6 levels is inversely related to a decrease in CL measurements.

Bovine lactoferrin in preventing preterm delivery associated with sterile inflammation¹

Rosalba Paesano, Miriam Pietropaoli, Francesca Berlutti, and Piera Valenti

Résumé : L'accouchement est qualifié de prématuré s'il survient avant la 37^{ième} semaine de gestation. L'anémie ferriprive et les processus inflammatoires reliés soit à l'infection ou à une réponse inflammatoire stérile représentent des facteurs de risque d'accouchement prématuré. La lactoferrine bovine (bLf), un régulateur émergent important de l'homéostasie du fer et inflammatoire, peut constituer une nouvelle approche thérapeutique de traitement de l'accouchement prématuré. Une cohorte a été constituée afin d'évaluer l'effet de l'administration orale de bLf sur l'homéostasie du fer et inflammatoire chez des femmes enceintes souffrant d'anémie. Un sous groupe comprenant des femmes de la cohorte présentant un risque élevé d'accouchement prématuré a été également traité par une administration intravaginale de bLf. Une amélioration significative des paramètres hématologiques a été observée chez les femmes de la cohorte, parallèlement à une diminution constante des niveaux d'interleukine 6 (IL 6) sérique. L'administration combinée de bLf orale et intravaginale au sous groupe de femmes présentant un risque élevé d'accouchement prématuré a diminué les niveaux d'IL 6 du sérum et du liquide cervico vaginal, de prostaglandine F_{2α} cervico vaginale, et a supprimé la contractilité utérine. L'administration de bLf bloquait de plus le raccourcissement du col utérin et augmentait la fibronectine fœtale, prolongeant ainsi la durée de la grossesse. Les accouchements se sont produits entre la 37^{ième} et la 38^{ième} semaine de gestation. Ces résultats apportent la preuve que la bLf peut jouer un rôle dans le traitement de l'accouchement prématuré, ajoutant ainsi au potentiel thérapeutique de cette protéine naturelle multifonctionnelle.

Vaginal Lactoferrin Administration before Genetic Amniocentesis Decreases Amniotic Interleukin-6 Levels

Fortunato Vesce^a Emilio Giugliano^a Stefania Bignardi^a Elisa Cagnazzo^a
Cecilia Colamussi^a Roberto Marci^a Nicoletta Valente^b Silvia Seraceni^b
Carlo Contini^b

^aSection of Obstetrics and Gynecology, Department of Morphology, Surgery and Experimental Medicine, and

^bSection of Infectious Diseases, Department of Medical Sciences, University of Ferrara, Ferrara, Italy

© S. Karger AG, Basel

**PROOF Copy
for personal
use only**

ANY DISTRIBUTION OF THIS
ARTICLE WITHOUT WRITTEN
CONSENT FROM S. KARGER
AG, BASEL IS A VIOLATION
OF THE COPYRIGHT.

Abstract

Aim: To verify the eventual efficacy of lactoferrin (LF), an iron-binding glycoprotein, to decrease the amniotic concentration of interleukin-6 (IL-6). **Methods:** We prospectively enrolled 60 Caucasian patients at the 16th week of their singleton physiological gestation. A vaginal compound containing 300 mg of LF was administered randomly 4 or 12 h prior to amniocentesis, so as to obtain 3 groups: A, 20 untreated patients; B, 20 treated 4 h before amniocentesis; C, 20 treated 12 h before amniocentesis. **Results:** A normal

karyotype was registered in all cases. The comparison of the distribution of IL-6 among the 3 groups showed a highly significant difference ($p = 0.001$). The difference between mean values of group B and both groups C and A was shown to be highly significant ($p = 0.006$ and $p = 0.03$, respectively). In contrast, there was no significant difference between mean values of groups A and C. **Conclusion:** Vaginal LF administration decreases amniotic IL-6 concentration. We

therefore suggest that the glycoprotein may exert a protective role against ominous pregnancy complications linked to an increased level of the cytokine, such as abortion secondary to amniocentesis.

© 2014 S. Karger AG, Basel

INVESTIGATION OF CYTOKINES AND INTRACELLULAR BACTERIA IN RELATION TO THE ADMINISTRATION OF LACTOFERRIN IN WOMEN WITH INFERTILITY

C. Contini ^{*1}, S. Seraceni ², N. Valente ¹, M. Maritati ¹, M. Comar ², R. Marci ³, E. Giugliano ³, F. Vesce ³

Infectious Diseases^{*1} and Obstetric and Gynecology³, University of Ferrara, Italy; Maternal and Child Health, IRCCS "Burlo Garofolo" University of Trieste ², Italy

Introduction and Purpose

The increasing prevalence of sexually transmitted infections is a major health issue, especially those implicated in female infertility. The detection of sexually transmitted microbes, which can lead to endometrial inflammation in women, is of great clinical importance, because if untreated it can lead to serious consequences, including miscarriages, tubal obstruction, ectopic pregnancies, preterm birth, chronic pelvic pains, unexplained infertility and even ovarian cancer. Accumulating evidence suggests an association between high levels of IL-6 in the amniotic fluid and threatened preterm delivery, recurrent miscarriage, pre-eclampsia. In this study, the role of lactoferrin (LF), an iron binding glycoprotein of 80 kDa, member of the transferrin family and considered a component of first-line host defense against pathogens because of its antimicrobial, anti-inflammatory and immunomodulatory properties, was evaluated in order to assess the levels of IL-6 in cervical-vaginal secretions (CVS) and to establish the existence of a correlation between IL-6 and the intracellular microorganisms *Mycoplasma hominis* (Mh), *Ureaplasma urealyticum* (Uu) and *Chlamydia trachomatis* (Ct), potentially implicated in the pathogenesis of infertility and miscarriage.

Methods

25 outpatients with idiopathic infertility observed at Unit of Pathophysiology of Human Reproduction of University of Ferrara from March 2011 to March 2012 were enrolled. Women underwent CVS sampling in the peri-ovulatory phase for dosage of IL-6 and microbiological and molecular (Reverse Transcriptase - PCR [RT-PCR]) 16 s rRNA gene examination for Mh, Uu and Ct. CVS were preliminarily screened by PCR for DNA *Mycoplasma* genus (MGSO/GPO1) (1) and positive results were then analyzed with species-specific primers for human *Mycoplasmas*. Ct was investigated by n-PCR using primers able to amplify fragment 18s rRNA and MOMP genes (2). The specific products obtained, were confirmed by sequencing with ABI PRISM 3130 DNA Sequencer (Applied Biosystem, The Netherlands). The pro-inflammatory cytokine IL-6 was measured and quantified in the CV supernatants (100 µL) aliquoted and stored at -70°C until analysis by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using Quantikine Elisa Human IL-6 Kit (R&R Systems, Minneapolis, MN, USA), according to manufacturer's instructions. The lower detection limit for human IL-6 was 3.12 pg/ml. A zero value was assigned to samples below these limits (3). The patients were administered LF 300 mg (DIFESAN, Progine Pharmaceuticals, Italy) intravaginally for 7 days. After 12 hours of discontinuation of therapy, women were subjected to a second sampling of SVC for the execution of the same tests.

Results

Our results showed a reduction of the mean values of IL-6 concentration after therapy with Lf [58.2 (± 80.9) pg/ml vs 77.2 (± 150) pg/ml] before therapy. This difference was not statistically significant ($p = 0.8$). The microbiological examination showed a significant reduction of positive samples for Uu after therapy (8 vs 2; $p = 0.2$). With RT-PCR, there was also a significant reduction of positive samples for Uu (4 vs 2; $p = 0.5$) as well as for Mh, after therapy (6 vs 4; $p = 0.4$). Ct wasn't detected in any sample. A statistically significant correlation ($p = 0.04$; $t = 2.15$) was also found between Mh and high CVS IL-6 ($p = 0.04$; $t = 2.15$) concentration.

Lactoferrin (LF) therapy	Mean IL-6 Concentration (mean values pg/ml)	<i>U. urealyticum</i> * and <i>M. hominis</i> RT-PCR examination
Before LF administration	58.2 (± 80.9)	4/6 (66.6)
After LF *	77.2 (± 150) *	2/4 (50%)

not statistically significant different; * statistically significant different ($p < 0.05$ and $p < 0.04$, respectively); *U. urealyticum* microbiological examination*

Conclusions

LF is a major component of the mammalian innate immune system. Its protective effects range from direct antimicrobial activities against a large panel of microorganisms, including bacteria, viruses, fungi and parasites, to anti-inflammatory and anticancer action. Moreover, the exogenous bovine form, administered for treating iron deficiency anemia, has been reported to decrease IL6 concentration in the maternal serum (4). LF seems to confirm its role as anti-inflammatory molecule while its antimicrobial efficacy is limited in numeric values given the small sample. These results could be justified assuming that Mh and Uu can take advantage of LF as a source of iron, which is necessary for their survival and proliferation, property already owned by other microorganisms through siderophores, binding and lytic enzymes, which utilize LF as a donor of iron. Moreover, a dose of 300 mg of LF given for 7 days intravaginally, results in a reduction of the cytokine level and Uu and Mh and Uu by RT-PCR, although not statistically significant. A larger sample size is needed to verify the possible immunomodulatory and therapeutic properties of LF for a possible employment in infertility with potential infectious pathogenesis.

References

1. Cultrera R et al, BMC Infect Dis. 2008;6:186; 2. Contini et al, Am J Hematol. 2009; 84:597-9; 3. Lee S et al. J Immunol 2011; 186:3226-36; 4. Vesce et al, Gynecol Obstet Invest 2014

Administration of oral and vaginal prebiotic lactoferrin for a woman with a refractory vaginitis recurring preterm delivery: Appearance of lactobacillus in vaginal flora followed by term delivery

Katsufumi Otsuki, Mayumi Tokunaka, Tomohiro Oba, Masamitsu Nakamura, Nahoko Shirato and Takashi Okai

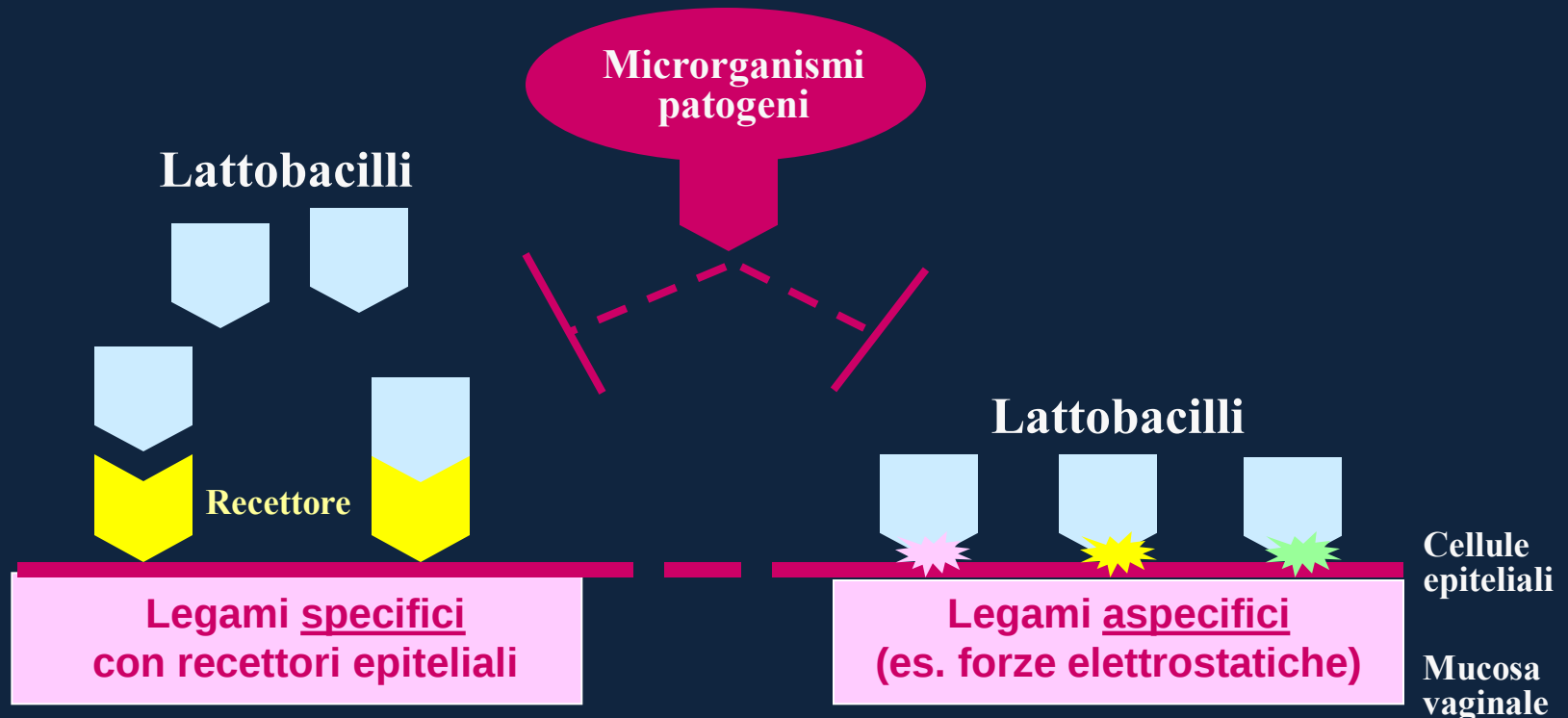
Department of Obstetrics and Gynecology, Showa University School of Medicine, Tokyo, Japan

Abstract

Lactoferrin (LF) is one of the prebiotics present in the human body. A 38-year-old multiparous woman with poor obstetrical histories, three consecutive preterm premature rupture of membrane at the 19th, 23rd and 25th week of pregnancy, was referred to our hospital. She was diagnosed as having refractory vaginitis. Although estriol vaginal tablets were used for 4 months, the vaginitis was not cured. We administrated vaginal tablets and oral agents of prebiotic LF, resulting in a *Lactobacillus* predominant vaginal flora. When she was pregnant, she continued to use the LF, and the *Lactobacillus* in the vaginal flora was continuously observed during pregnancy. An elective cesarean section was performed at the 38th week of pregnancy. When the administration of LF was discontinued after the delivery, *Lactobacillus* in the vaginal flora was disappeared.

Inibizione dell'adesione dei patogeni alla mucosa vaginale

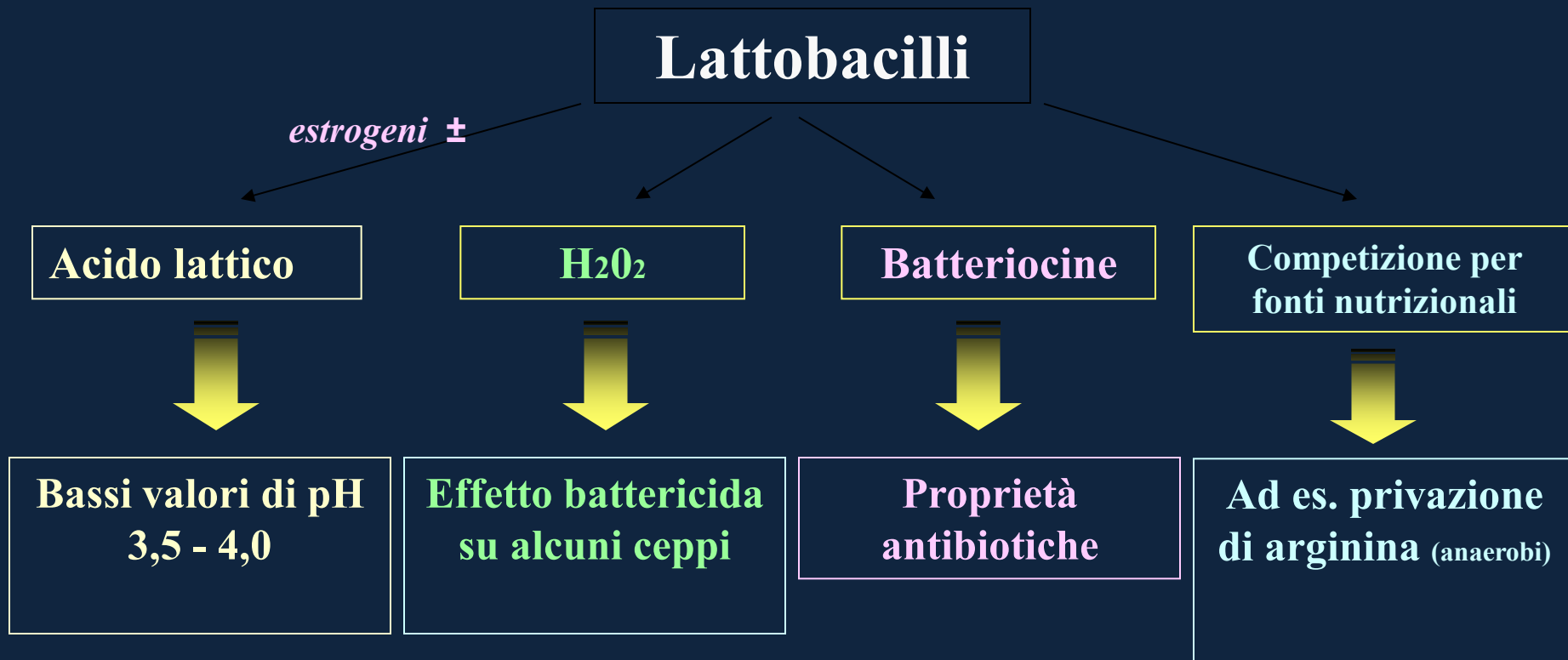
**I lattobacilli si legano in modo specifico e aspecifico
alle cellule epiteliali della mucosa vaginale...**



**... ed impediscono ai microrganismi patogeni
di trovare liberi i siti di legame e quindi aderire alla mucosa vaginale**

Inibizione della crescita dei patogeni

I lattobacilli sintetizzano sostanze fondamentali per il mantenimento di un corretto equilibrio nell'ecosistema vaginale...



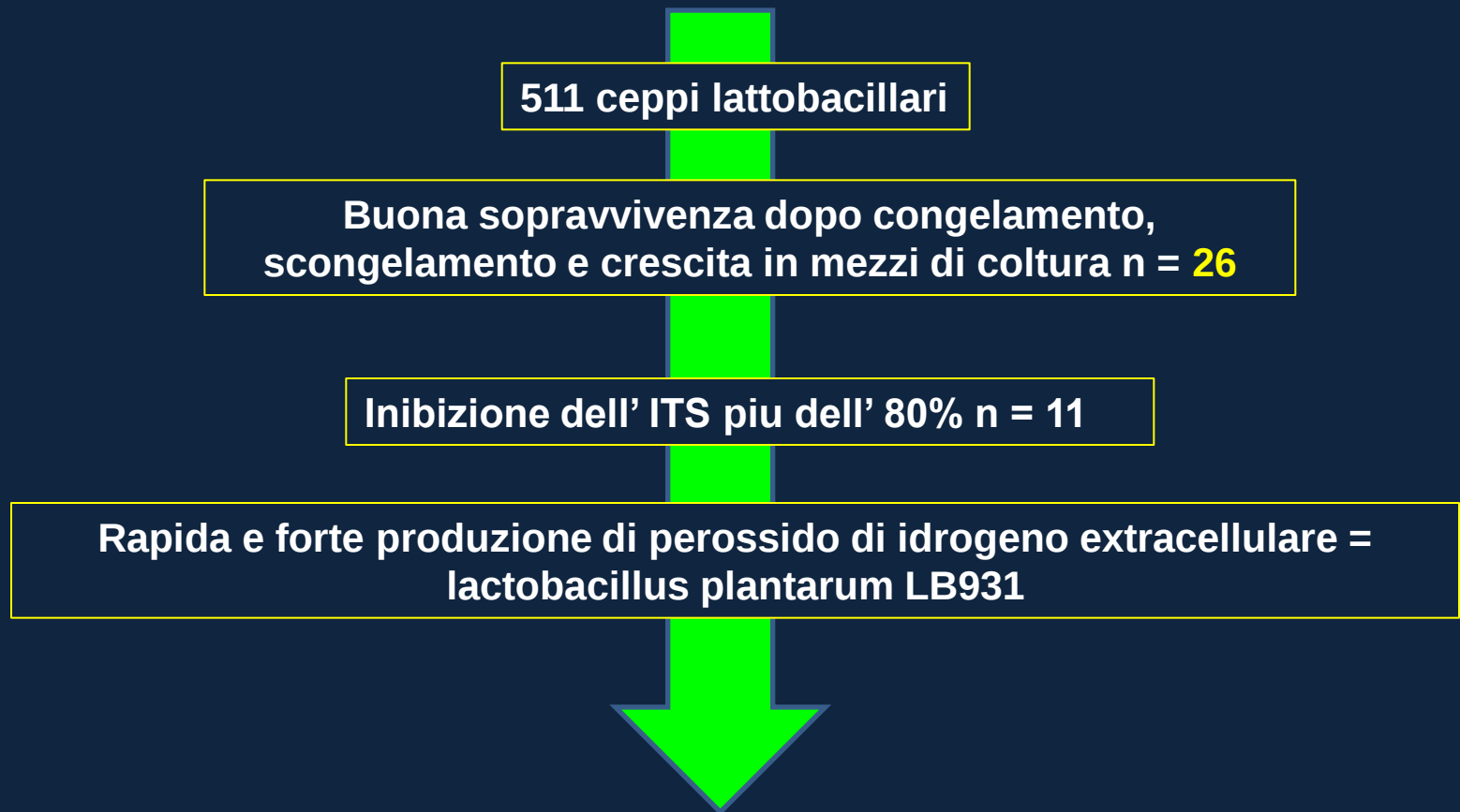
...in quanto agiscono come fattori di difesa contro l'insorgenza di infezioni microbiche

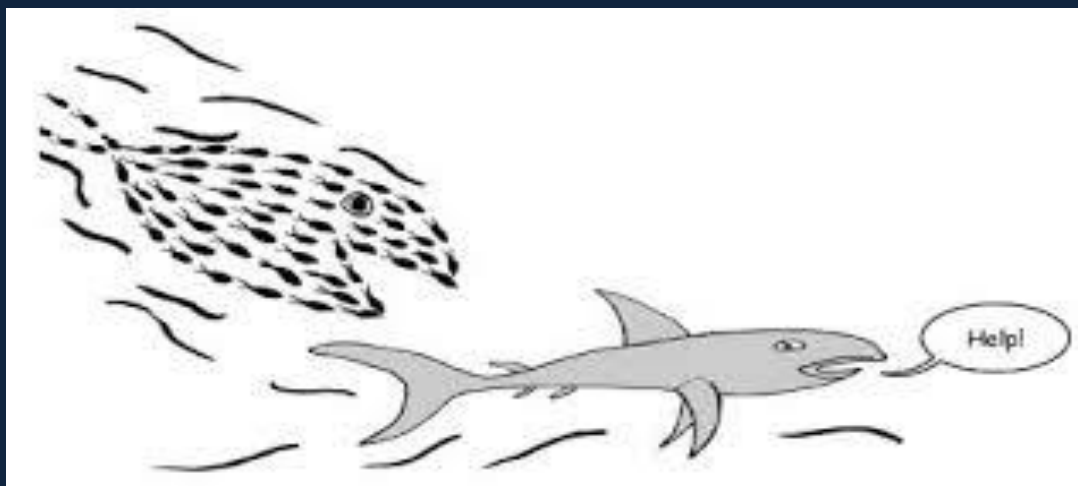
UROGENITAL PROBIOTICS

Potential role of *Lactobacillus* in the prevention of urogenital infections in women
Daniel Ronnqvist, dept. of Clinical Microbiology, Umea, Sweden (2007)

Scopo

Selezionare, identificare e caratterizzare un ceppo lattobacillare di origine genitale da utilizzare in trials clinici particolarmente in donne con infezioni urinarie ricorrenti e vaginosi batterica







**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE**

