Uloga D-manoze u profilaksi akutne upale mokraćnog mjehura

Kranjčec, Bojana

Doctoral thesis / Disertacija

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:330073

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-19**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

BOJANA KRANJČEC

ULOGA D-MANOZE U PROFILAKSI AKUTNE UPALE MOKRAĆNOG MJEHURA

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2012.

UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

BOJANA KRANJČEC

THE ROLE OF D-MANNOSE IN PROPHYLAXIS OF ACUTE BLADDER INFLAMMATION

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2012.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

BOJANA KRANJČEC

ULOGA D-MANOZE U PROFILAKSI AKUTNE UPALE MOKRAĆNOG MJEHURA

DOKTORSKI RAD

Mentor:
Prim.dr.sci. Silvio Altarac,
dr.med. znanstveni savjetnik

Zagreb, 2012.

Rad je predan na ocjenu Fakultetskom vijeću Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja akademskog stupnja doktora znanosti iz područja biomedicine i zdravstva, polje farmacija, grana medicinska biokemija.

Rad je izrađen u Odjelu za medicinsku biokemiju Opće bolnice Zabok.

Kratice korištene u tekstu

ISKRA	Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske
CFU	eng. *colony forming units*
IL-6	interleukin 6
cAMP	ciklički adenozin monofosfat
CDG-Ib	prirođeni poremećaj glikozilacije Ib
PMI	fosfomanoza-izomeraza
MPI	manozafosfat-izomeraza
HIV	humani imunodeficijentni virus
ER	endoplazmatski retikulum
IL-8	interleukin 8
UPIa	uroplakin Ia
BMI	indeks tjelesne mase (eng. *body mass index*)
CRP	C-reaktivni protein
AST	aspartat-aminotransferaza
ALT	alanin-aminotransferaza
AP	alkalna fosfataza
GGT	gama-glutamiltransferaza
SE	sedimentacija eritrocita
Lkc	leukociti
RV	referentne vrijednosti

Sadržaj:

1.Uvod **1**

1.1. Upale mokraćnog sustava 2

1.1.1. Akutna upala mokraćnog mjehura 4

1.1.2. Laboratorijska dijagnostika akutne upale mokraćnog mjehura 6

1.1.3. Liječenje akutne upale mokraćnog mjehura 9

1.1.4. Rekurentne upale mokraćnog mjehura 10

1.1.5. Liječenje rekurentne upale mokraćnog mjehura 11

1.1.6. Rezistencija uzročnika upala mokraćnog sustava na antibiotike 14

1.1.7. Popratne pojave kod primjene antibiotika 15

1.2. D-manoza 16

1.2.1. Kemijske osobine D-manoze 17

1.2.2. Izvori D-manoze 17

1.2.3. Dobivanje D-manoze 17

1.2.4. Upotreba D-manoze 18

1.2.5. Metabolizam D-manoze 18

1.2.6. Određivanje D-manoze 21

1.2.7. D-manoza u organizmu 21

1.2.8. Istraživanje uloge D-manoze u organizmu 22

1.2.9. Upotreba D-manoze u liječenju 23

1.3.Adhezija bakterija 26

1.3.1. Mehanizam obrane domaćina 27

1.3.2. Receptori na stanici domaćina 27

1.3.3. Adhezini bakterija 28

1.4. *Escherichia coli* 31

1.4.1. Fimbrije bakterije *Escherichia coli* 32

1.4.2. Vezno mjesto za D-manozu na FimH 33

1.5. Antiadhezijska terapija 35

1.5.1. Vrste antiadhezijske terapije 35

1.5.2. Ugljikohidrati kao antiadhezijska terapija 36

1.6. Pregled dosadašnjih istraživanja 38

1.7. Obrazloženje teme 41

2. Metode **43**
2.1. Ispitanici 44
2.2. Metode 45
2.3. Antibiotska terapija 46
2.4. Profilaktička terapija 47
2.5. Praćenje učinka profilaktičke terapije 60 dana 48
2.6. Određivanje koncentracije D-manoze u serumu i mokraći zdravih ispitanica 49
2.7. Određivanje koncentracije D-manoze u serumu i mokraći bolesnica koje uzimaju D-manozu 51
2.8. Određivanje hematoloških i biokemijskih parametara upale kod bolesnica koje uzimaju D-manozu 50
2.9. Statistička obrada podataka 51
3. Rezultati **52**
3.1. Rezultati profilaktičke terapije 53
3.2. Rezultati određivanja koncentracije D-manoze u serumu i mokraći zdravih ispitanica 85
3.3. Rezultati određivanja koncentracije D-manoze u serumu i mokraći bolesnica koje uzimaju D-manozu 91
3.4. Rezultati određivanja hematoloških i biokemijskih parametara upale kod bolesnica koje uzimaju D-manozu 95
4. Rasprava **96**
5. Zaključci **109**
6. Literatura **111**
7. Sažetak **130**
8. Summary **132**
9. Životopis **133**

1. Uvod

1.1. Upale mokraćnog sustava

Upale mokraćnog sustava heterogena su skupina kliničkih simptoma i bolesti koje se razlikuju po epidemiologiji, etiologiji, lokalizaciji, težini poremećaja općeg stanja, općim simptomima, izraženosti lokalnih simptoma, učestalosti javljanja, sklonosti recidiviranju, prisutnosti komplikacija, potrebnoj antimikrobnoj terapiji, ishodu i prognozi (1).

Upale mokraćnog sustava pripadaju među najčešće upalne bolesti kod čovjeka (2). „Upale mokraćnog sustava“ općenit je naziv za upale lokalizirane na bilo kojem dijelu mokraćnog sustava. Liječiti treba svaku potvrđenu upalu mokraćnog sustava jer u protivnom može rezultirati bubrežnom insuficijencijom, arterijskom hipertenzijom i kardiovaskularnom insuficijencijom (3).

Mokraćni sustav uključuje organe koji stvaraju i sakupljaju mokraću i izbacuju je iz tijela, održavaju ravnotežu vode i soli u organizmu te stvaraju hormone. Čine ga bubrezi koji filtriraju krv i otklanjaju otpadne produkte metabolizma, vodu i sol i tako stvaraju mokraću; mokraćovod (ureter); mokraćni mjehur koji pohranjuje i zatim izbacuje mokraću iz tijela i mokraćna cijev (uretra). Mokraćni je sustav u fiziološkim uvjetima sterilan, zaštićen od patogena tokom mokraće, sekretornim i tkivno-povezanim antibakterijskim faktorima te baktericidnom aktivnošću efektornih imunih stanica i agregirajućim učinkom mokraćnih mucina (4). Usprkos tome i unatoč sve većoj uporabi antibiotika, upale mokraćnog sustava općenito su veliki problem u populaciji. Upale nastaju kad mikroorganizmi, najčešće bakterije iz probavnog sustava, dospiju kroz mokraćnu cijev do mokraćnog mjehura i počnu se množiti (5).

Prema lokalizaciji, upale mokraćnog sustava dijele se na upale donjega mokraćnog sustava (uretritis, cistitis) i upale gornjega mokraćnog sustava (pijelonefritis). Klinička slika može biti sa simptomima ili bez njih pa se na osnovi toga dijele na simptomatske i asimptomatske upale.

Prema kliničkom tijeku, upale mokraćnog sustava dijele se na nekomplicirane i komplicirane. Čimbenici rizika za komplicirane upale mokraćnog sustava jesu: opstrukcija, funkcijski poremećaji, strana tijela, prisutnost drugih bolesti, trudnoća, starija životna dob, ženski spol, loše higijenske navike, izlaganje hladnoći te dijagnostički postupci (6).

Čimbenici koji pogoduju nastanku upale:

- smanjeni protok mokraće - opstrukcija normalnog toka mokraće (kamenci, tumori, povećanje prostate, suženje mokraćovoda i mokraćne cijevi, strana tijela), neurogeni

mjehur, anatomsko ili funkcionalno promijenjen mokraćni sustav (vezikoureteralni refluks, nepotpuno pražnjenje mjehura),

- podupiranje kolonizacije - spolna aktivnost, spermicidi, manjak estrogena, manjak normalne flore,
- olakšani uspon mikroorganizama - kateterizacija, inkontinencija mokraće i/ili fecesa, zaostala mokraća, ishemija mokraćnog mjehura,
- metaboličke i druge bolesti - šećerna bolest (kod koje dolazi do promijenjene glikozilacije proteina, a time i promjene statusa glikozilacije uroplakina 1a) (7), razna oštećenja bubrega, poremećaji u lokalnom i sustavnom imunom odgovoru, trudnoća, dijagnostički, terapijski ili operacijski zahvati na spolno-mokraćnom sustavu (8).

U svrhu boljeg pristupa liječenju i odabiru antimikrobne terapije, Interdisciplinarna sekcija za kontrolu rezistencije na antibiotike Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske (ISKRA), a u skladu s dokumentima američkih (9) i europskih udruženja (10), donijela je ISKRA smjernice pod nazivom „Hrvatske nacionalne smjernice antimikrobnog liječenja i profilakse infekcija mokraćnog sustava“ (1) po kojima se upale mokraćnog sustava dijele na:

1. akutne nekomplicirane upale donjeg dijela mokraćnog sustava žena u premenopauzi koje nisu trudne
2. akutni nekomplicirani pijelonefritis
3. komplicirane upale mokraćnog sustava i sve upale mokraćnog sustava muškaraca
4. asimptomatska bakteriurija
5. rekurentne upale mokraćnog sustava (nekomplicirane, bez predisponirajućih čimbenika).

Problem upala mokraćnog sustava obuhvaća sve dobne skupine, počevši s novorođenačkom dobi, gdje je češća kod dječaka u prva tri mjeseca, a kasnije je češća kod djevojčica. U odrasloj dobi prevalencija bakteriurije se povećava u ženskoj populaciji. Pojava upala u muškaraca mlađih od 50 godina mora biti poticaj za traženje eventualnih uroloških abnormalnosti i ispitivanje prostate. Češća je pojava upala kod trudnica. U starijoj životnoj dobi bakteriurija se javlja u oba spola podjednako, naročito kod žena sa šećernom bolesti i osoba s neurogenim mjehurom (8).

Upale mokraćnog sustava uzrokuju različite vrste mikroorganizama. Više od 95 % upala mokraćnog sustava uzrokovano je jednom vrstom bakterijskog uzročnika. Javljaju se kao rezultat uzajamnog djelovanja uzročnika i obrambenih mehanizama domaćina.

Tri su moguća puta kojima bakterije mogu prodrijeti i proširiti se unutar mokraćnog sustava: ascedentnim, hematogenim i limfogenim putem. Najznačajniji put nastanka je ascedentni, uzlazni: bakterije najprije koloniziraju mokraćnu cijev, a zatim pri različitim mehaničkim podražajima ulaze u mokraćni mjehur. Upale su 14 puta češće kod žena nego kod muškaraca jer je ženska mokraćna cijev kratka i usko povezana s perianalnom regijom, dok je kod muškaraca mokraćna cijev duža, a sekret prostate je baktericidan (6).

Najčešće upale mokraćnog sustava kod žena nastaju uzlaznom kolonizacijom crijevnih bakterija koje su dio fiziološke mikroflore iz donjega dijela mokraćne cijevi prema mokraćnom mjehuru, dovodeći tako do upalne reakcije mokraćne cijevi - uretritisa i sluznice mokraćnog mjehura - cistitisa. To su najčešće bolesti koje se zajedno nazivaju upalne bolesti donjega mokraćnog sustava, a kod žena, bez iznimke, postoje istodobno (11).

1.1.1. Akutna upala mokraćnog mjehura

Akutna upala mokraćnog mjehura (cistitis) očituje se naglim početkom, dizurijom - otežanim bolnim mokrenjem, polakisurijom - učestalim mokrenjem malih količina mokraće, urgencijom - potrebom žurnog, neodgodivog mokrenja, inkontinencijom i suprapubičnom osjetljivošću (12). Akutni nekomplicirani cistitis jedna je od najčešćih bakterijskih bolesti žena. Većina bolesnica je u dobi od 15 do 50 godina, odnosno u spolno najaktivnijoj dobi (13).

Svake godine oko 10 % žena ima cistitis i više od 50 % svih žena ima najmanje jednu upalu tijekom života. U Hrvatskoj je 2005. godine zabilježeno oko 250 000 posjeta liječniku zbog cistitisa (1). U SAD-u se godišnje javlja liječniku sa simptomima upale mokraćnog sustava oko 8 milijuna ljudi, od toga 2 milijuna zbog cistitisa s više od 25 % rekurentnih upala unutar 6 mjeseci (12). Godišnje se u svijetu pojavi 150 milijuna ljudi s akutnim upalama mokraćnog sustava (14).

Početak upale je obično nagao, a simptomi mogu varirati od lagano iritirajućih do jako bolnih, mogu biti različiti od žene do žene, traju kraće od 7 dana, a najčešći su: učestalo mokrenje, neugoda, pečenje i osjećaj pritiska pri mokrenju, otežano bolno mokrenje malih količina mokraće, česta, neugodna i neodgodiva potreba za mokrenjem, promjena boje i izgleda mokraće, neugodan miris i pojava krvi u mokraći. Kako se radi o površinskoj upali sluznice mokraćnog mjehura, tjelesna temperatura većinom je normalna, zimica i drhtavica najčešće nisu prisutni te većinom nema promjena u koncentraciji reaktanata akutne faze u krvi

(12). Zabilježen je samo porast u koncentraciji interleukina 6 u mokraći kod akutnog nekompliciranog cistitisa (15).

Najčešći uzročnik cistitisa kod žena u premenopauzi koje nisu trudne je bakterija *Escherichia coli* (u 80 do 90 % slučajeva). Ostali uzročnici jesu: *Enterococcus, Staphylococcus saprophyticus* (oko 10 % slučajeva) i u oko 5 % slučajeva *Klebsiella spp., Proteus mirabilis, Streptococcus agalactiaei,* spolno prenosivi mikroorganizmi: bakterije (*Chlamidia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Ureaplasma urealhyticum*), virusi (*Herpes simplex* virusi, adenovirusi), gljive (*Candida albicans*) i paraziti (*Trichomonas vaginalis*) (1).

Kriterij za dijagnostiku akutne nekomplicirane upale donjega dijela mokraćnog sustava kod žena koje nisu trudne temelji se na karakterističnim simptomima i laboratorijskim pretragama testa leukocitne esteraze i testa nitrita pomoću test-trake. Bakteriološku kulturu mokraće nije potrebno određivati kod zdravih mlađih žena sa sporadičnim nekompliciranim cistitisom, budući da je uzročnik lako predvidiv (1).

Bakteriurija je naziv za prisutnost živih bakterija u mokraći. Značajna bakteriurija je naziv za broj kolonija po 1 mL mokraće kojim se želi razgraničiti značajna, patološka bakteriurija, kao znak upale mokraćnog sustava, od kontaminacije mokraće prolaskom kroz distalni dio mokraćne cijevi.

Kod žena s jasnim simptomima nekompliciranog cistitisa, nalaz od $\geq 10^3$ bakterija po mL čistog srednjeg mlaza mokraće, smatra se granicom za značajnu bakteriuriju uz osjetljivost testa oko 80 % i specifičnost testa oko 90 % za upale uzrokovane Gram-negativnim bakterijama. Za upale uzrokovane stafilokokima i koliformnim bakterijama, granica za značajnu bakteriuriju je $\geq 10^2$, a za ostale bakterije $\geq 10^5$. Uz to je za dijagnozu simptomatske upale mokraćnog mjehura potrebno dokazati i leukocituriju (prisutnost leukocita u mokraći).

Tradicionalni kriteriji za značajnu bakteriuriju od $\geq 10^5$ bakterija po 1 mL mokraće je napušten jer se pokazalo da samo 50 % žena s cistitisom ima $\geq 10^5$ bakterija po 1 mL mokraće. Razloga za pojavu manjeg broja bakterija ima više:

- rana faza upale u kojoj bakterije ne stignu stvoriti dovoljan broj kolonija,
- učestalo mokrenje i mali broj bakterija u 1 mL mokraće,
- spori rast nekih bakterija (1).

Prisutnost više vrsta bakterija u kulturi mokraće obično znači kontaminaciju uzorka. Najčešći uzročnici kontaminacije uzorka su: *Lactobacillus spp., Corynebacteriae spp.,* α-hemolitički streptokok, *Difteroides spp.,* S*tafilococcus epidermidis* koji su dio normalne flore

perineuma i distalne mokraćne cijevi. Gram-negativne bakterije, kao najčešći uzročnici upala mokraćnog sustava, normalni su stanovnici crijeva. Migriraju iz anusa do mokraćne cijevi koju koloniziraju, a kod žena prvo koloniziraju ulaz rodnice (introitus) i periuretralno područje. Rizični faktori za cistitise u žena su česti spolni odnosi, primjena raznih lokalnih ili hormonskih kontracepcijskih sredstava, pad kiselosti, tj. porast pH u spolno-mokraćnom sustavu, odgađanje mokrenja i prethodne rekurentne upale (16,17).

Za kliničku praksu i liječenje važno je odrediti učestalost upala: prva upala, pojedinačna upala, rekurentna upala, relaps, reinfekcija. Da bi bolesnica ušla u skupinu žena s rekurentnim cistitisom, mora ga imati najmanje 2 puta u posljednjih 6 mjeseci ili najmanje 3 puta u posljednjih godinu dana. Relapsom se smatra upala u kojem je bakteriurija uzrokovana istim uzročnikom, a javlja se najčešće unutar 2 tjedna od završenog liječenja i znak je zadržavanja mikroorganizama u mokraćnom sustavu. Reinfektom se smatra nova upala uzrokovana novim uzročnikom (18).

Opće preporuke za terapijski pristup svim kategorijama upala mokraćnog sustava:

- Svi bolesnici trebaju biti dobro hidrirani, mirovati, uzimati analgetike, a po potrebi i antipiretike.
- Empirijsku terapiju treba uskladiti s antibiogramom čim su nalazi mikrobiološke kulture mokraće dostupni; antibiotsko liječenje treba uključivati onaj antibiotik koji ima najuži spektar i učinkovito djeluje na dokazanog uzročnika (1).

1.1.2. Laboratorijska dijagnostika akutne upale mokraćnog mjehura

Uzorak mokraće za biokemijsko i mikrobiološko testiranje uzima se nakon što bolesnik nije mokrio barem 3 sata, a optimalan je prvi jutarnji uzorak mokraće jer je najkoncentriraniji i ima dovoljno vremena da se bakterije u mokraćnom mjehuru razviju. Uzorak se uzima metodom čistog srednjeg mlaza, nakon toalete vanjskog spolovila sterilnom fiziološkom otopinom bez dezinficijensa, u čistu sterilnu posudu. Rjeđe se uzima uzorak mokraće urinarnim kateterom ili suprapubičnom punkcijom.

Dijagnostika akutnog nekompliciranog cistitisa postavlja se na temelju karakterističnih simptoma i pozitivne leukocitne esteraze i/ili pozitivnih nitrita na test-traci za analizu mokraće. To su brzi testovi za dokazivanje leukociturije i bakteriurije. Traka se uranja

u mokraću te očitava nakon točno određenog vremena pomoću čitača test-trake metodom reflektometrije, a rezultat se izražava arbitrarnim jedinicama od 0 do 3+ (19).

Iako nalaz leukociturije govori u prilog dijagnozi upale mokraćnog mjehura, prisutnost leukocita u mokraći povezana je i s neupalnim bolestima bubrega. Leukociti na test-traci se detektiraju na bazi aktivnosti enzima esteraze (iz neutrofilnih granulocita i makrofaga) koja dolazi iz liziranih stanica na test jastučić. Test ne detektira limfocite. Osjetljivost testa leukocitne esteraze je 80-90 %, a specifičnost testa 80-90 %. Lažno pozitivni rezultati mogu se dobiti zbog prisutnosti: oksidacijskih deterdženata, formaldehida, natrijeva azida, obojenih urina; a lažno negativni rezultati zbog prisutnosti: vitamina C, proteina u kocentraciji višoj od 5 g/L, glukoze u koncentraciji višoj od 20 g/L, sluzavih uzoraka, oksalacetata, borne kiseline, cefalosporina, nitrofurantoina. Pozitivan nalaz odgovara nalazu od 8 do 10 leukocita u svakom vidnom polju (x 400) standardiziranog sedimenta mokraće.

Test nitrita je probirni test za dokazivanje bakteriurije. Određivanje nitrita test-trakom bazira se na aktivnosti enzima nitrat reduktaze koji je prisutan u Gram-negativnih mikroorganizama, dok ga neki mikroorganizmi nemaju pa ne reduciraju nitrate (npr. *Enterococcus spp., Staphylococcus spp.*) i test je negativan. Lažno pozitivan rezultat moguće je dobiti ako su prisutni nitrati iz hrane (npr. povrće), kod obojenih mokraća i rasta bakterija *in vitro*, a lažno negativni rezultati ako nema povrća u prehrani, ako je kratko vrijeme inkubacije u mjehuru ili je prisutan vitamin C. Određivanje bakteriurije test-trakom ima osjetljivost 20-80 %, a specifičnost >90 % (19,20.21).

Hematurija je prisutna kod 40 do 60 % upala mokraćnog mjehura, a može se pojaviti i proteinurija i cilindriurija (20).

Standardizirani sediment mokraće dobiva se nakon što se 5-15 mL mokraće centrifugira u epruvetama s konusnim dnom određenog volumena u centrifugi brzinom okretaja od 400 x g kroz 5 min. Resuspendirani sediment mokraće stavlja se na predmetno staklo, pokriva pokrovnicom i promatra pod mikroskopom. Nalaz se izražava kao prosjek nađenog broja elemenata po vidnom polju. Nalaz od 5 do 10 leukocita u vidnom polju pod velikim povećanjem mikroskopa (x 400) smatra se gornjom granicom normalnog nalaza u mokraći zdravih osoba. Kako se ta metoda ne smatra dovoljno preciznom jer ovisi o količini centrifugirane mokraće i količini supernatanta, a centrifugiranjem se i gubi dio stanica, preporuča se koristiti metodu brojanja leukocita u komorici, u necentrifugiranoj mokraći, gdje nalaz više od 10 leukocita u mm^3 predstavlja patološki nalaz. Kako je ta metoda dugotrajna i nije pogodna za veliki broj uzoraka, ne upotrebljava se često u praksi (19).

Povećan broj leukocita u mokraći obično je znak upale mokraćnog sustava, no može biti i odraz nekih drugih čimbenika kao što su: prisutnost katetera, kamenci, vulvovaginitis, erozija sluznice ili dehidracija.

Akutna nekomplicirana upala mokraćnog mjehura najčešće nije povezana s porastom koncentracije proteina akutne faze i s porastom koncentracije citokina u krvi (22).

Interleukin 6 (IL-6) je 26-kDa glikoprotein koje se oslobađa iz T- i B-limfocita, makrofaga, fibroblasta, endotelnih i epitelnih stanica. To je proupalni citokin s mnogim biološkim funkcijama, a stvara se u različitim tkivima i izlučuje u tjelesne tekućine kao odgovor na upalu. Određivanje koncentracije IL-6 u mokraći pokazalo se kao koristan biljeg u razlikovanju upale gornjega i doljnjega dijela mokraćnog sustava sa značajno višim vrijednostima kod pacijenta s akutnim pijelonefritisom kada dolazi i do porasta koncentracije IL-6 u krvi (23). Vrijednosti ne ovise o dobi i spolu (24), a smatra se da je IL-6 primarni citokin koji se stvara lokalno u uroepitelu nakon izlaganja bakterijskim faktorima virulencije (25). Osim IL-6, kod kompliciranih upala mokraćnog sustava javljaju se i povećane koncentracije interleukina 8, interleukina 1 i faktora nekroze tumora-α (TNF-α) (26).

Za određivanje bakteriurije od osobite je važnosti ispravno uzimanje uzorka mokraće. Najbolja je metoda kultivacija ispravno uzetog uzorka mokraće na hranjive podloge, brojanje bakterija u 1 mL mokraće i ispitivanje njihove osjetljivosti na razna antimikrobna sredstva (antibiogram). U 95 % uzoraka mokraće s upalama mokraćnog sustava izolira se samo jedna vrsta bakterije, a u 5 % izoliraju se dvije ili više vrsta bakterija. Distalni dio mokraćne cijevi koloniziran je saprofitnom florom susjednih regija te uzorak izmokrene mokraće može biti kontaminiran tim mikroorganizmima. Kultura mokraće kod akutnog nekompliciranog cistitisa nije uvijek potrebna jer je terapija često gotova prije nego se znaju rezultati kulture, a uzročnik upale je predvidiv. Lažno pozitivni rezultati kulture mogu se dobiti ako se uzorak mokraće ne obradi odmah nakon uzimanja (unutar 2 sata) ili se ne pohrani 24 sata na +4°C (19). Uzorci mokraće inokuliraju se na CLED agar (eng. *Cystine lactose electrolyte deficient*), podlogu za rast i izolaciju prvenstveno patogena iz mokraće. Porasle bakterjske kolonije izražavaju se količinski kao CFU/mL (eng. *colony forming units*) ili po SI sustavu kao CFB/L (eng. *colony forming bacteria*) (1 CFU/ml = 10^3 CFB/L). Identifikacija kolonija radi se bojenjem po Gramu, testovima fermentacije šećera, utilizacijom citrata, ureaza-testom, oksidaza- testom, katalaza-testom. Antimikrobna osjetljivost ispituje se standardnom difuzijskom metodom Kirby-Bauer disk na Mueller Hinton agaru (27,28).

Mogući uzroci niske koncentracije bakterija u uzorku mogu biti: rani stadij upale, povećani volumen mokraće, kratka inkubacija mokraće u mjehuru i uzimanje antibiotika. Najčešća pogreška kod bakterioloških kultura je kontaminacija zbog nepravilno sakupljene mokraće (19).

Po preporuci grupe ISKRA dovoljan kriterij za dijagnostiku akutnog nekompliciranog cistitisa je prisutnost kliničkih simptoma i prisutna leukociturija (>10 leukocita/mm^3) (1).

Kod žena s nedavnim početkom simptoma i znakova koji upućuju na akutni cistitis i kod kojih čimbenici nisu povezani s upalom gornjih dijelova mokraćnog sustava ili su komplikacije upale odsutne, analiza mokraće koja je pozitivna za leukocite, bakterije i eritrocite ili njihova kombinacija, može osigurati dovoljno podataka za liječnika i bakteriološka kultura mokraće se može izostaviti (29).

1.1.3. Liječenje akutne upale mokraćnog mjehura

Antimikrobno liječenje akutnog nekompliciranog cistitisa započinje kao empirijska antimikrobna terapija pa se prema nalazu kulture mokraće po potrebi mijenja ili se nadopunjava.

Cilj liječenja je nestanak kliničkih simptoma i potpuno uništenje uzročnika upale u svrhu prevencije recidiva, što znači sterilna kultura mokraće. Potrebno je liječiti primjenom najmanje toksičnog i ujedno najjeftinijeg antimikrobnog lijeka u adekvatnoj dozi i u dovoljno dugom razdoblju za nestanak upale. Antimikrobni spektar primijenjenog lijeka mora pokrivati spektar dokazanog ili očekivanog uzročnika i što manje poremetiti normalnu crijevnu floru. Idealni antimikrobni lijek za liječenje cistitisa morao bi imati primarni put izlučivanja preko mokraćnog sustava kako bi se postigla visoka razina lijeka u mokraći (30). Po preporuci grupe ISKRA, za liječenje akutne nekomplicirane upale donjega dijela mokraćnog sustava žena koje nisu trudne, prvi je izbor lijek nitrofurantoin 2x100 mg tijekom 7 dana, a alternativa su: koamoksiklav 2x1 g tijekom 7 dana; cefaleksin 2x1 g tijekom 7 dana; norfloksacin 2x400 mg tijekom 3 dana (1). Povoljan učinak te terapije je 81 do 98 % (9). Preporuča se i kraća, trodnevna terapija zbog istog učinka, a s manje popratnih pojava (31,32).

Smatra se da je izlječenje postignuto ako su uz nestanak kliničkih simptoma svi nalazi mokraće nakon početka terapije sterilni. Rezultat provedene antimikrobne terapije može biti: izlječenje, perzistencija uzročnika, relaps i reinfekcija.

Djelotvornost provedene antimikrobne terapije upala mokraćnog mjehura može se objektivno procijeniti praćenjem bakterioloških kultura mokraće.

90 % žena je asimptomatsko unutar 72 sata nakon početka antibiotske terapije i nije potrebno daljnje praćenje ni kultura mokraće kod žena mlađih od 50 godina. Praćenje i kultura mokraće potrebno je kod starijih žena koje su potencijalno rizična skupina.

Bakteriološka kultura mokraće određuje se: prije početka antibiotske terapije, 48 sati nakon početka terapije, 48-72 sata nakon završetka terapije (često se dobe lažno negativni rezultati pa je ta kontrola izgubila na značenju); 5-9 dana nakon završetka terapije i 4–6 tjedana nakon završetka terapije.

Ako se u mokraći uzetoj 48-72 sata nakon antibiotske terapije dokaže bakteriurija, radi se o perzistenciji. Ona se može očekivati kao perzistencija značajne bakteriurije u identičnom broju koji je bio i prije terapije ili kao perzistencija bakteriurije u nižem broju.

Ako se u mokraći uzetoj 48-72 sata nakon započete antibiotske terapije dokaže bakteriurija u istom broju, razlog tome može biti: neodgovarajuća terapija, preniska doza lijeka, neredovito uzimanje lijeka, loša crijevna resorpcija, slabo bubrežno izlučivanje lijeka zbog bubrežne insuficijencije ili rezistencija uzročnika na lijek.

Ako se u mokraći uzetoj 48-72 sata nakon započete antibiotske terapije dokaže niži broj bakterija, moguće je da je došlo do kontaminacije iz mokraćne cijevi ili vagine ili se radi o perzistenciji upale u spolno-mokraćnom sustavu.

Ponovna pojava upale unutar 1-2 tjedna nakon završene antibiotske terapije znak je zadržavanja mikroorganizma u mokraćnom sustavu (u parenhimu bubrega, kamencima, prostati, mokraćnom mjehuru) (33).

1.1.4. Rekurentne upale mokraćnog mjehura

Rekurentne upale mokraćnog sustava su one upale koje se javljaju 2 ili više puta u posljednjih 6 mjeseci odnosno 3 ili više puta u posljednjih godinu dana. Rekurentne upale su češće kao reinfekcije izazvane drugom bakterijskom vrstom, a rjeđe relapsi koji su uzrokovani identičnim uzročnikom kao i prije provedene terapije. Relapsi se javljaju često već unutar 2 tjedna nakon završene terapije. Većina upala uzrokovana drugom bakterijskom vrstom nastane nakon više od 2 tjedna, a unutar 3 mjeseca nakon završene terapije inicijalne upale. Izvor za reinfekciju je najčešće vlastita fekalna flora.

Kod 20-30 % žena s upalama mokraćnog sustava, upala će biti rekurentna, tj. povratna. Predispozicija za rekurentne upale mokraćnog sustava može se djelomično pripisati i nasljednoj sklonosti ako majka češće obolijeva, ranom pojavljivanju prve upale (prije 15. godine života), a djelomično ovisi i o rizičnom ponašanju, upotrebi spermicida i učestalosti spolnih odnosa (34).

Rekurentne upale mokraćnog sustava su uzrokovane bakterijskim zaostajanjem unutar epitelnih stanica mokraćnog mjehura (35).

Najčešće je bakterija povezana s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura fenotipski ili genotipski identična bakterijskom soju koji je uzrokovao inicijalnu upalu (36).

Uropatogena bakterija *Escherichia coli* ima sposobnost prodora u epitel mokraćnog mjehura i stvaranja unutarstaničnih bakterijskih zajednica, brzog umnažanja u velike agregate nalik biofilmu koji sadrže 10^4 do 10^5 bakterija, gdje nalazi zaštitu od utjecaja antibiotika i imunogenih faktora te pražnjenja mjehura (37). Te unutarstanične zajednice doprinose ponovnim kroničnim i rekurentnim upalama (3).

Prelazak bakterija iz kolona i vagine nije nužno razlog za rekurentnu upalu. U 70 % slučajeva rekurentnih upala mokraćnog mjehura, radi se o istovjetnom primarnom soju bakterije *Escherichia coli*. Dokazano je da kod žena sa simptomima rekurentne upale mokraćnog mjehura 24 % njih ima pozitivne bakterijske kulture iz bioptata sluznice mokraćnog mjehura unatoč nalazu sterilne kulture mokraće, što govori u prilog da mokraćni mjehur može biti izvor rekurentne upale (38).

1.1.5. Liječenje rekurentne upale mokraćnog mjehura

Epizode rekurentne upale mokraćnog mjehura treba liječiti jednako kao i sporadične epizode upale. U obzir treba uzeti rezultate mikrobiološke pretrage prethodnih epizoda upale, prethodno dokazanih uzročnika i njihovoj osjetljivosti. Bakteriološku kulturu mokraće treba napraviti prije započetog liječenja. Profilaktička antimikrobna terapija je prevencija rekurentnih upala mokraćnog sustava primjenom antimikrobnih lijekova. Ova terapija se određuje prema nalazu antimikrobne osjetljivosti izoliranih uzročnika iz mokraće i provodi se 6 mjeseci ili duže. Kultura mokraće se kontrolira najmanje jedanput mjesečno (39).

Laboratorijska dijagnostika rekurentne upale je prisustvo ≥ 10 leukocita u mm^3 mokraće i $\geq 10^3$ bakterija po mL mokraće (1).

Kod nekih žena, akutne faze pogoršanja upala mokraćnog mjehura su tako učestale da narušavaju normalan svakodnevni život pa se u takvim slučajevima mora uvesti profilaksa upala mokraćnog mjehura. Bolesnice, kod kojih je potrebna profilaksa, ne smiju imati znakove ni simptome akutne upale u času započinjanja profilakse (40).

Bolesnicama s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura preporuča se jedna od slijedećih profilaksa:

1. samoinicijativno liječenje antibioticima preporučuje se u trajanju od 3 do 7 dana prema nalazu prethodne kulture mokraće i uspjehu izlječenja prethodne upale (za one koji su imali ≤2 epizode nekomplicirane upale mokraćnog mjehura u posljednjih godinu dana);
2. profilaktičko uzimanje antibiotika nakon spolnog odnosa ako je pojava simptoma povezana s tim čimbenikom;
3. kontinuirano uzimanje profilaktičke doze antibiotika svaku večer ili 3 puta na tjedan, u trajanju od 6 mjeseci ili duže u količini od jedne četvrtine ili jedne polovine terapijske doze (nitrofurantoin ili trimetoprim/sulfmetoksazol ili cefaleksin ili iznimno flourokinoloni). Nitrofurantoin je odabran kao lijek izbora jer je *Escherichia coli* još uvijek visoko osjetljiva na ovaj antibiotik (97 % u Hrvatskoj) i rezistencija na taj lijek se sporo razvija usprkos dugom razdoblju njegove kliničke primjene (1,33,41);
4. alternativna profilaksa (42) :
   - Uzimanje proizvoda od brusnice koja sadrži proantocijanide koji inhibiraju adheziju P-fimbrija bakterije *Escherichia coli* i fruktozu za koju se smatra da inhibira tip 1 fimbrije bakterije *Escherichia coli* (43-50). Postoje dokazi koji podupiru učinkovitost tih proizvoda u sprečavanju rekurentnih upala mokraćnog mjehura. Randomizirana studija niskorizičnih pacijenata je pokazala da 200-750 mL dnevno pripravka brusnice (sok ili tablete) reducira rizik simptomatske rekurentne upale mokraćnog mjehura za 12-20 %. Ostali pokusi nisu pokazali poboljšanje i nisu dali dokaze da je brusnica efikasna za tretman upala mokraćnog mjehura (46,48);
   - Intravaginalna primjena estrogena koji ima važnu ulogu u održavanju normalne vaginalne flore i smanjenju učestalosti povratka upale kod žena u postmenopauzi. Postoje istraživanja koja daju proturječne rezultate, a dolazi i u pitanje sigurnost dugotrajne upotrebe estrogena pa se zato često ne preporučuje (1);
   - Intravaginalna primjena suspenzije bakterija *Lactobacillus spp.* - smatra se da primjena intravaginalnih pripravaka *Lactobacillus spp.*, koji obnavljaju fiziološku

floru vagine, smanjuje kolonizaciju tog područja drugima bakterijama; učinkovitost toga još se ispituje (1);

- Genetski modificirani avirulentni soj bakterije *Escerichia coli* za koji se smatra da potiče imuni odgovor domaćina (51);
- Primjena probiotika (52);
- Uzimanje vitamina C (53);
- Uzimanje L-metionina (54);
- Akupunktura (55);
- Uzimanje vitamina A (56);
- Imunoaktivna profilaksa s oralnim imunostimulansima (57);
- Promjena pH mokraće uz primjenu različitih biljnih preparata ili sode bikarbone;
- Primjena cjepiva - antitijela protiv fimbrija bakterija (58);
- Uzimanje preparata koji povećavaju unutarstanični cAMP kao što je forskolin, a time dovodi do smanjenja broja unutarstaničnih bakterija uzrokujući egzocitozu (59).
- Uzimanje puno tekućine;
- Mokrenje svakih 2 do 4 sata i nakon spolnog odnosa;
- Tuširanje, a ne namakanje u kadi;
- Pravilna higijena urogenitalnog područja;
- Izbjegavanje uske odjeće (50).

Dugotrajno profilaktičko uzimanje antibiotika, dnevno ili nakon spolnog odnosa, pokazalo se uspješnim u smanjenju kliničkih povratka upala mokraćnog mjehura u usporedbi s placebom (39).

Smanjenje broja reinfekcija zbog profilakse smanjila se od 2 do 3 reinfekcije po pacijentu godišnje na 0,1 do 0,4 po pacijentu godišnje uz profilaksu u trajanju od 6 do 12 mjeseci primjenom nitrofurantoina od 50 do 100 mg jednom dnevno ili svaku drugu večer (33).

Međutim, treba uzeti u obzir česte popratne pojave zbog dugotrajne primjene antibiotika. Čim se profilaksa prestane uzimati, većina žena ponovno postaje podložna upali. Također je značajan rizik od selekcije rezistentnih mikroorganizama (60,61).

1.1.6. Rezistencija uzročnika upala mokraćnog sustava na antibiotike

Odabir antibiotika za empirijsko liječenje spolno-mokraćnih upala nekada je bio jednostavan jer su najčešći uzročnici bili dobro poznati i imali predvidivu osjetljivost na antibiotike, no zbog velike i učestale iracionalne upotrebe antibiotika, danas se razvila značajna rezistencija među velikim brojem patogena mokraćnog sustava.

S obzirom na sve veću rezistenciju bakterija na antimikrobne lijekove, jasno je da neantimikrobna profilaksa upala mokraćnog mjehura postaje sve važnija (62).

Produžena terapija niskim dozama antibiotika vrlo vjerojatno selektira rezistentne bakterije i zato se sve više potiče primjena alternativnih oblika profilakse (42).

U budućnosti bi se liječenje trebalo zasnivati na tvarima koje bi prekrile receptore na stanicama domaćina i tvarima koje se mogu kompetitivno vezati na bakterijsku površinu što smanjuje vezanje bakterije na sluznicu, na razvoju topljivih ugljikohidratnih inhibitora bakterijske adhezije na sluznicu mokraćnog mjehura, razvoju cjepiva koja bi smanjila rizik rekurentne upale te imunostimulacijom s bakterijskim ekstraktima (39).

Prethodna upotreba antibiotika jasni je rizični čimbenik za stjecanje upala mokraćnog sustava rezistentnim uzročnikom. Prethodna hospitalizacija, upotreba kortikosteroida, šećerna bolest, kronična neurološka ili urološka bolest, boravak u domovima za stare i nemoćne osobe, boravak u regijama s visokom učestalošću rezistentnih sojeva, daljnji su rizični čimbenici za stjecanje upale multirezistentnim sojevima.

Razvoju rezistencije na antibiotike posebno pogoduje dugotrajno davanje niskih doza antibiotika te zato preporučuje da treba trošiti antibiotsku terapiju u najkraćem trajanju koje još postiže povoljan terapijski učinak (63). Rezistencija se sve više razvija možda i zbog upotrebe antibiotika kao promotora rasta u hrani životinja (64).

Rezistencija bakterije *Escherichia coli*, najčešćeg uzročnika upala mokraćnog sustava, na najčešće primjenjivane antibiotike u Hrvatskoj 2006. godine je najveća za amoksicilin 52%, trimetoprim-sulfmetoksazol 24 %, cefaleksin 8 %, norflokacin 10 % i ciprofloksacin 10 % (1,65).

Escherichia coli je razvila nove mehanizme rezistencije prema β-laktamima i fluorokonolonima - antibioticima koji se uobičajeno upotrebljavaju kod upala mokraćnih puteva (64,65).

Bakterije imaju razvijene mehanizme genetske prilagodbe i posljedica uporabe antibiotika jest uvijek brži ili sporiji razvoj rezistencije. Zbog porasta rezistencije bakterija na antibiotike neophodno je stalno praćenje i poznavanje stope rezistencije za pojedine patogene u vlastitoj sredini. Ukoliko je rezistencija na određeni antibiotik viša od 20 %, taj antibiotik ne treba propisivati u empirijskom antimikrobnom liječenju (65).

1.1.7. Popratne pojave kod primjene antibiotika

Popratne pojave kod uzimanja antibiotika mogu biti kardiovaskularni poremećaji, poremećaji živčanog i probavnog sustava te poremećaji u funkciji mišića, bubrega, pluća, kože i imunološkog sustava. Isto tako, mogu nastati gljivične infekcije, najčešće uzrokovane gljivama *Candida albicans*, vaskulitisi i alergije. Antibiotik ubija oportunističke mikroorganizme kao i korisne bakterije koje u tijelu imaju važne funkcije (neke proizvode folnu kiselinu i vitamin K). Bitno je naglasiti pojavu različitih oblika reakcija preosjetljivosti i moguću toksičnost antibiotika za neke organe i tkiva. Najvažnija moguća popratna pojava je sigurno razvoj bakterijskih vrsta rezistentnih na taj antibiotik. Neracionalna potrošnja skupih lijekova, davanje prevelike ili, češće, premale doze antibiotika ili predugo ili, češće, prekratko korištenje antibiotika pogoduju razvoju rezistentnosti bakterijskih vrsta na antimikrobna sredstva. Odabiranje neprikladnog puta aplikacije lijeka zbog slabije apsorpcije ili neurednog uzimanja te nesvrsishodna i nelogična kombinacija antimikrobnih lijekova stvaraju veliki problem u liječenju. Sve su to razlozi traženja novih antimikrobnih lijekova s manje štetnih djelovanja i boljim farmakodinamskim i farmakokinetičkim svojstvima (33,63,64).

Zbog kronične prirode upale mokraćnog mjehura i moguće antibiotske rezistencije mikroorganizama, sve više se potiče prirodni pristup u prevenciji i tretmanu upala (66).

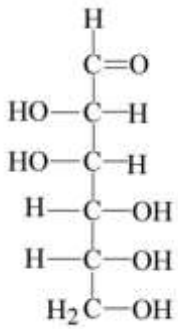
1.2. D-manoza

D-manoza je ugljikohidrat, monosaharid, aldoheksoza, molekularne formule $C_6H_{12}O_6$.

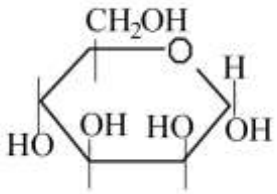
D-manoza je iste molekularne formule kao i D-glukoza od koje se razlikuje u orijentaciji hidroksilne skupine na drugom ugljikovom atomu što uzrokuje značajne biokemijske razlike. D-glukoza i D-manoza su epimeri, tj. dijastereoizomeri koji se međusobno razlikuju u konfiguraciji samo jednog kiralnog centra. U organizmu se nalaze većinom monosaharidi D-reda (67).

Konfiguraciju D-manoze ustanovio je 1884. godine njemački kemičar Emil Fischer (1852.-1919.) koji je utvrdio razliku između D-glukoze i D-manoze njihovom oksidacijom uz nitratnu kiselinu. Time nastaju dvije različite optički aktivne aldarne kiseline (glutarna iz D-glukoze i manarna kiselina iz D-manoze) (67).

D-manoza se naziva i dekstra manoza, karubinoza, seminoza, D-manopiranoza. Naziv D-manoza i manitol dolazi od riječi „mana“ (hebr. *manhd*) - čudotvorna hrana koja se spominje u Bibliji (68), a radi se o osušenom slatkom soku koji curi iz zarezane kore crnog jasena (*Fraxinus ornus*).



Slika 1. Fischerova projekcijska formula D-manoze (iz 69)



Slika 2. Haworthova perspektivna formula D-manoze (iz 69)

1.2.1. Kemijske osobine D-manoze

D-manoza dolazi u obliku bijelog kristaliničnog praha topljivog u vodi, molekularne težine 180,16 g/mol. Točka tališta je na 132°C. Postoji α- i β-oblik D-manoze koji se razlikuju po okusu. α-D-manoza je po okusu slatki šećer, dok β-D-manoza ima gorak okus. Čista otopina α-D-manoze slatki okus gubi stajanjem jer se pretvara u β-anomer, rotacijom oko ugljikovog atoma 1 i 2 i time nastaje smjesa anomera (70).

1.2.2. Izvori D-manoze

D-manoza je glavna ugljikohidratna komponenta polisaharida tzv. „manan“ tipa koji uključuju 1,4-β-D-manane, D-galakoto-D-manane, D-gluko-D-manane i D-galakto-D-gluko-D-manane. Navedeni heteropolisaharidi služe biljkama kao izvor energije. Slobodna D-manoza prisutna je u biljkama u malim količinama. Nalazi se u voću kao što su brusnice, borovnice, kruške, jabuke, naranče, ananas; povrću kao što su mahunarke, kukuruz, krumpir, kupus te drveću kao što je breza, palma, bukva, crni jasen. Neke biljke sadrže β-manane, ali oni nisu probavljivi (71).

1.2.3. Dobivanje D-manoze

D-manoza se dobiva kemijskim putem ili izolacijom iz biljaka. Kemijskim putem se dobiva najčešće izomerizacijom glukoze metodom Lobry-de-Bruyn-van Ekenstein - bazom katalizirana aldoza ketoza izomerizacija (72) ili Bilik reakcijom uz molibdat kao katalizator na ion-izmjenjivačkoj smoli (73), izomerizacijom D-fruktoze uz D-manoza izomerazu (74) ili uz D-liksoza izomerazu (75), oksidacijom manitola $C_6H_8(OH)_6$ - polialkohola prisutnog u mani i u smeđim algama (76), sintezom iz 4-metoksifenil-α-manopiranozida (77) i cijanohidrin sintezom iz D-arabinoze (67). D-manoza se može dobiti izolacijom iz biljaka: kiselinskom i enzimskom izolacijom iz sjemenki guara i biljke *Amorphophallus konjac* (78), enzimskom izolacijom iz koštica kokosa (79), hidrolizom iz ostataka kod ekstrakcije kave (80) te izolacijom iz palminih koštica (81).

1.2.4. Upotreba D-manoze

D-manoza se upotrebljava u prehrambenoj industriji i proizvodnji umjetnih sladila, proizvodnji životinjske hrane kao aditiv za prevenciju infekcija, naročito *Salmonelle spp.* (81), zajedno s glukozaminima u lijekovima za zaštitu zglobova, u proizvodnji antibiotika i proizvodnji cjepiva (82), u mikrobiologiji za pripremu hranjivih podloga, u veterinarskoj medicini za liječenje upala spolno-mokraćnog sustava konja (83) i kao kontraceptiv jer inhibira adheziju spermija na jajašce (84), kao inhibitor glikolize zajedno s NaF u epruvetama za uzorkovanje krvi (85) te u liječenju prirođenog poremećaja glikozilacije CDG-Ib (86).

1.2.5. Metabolizam D-manoze

Glikokonjugati je zajednički naziv za glikoproteine, glikolipide, proteoglikane i membranska sidra glikozilfosfatidil-inozitola, a oni predstavljaju najraširenije i najraznolikije biopolomere prisutne u organizmu. Glikokonjugati imaju važnu ulogu u brojnim fiziološkim procesima kao što su stanično prepoznavanje, regulacija ekspresije gena, usmjeravanje proteina unutar stanica, interakcije receptor-ligand, kontrola imunog sustava, oplodnja, embrionalni razvoj i diferencijacija tkiva. Nastaju procesom glikozilacije, najznačajnije posttranslacijske modifikacije proteina koja značajno utječe na njihovu strukturu i funkciju. Taj enzimski proces vezanja ugljikohidrata na proteine i druge organske molekule, stvara jedne od osnovnih biopolomera stanica (87).

D-manoza je važan metabolički posrednik u glikozilaciji većine strukturnih i sekretornih glikoproteina i glikolipida. Smatra se da je D-manoza esencijalni monosaharid u strukturi glikoproteina. D-manoza sudjeluje u N-tipu glikozilacije, O-manozilaciji, fosfo-serin glikozilaciji i C-manozilaciji (88).

Ugljikohidrati se u organizam unose hranom i služe kao glavni izvor energije. Apsorpcija monosaharida u jejunumu i ileumu, a manje u kolonu, u mukoznim stanicama crijevnih resica, gdje je smješten prijenosni sustav koji omogućuje ulaz glukoze i ostalih monosaharida u stanice uz istovremeni prijenos Na^+-iona, odvija se različitom brzinom. Najbrže se apsorbira galaktoza, zatim glukoza, dok se D-manoza apsorbira 5 puta sporije od glukoze (89).

Najvažniji monosaharidi, glukoza i fruktoza, glavni su izvori ugljika i energije u organizmu. Ostali monosaharidi potrebni za sintezu glikokonjugata, nastaju uglavnom iz njih metaboličkom pregradnjom. Alternativno je izvor ostalih monosaharida hrana ili razgradnja glikokonjugata ovisno o tipu stanica. Manji dio apsorbirane glukoze koristi se za glikozilaciju pretvorbom do manoza-6-fosfata (90).

D-manoza, potrebna za sintezu glikokonjugata, u stanicama nastaje uglavnom iz glukoze preko metaboličkog puta:

glukoza → glukoza-6-fosfat → fruktoza-6-fosfat → manoza-6-fosfat.

Manoza-6-fosfat nastaje izomerizacijom unutarstaničnog fruktoza-6-fosfata uz enzim fosfomanoza-izomerazu (PMI) ili fosforilacijom manoze koja je ušla u stanicu preko specifičnog prijenosnika za manozu uz enzim heksokinazu. Manoza-6-fosfat se dalje pretvara u manoza-1-fosfat uz enzim fosfomanomutazu. Nastali manoza-1-fosfat reagira s gvanozintrifosfatom i stvara se gvanozindifosfomanoza koja je donor D-manoze za ugradnju D-manoze u glikoproteine i glikolipide (91,92).

O količini D-manoze i njenoj bioraspoloživosti u hrani ima dosta nepoznanica kao i o podacima je li D-manoza u krvi čovjeka porijeklom iz hrane, nastala metabolizmom iz drugih monosaharida, razgradnjom slobodnih i vezanih oligosaharida ili pretvorbom iz endogenih glikoproteina (93,94).

Serum životinja sadrži dovoljno D-manoze koja, uz specifični transportni sistem, osigurava D-manozu za glikozilaciju proteina u jetrenim stanicama unatoč 50 do 100 puta većoj koncentraciji glukoze. To pokazuje da je direktna upotreba D-manoze važnija nego stvaranje iz glukoze. Zbog toga je u jetri niska aktivnost enzima fosfomanoza-izomeraze, glavnog enzima za stvaranje D-manoze iz glukoze (95).

Kod štakora, radioaktivno obilježena D-manoza brzo se apsorbira u gornjem dijelu tankog crijeva i nestaje iz krvi s vremenom poluživota od 30 minuta (95), a kod miševa od 28 minuta (96). Radioaktivni obilježivač pojavljuje se u različitim organima štakora sličnom kinetikom, najviše u jetri i tankom crijevu. Različiti organi razlikuju se u direktnom preuzimanju D-manoze i brzini ugradnje u glikokonjugate. 90 % unešene D-manoze se izlučuje nepromijenjeno mokraćom unutar 30 do 60 minuta, dok se 99 % izluči unutar 8 sati bez značajnijeg povišenja koncentracije glukoze u krvi (95). Smatra se da se D-manoza aktivno transportira u crijevima i bubrezima životinja (97-102). Unutar 2 sata većina D-manoze se metabolizira (95) i pojavljuje u mokraći (103). Bubrežna reapsorpcija D-manoze u tubularnim epitelnim stanicama štakora ovisi o transportnom sistemu ovisnom o natriju,

različitom od reapsorpcijskog sistema za glukozu (104-106), a kod ribe lista reapsorpcija iznosi više od 70 % filtrirane D-manoze (107).

Dugotrajno uzimanje D-manoze kod miševa ne izaziva popratne pojave (96). Dokazano je da je D-manoza toksična za pčele (108), teratogena za embrije štakora (109) i toksična za neke eksperimentalne tumore kod miševa (110-112).

Humani fibroblasti i jetrene stanice transportiraju D-manozu specifičnim prijenosnikom (94), dok u eritrocite ulazi pasivnim prijenosom (113). Navodi se da postoje i dva prijenosna sustava za D-manozu, jedan na četkastoj prevlaci intestinalnih epitelnih stanica koji je ovisan o natriju i drugi, prisutan na bazolateralnoj membrani ostalih stanica, neovisan o natriju (95).

D-manoza prolazi kroz humanu placentu (114), može stimulirati sekreciju inzulina, a navodi se i da može povisiti koncentraciju glukoze u krvi (92). U drugim radovima navodi se da injekcija D-manoze ne povećava inzulin u serumu (103,115), a produženo davanje D-manoze u dozi od 0,5 g/kg kroz 10 sati dovodi do značajnog sniženja koncentracije glukoze u krvi bez simptoma hipoglikemije što upućuje da mozak vjerojatno može upotrijebiti D-manozu (115). Zabilježen je porast koncentracije ukupnog bilirubina u serumu kod uzimanja D-manoze, a bez promjene ostalih testova funkcije jetre (86).

Smatra se da D-manoza u cirkulaciju čovjeka najvjerojatnije dolazi iz hrane, metabolizmom oligosaharida, glikogenolizom (94), razgradnjom endogenih glikoproteina i znatno ne doprinosi ukupnom energetskom metabolizmu (116). Dokazano je da ljudski fibroblasti daju prednost D-manozi, a ne glukozi, kao izvoru D-manoze za N-glikozilaciju (117). D-manoza ulazi u stanice specifičnim prijenosnikom za D-manozu (118). Esencijalna je za razvoj fetusa gdje je nađen znatan ulaz D-manoze u cirkulaciju fetusa usprkos relativno niskoj koncentraciji D-manoze u majčinoj cirkulaciji (119). Slobodna D-manoza je prisutna i u majčinom mlijeku što pridonosi uspostavi nepatogene crijevne flore i sprečava vezanje patogena za crijevne epitelne stanice (120).

Koncentracija D-manoze u krvi viših životinja iznosi od 28 do 161 μmol/L (95), a kod čovjeka su dobivene različite vrijednosti za koncentraciju D-manoze u serumu u rasponu od 12,5 do 65,7 μmol/L (121-127), u mokraći u rasponu od 2,6 do 108,7 μg/mL (128), a u amnijskoj tekućini 5,9 μmol/L (122).

Povišene vrijednosti koncentracije D-manoze u krvi nađene su kod pacijenata sa šećernom bolešću (122,123,125), nefrotičkim sindromom i hiperlipoproteinemijom kod kojih je potvrđena pozitivna korelacija koncentracije manoze, koncentracije glukoze i koncentracije

triglicerida i kolesterola u serumu te koncentracije proteina u mokraći (129-131). Kod pacijenata s invazivnom kandidijazom nađene su i do 10 puta povišene vrijednosti koncentracije D-manoze u krvi (121,132). Smatra se kako bi se to moglo koristiti za ranu dijagnostiku invazivne kandidijaze naročito kod pacijenata s leukozama kako bi se na vrijeme započela antifungalna terapija (121).

Snižena koncentracija D-manoze u krvi nađena je kod pacijenata s prirođenim poremećajem glikozilacije Ib**,** kod kojih je srednja vrijednost koncentracije D-manoze u serumu iznosila 11 μmol/L (133-137).

1.2.6. Određivanje D-manoze

Postoje različite metode za određivanje D-manoze u tjelesnim tekućinama: enzimske kod kojih se koncentracija D-manoze određuje nakon pretvorbe u glukoza-6-fosfat gdje je potrebno prethodno eliminirati glukozu uz glukoza oksidazu i katalazu, ali se time djelomično oksidira i D-manoza (121) ili se glukoza i fruktoza eliminiraju pretvaranjem u glukoza-6-fosfat, a D-manoza određuje uz manoza-6-fosfat izomerazu (123) ili metode gdje se glukoza prethodno uklanja uz glukokinazu (124); metode plinsko-tekućinske kromatografije s plameno-ionizacijskim detektorom (106,138,139); tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (140) s anion-izmjenjivačkom kolonom uz fluoreoscenti detektor (127,128); plinsko-tekućinska kromatografija - masena spektrometrija (125) i kapilarna elektroforeza uz fluoroforom obilježene ugljikohidrate (116). Nijedna od tih metoda nije potpuno prikladna za rutinsku upotrebu zbog nekompletne ili zaostale eliminacije 100 puta više koncentracije glukoze, potrebe za instrumentima kojima je ograničena dostupnost te potrebe velikog volumena uzorka (127).

1.2.7. D-manoza u organizmu

D-manoza je važna ugljikohidratna komponenta glikoproteina. Prisutna je u fibrinogenu, apolipoproteinima, imunoglobulinima i brojnim drugim glikoproteinima u krvi (88). U organizmu je D-manoza sastavni dio D-manoznih receptora (CD 206) uključenih u homeostatske mehanizme - uklanjanje endogenih glikoproteina, staničnu adheziju, prepoznavanje patogena koji imaju D-manozu na svojoj površini, vezanje autoantigena i

prezentacija antigena T-limfocitima (141-143). Ti receptori se nalaze na makrofagima, monocitima, fibroblastima, dendritičkim stanicama, jetrenim endotelnim stanicama, limfoidnim organima, placenti, dermisu kože te u sluzničnoj *lamini proprii* (144-146).

Manozni receptori su izgrađeni od veće izvanstanične regije koja sadrži domenu bogatu cisteinom, domenu fibronektilnog tipa, domenu nalik C-tip lektinu koja prepoznaje ugljikohidrate, transmembranskog dijela i kratkog citoplazmatskog dijela (145). Manozni receptori su transmembranski receptori koji prepoznaju ugljikohidratne lance koji završavaju s D-manozom, L-fukozom ili N-acetilglukozaminom. Smatra se kako je vezanje bakterije *Escherichia coli* na epitelne stanice posredovano D-manoznim (ili D-manozi nalik) receptorima prisutnim na površini stanica (147).

1.2.8. Istraživanje uloge D-manoze u organizmu

Biljni lektini i manani koji sadrže D-manozu, blokiraju dendritičke stanice u prijenosu virusa HIV-a i infektivne mononukleoze te interferiraju s ciklusima umnažanja virusa *in vitro* (148). Pronađeno je da D-manoza djeluje inhibitorno na virus HIV-a i citomegalovirus *in vitro* (149). Disaharid α-D-manopiranozid-1-6-D-manoza ima 100 puta jače inhibitorno djelovanje od D-manoze (150). Potvrđena je netoksičnost D-manoze na netumorske stanice, a toksičnost na tumorske stanice kod eksperimentalno izazvanih tumora kod miševa (151). Smatra se kako bi se kod pacijenata čije tumorske stanice imaju sniženu fosfomanoza-izomeraznu aktivnost, D-manoza mogla koristiti kao pomoćno terapijsko sredstvo (111). D-manoza ima dokazane imunoregulatorne utjecaje *in vitro*: inhibiciju proliferacije T-limfocita i inhibiciju monocitne citotoksičnosti. Za manan iz kvasca, koji sadrži polimer D-manoze, dokazano je da inhibira proliferaciju T-limfocita i s tim se povezuje stvaranje imunosupresivnih tvari koje se nalaze u krvi pacijenta s kroničnom kožno-sluzničnom kandidijazom (150). D-manoza se mjeri u tjelesnim tekućinama kao pokazatelj invazivne kandidijaze (121). Pomaže pokretljivosti spermija (103), a smatra se da su neglukozni ugljikohidrati, kao što je D-manoza, potrebni u ranom rastu i razvoju novorođenčadi (152). D-manoza stimulira fibroblaste na proizvodnju kolagena (153). Kod pacijenata sa šećernom bolesti, koncentracija D-manoze u krvi raste te korelira s koncentracijom glukoze (122).

1.2.9. Upotreba D-manoze u liječenju

Prirođeni poremećaji glikozilacije (kratica CDG; od engl. *Congenital Disorders of Glycosylation*, stari naziv *Carbohydrate-Deficient Glycoprotein Syndromes*) jesu skupina nasljednih metaboličkih bolesti uzrokovanih enzimskim nedostacima koje imaju za posljedicu poremećaje u sintezi, prijenosu ili doradi ugljikohidratnog dijela glikoproteina, što dovodi do nepotpune glikozilacije proteina. 1980. godine prvi puta je opisano dvoje djece s bolešću iz ove skupine. Znanja i spoznaje o ovim poremećajima s godinama vrlo brzo rastu te je do danas opisano više od 45 različitih poremećaja (154). Osnovni patofiziološki problem koji sjedinjuje ovu vrlo heterogenu skupinu bolesti jest poremećena sinteza ili dorada glikana koji se veže na protein u nastajanju. Glikanski lanac odgovoran je za tercijarnu strukturu, topljivost i stabilnost proteina, modulaciju aktivnosti enzima i signalizirajućih molekula, unutarstanični prijenos signala i komunikaciju među stanicama (155). Kolika je važnost procesa glikozilacije govori činjenica da je više od 50% ukupnih tjelesnih proteina glikozilirano, a čak 1 % ljudskoga genoma uključeno je u procese glikozilacije (156). Većina sekretnih proteina, proteina na površini stanice i proteina ekstracelularnog matriksa su glikoproteini (157). Glikoproteini su uključeni u međustanično prepoznavanje, regulaciju staničnoga rasta te u interakcije stanice s okolinom, enzimima, hormonima i mikroorganizmima te su nužni za normalan rast i funkciju svih tkiva. Transkripcija proteinske sekvence s molekule DNA na RNA i kasnije translacija nisu jedini procesi koji određuju funkciju proteina. Proteini ulaze u brojne posttranslacijske modifikacije koje nisu zapisane u RNA, a koje definiraju protein u strukturnom i funkcionalnom smislu. Zbog sadržaja ugljikohidratne molekule glikoproteini nisu pod izravnom genskom kontrolom (158). Glikozilacija (dodavanje šećera na protein) jedan je od najvažnijih posttranslacijskih procesa i ovisan je o enzimima. Nakon transkripcije mRNA napušta jezgru i u citoplazmi se veže s ribosomima zrnatog endoplazmatskog retikuluma (ER) te započinje sinteza proteina. Novi polipeptidni lanac u nastajanju, nakon otpuštanja s ribosoma, premješta se u lumen ER. Prilikom prijenosa polipeptida kroz membranu ER započinje N-glikozilacija rastućeg polipeptida (kemijska modifikacija). N-glikozilacije su nužne za nabiranje polipeptidnog lanca u lumenu ER. Glikozilacija se nastavlja u Golgijevu aparatu. Konačni rezultat svih modifikacija na polipeptidu je poprimanje konačne konformacije i funkcije proteina. Dva su glavna oblika glikozilacije proteina: N-glikozilacija (ugljikohidratni lanac je vezan za dušik amidne skupine asparagina) i O-glikozilacija (ugljikohidratni lanac je vezan za kisik

hidroksilne skupine serina, treonina ili hidroksilizina). N-glikozilacija proteina vrlo je složen proces sinteze i prijenosa oligosaharida na polipeptidni lanac u nastajanju. U njemu sudjeluje više od 40 različitih enzima i zbiva se u citosolu, ER i Golgijevu aparatu. Zajednička preteča svih N-vezanih oligosaharida je oligosaharid građen od tri molekule glukoze, devet molekula manoze i dvije molekule N-acetilglukozamina koji nastaje na lipidnom nosaču dolikol-pirofosfatu vezanom za membranu ER, najprije u citosolu, a zatim na luminalnoj strani ER. Proces glikozilacije započinje u ER, gdje se ovaj oligosaharid s pomoću membranskog enzima oligosaharil transferaze prenosi s dolikolnog nosača na Asn-X-Thr/Ser slijed polipeptidnog lanca u nastajanju. Oligosaharid se povezuje N-glikozidnom vezom s asparaginom koji se nalazi u tripletnoj sekvenci, tj. sačuvanom glikozilacijskom motivu, Asn-X-Ser ili Asn-X-Thr, gdje X predstavlja bilo koju aminokiselinu, izuzev prolina. Na reducirajućem kraju oligosaharida uvijek se nalazi N-acetilglukozamin. Zatim se biosinteza N-glikana nastavlja u ER i Golgijevu aparatu modifikacijama zajedničke preteče. U proces modifikacije uključen je velik broj glikozidaza i glikoziltransferaza koje specifično kataliziraju pojedine korake. Nastali glikoproteini sekretornim vezikulama izlaze iz Golgijeva aparata i prenose se do konačnog odredišta (155-158).

Poremećaji N-glikozilacije obuhvaćaju 16 tipova autosomno-recesivnih nasljednih poremećaja koji se dijele u dvije skupine: skupinu CDG-I kod koje je poremećena sinteza glikanskog lanca i njegov prijenos na protein (zbiva se u citosolu i ER) i skupinu CDG-II kod kojeg je poremećena dorada glikanskog lanca glikoproteina (zbiva se u ER i Golgijevu aparatu). Prirođeni poremećaji N-glikozilacije vrlo su heterogena skupina multisistemskih bolesti s različitom simptomatologijom i vrlo velikom varijabilnošću kliničkih obilježja, kako među pojedinim vrstama bolesti tako i među pacijentima oboljelima od iste bolesti. Specifičnog liječenja nema, osim kod tipa CDG-Ib koji se liječi manozom (159).

Poremećaj CDG-Ib ili MPI-CDG nastaje zbog manjka enzima fosfomanoza-izomeraze (PMI), koji se naziva i manozafosfat-izomeraza (MPI), a koji sudjeluje u stvaranju manoza-6-fosfata iz fruktoza-6-fosfata. Stvaranje enzima kodirano je MPI genom i dosad je pronađeno 18 mutacija. Za razliku od ostalih poremećaja glikozilacije ova bolest nema neurološke simptomatologije, a osnovna obilježja su enteropatija s gubitkom proteina, fibroza jetre i koagulopatija. Bolest počinje već u prvoj godini života s kroničnim proljevima, cikličnim povraćanjem i nenapredovanjem u tjelesnoj težini. Neki bolesnici imaju epizode hipoglikemije. S vremenom se može razviti ciroza jetre (160). Također su opisane trombotičke epizode i teška krvarenja koja su u nekoliko navrata imala fatalni ishod (161).

Ovu bolest je bitno na vrijeme prepoznati jer postoji mogućnost uspješnog liječenja peroralnim unosom manoze. Na taj se način poveća depo manoza-6-fosfata u organizmu, što dovodi do smanjenja hipoglikozilacije proteina (162). Klinički simptomi bolesti obično se povlače vrlo brzo nakon uvođenja terapije, ali je opisan i bolesnik koji je umro za vrijeme provođenja terapije (163,164).

Smatralo se da D-manoza, potrebna za sintezu glikoproteina, potječe iz unutarstanične glukoze sve do otkrića da egzogena D-manoza prolazno korigira promijenjenu N-glikozilaciju u kulturi stanica fibroblasa od pacijenata s CDG-Ib (165). Od tada se D-manoza počela upotrebljavati u liječenju pacijenata s tim poremećajem metabolizma.

Nedostatak enzima fosfomanoza-izomeraze (PMI) uzrokuje poremećaj stvaranja manoza-6-fosfata iz glukoze. U tom slučaju, manoza-6-fosfat može se sintetizirati iz manoze iz hrane ili razgradnjom glikokonjugata. Tim putem se ne dobiva dovoljno manoze. Stanice sisavaca imaju specifične prijenosnike za D-manozu koji pod normalnim uvjetima osiguravaju dovoljno manoze potrebne za N-glikozilaciju. Kod fiziološke koncentracije manoze u krvi, taj prijenosnik samo polovično djeluje, djelomično inhibiran glukozom. Povećavajući izvanstaničnu koncentraciju D-manoze, povećava se količina transportirane manoze potrebne za N-glikozilaciju. Davanjem manoze zaobilazi se metabolički put od fruktoze-6-fosfata do manoze-6-fosfata pa se manoza-6-fosfat sintetizira iz egzogene manoze uz enzim heksokinazu i adenozin trifosfat (111).

Navode se različite doze D-manoze koje se upotrebljavaju kod liječenja pacijenata s CDG-Ib, od koncentracije od 0,1 g/kg 5 puta dnevno i nakon 7 dana po 0,15 g/kg (165) do doze od 0,5 g/kg tjelesne težine (86). Simptomi se popravljaju i kad se D-manoza daje kao 10% otopina u infuziji u koncentracijama i do 8 puta višim nego što je fiziološka koncentracija D-manoze u krvi (166). Pri tome nisu zabilježene popratne pojave zbog davanja D-manoze, niti toksičnost za jetru i bubrege. Doziranje i davanje je jednostavno, a nakon davanja D-manoze od 0,17 g/kg svakih 3,5 sata kroz 6 mjeseci, koncentracija glukoze i transferina u krvi se nije mijenjala (133).

Unos D-manoze više od 0,2 g/kg može izazvati probavne smetnje (134) i povišenje vrijednosti hemoglobina A1c (167). Nakon davanja D-manoze, koncentracija D-manoze u krvi raste od 3 do 10 puta s najvišom vrijednosti 1 do 2 sata nakon uzimanja (86,134) s vremenom poluživota u krvi od 4 sata (76,133).

1.3. Adhezija bakterija

Sposobnost vezanja mikroorganizma za epitelne stanice domaćina određuje stupanj virulencije. Mnogi mikroorganizmi eksprimiraju velik broj glikan-vezućih proteina - lektina. Lektini su proteini koji specifično prepoznaju ugljikohidrate kao što su D-manoza, galaktoza, N-acetilglukozamin i N-acetilgalaktozamin (168,169). Navedeni lektini imaju hemaglutinacijsku aktivnost, ali njihova primarna zadaća je da omogućuju vezanje ili prianjanje bakterije na stanice domaćina što je preduvjet za bakterijsku kolonizaciju i početak upale (170).

Većina upalnih bolesti započinje adhezijom patogenih mikroorganizama na tkivo domaćina. Adhezija predstavlja interakciju između specifičnih receptora na membrani stanica i lektina na površini bakterija. Bakterijski se lektini nazivaju adhezini, a glikanski ligandi na površini stanica domaćina nazivaju se receptori. Mnogi adhezini sadrže domenu koja prepoznaje ugljikohidratni ligand i koja se veže za terminalne ugljikohidratne ostatke na receptorima. Prisutnost ili odsutnost specifičnih receptora na membrani eukariotskih stanica uvjetuje tkivnu specifičnost patogena. Za mnoge patogene bakterije inicijalna interakcija s tkivima domaćina se odvija na površini sluznica (respiratornog, probavnog ili spolno-mokraćnog sustava). Adhezija je neophodna da bi bakterije izbjegle mehanizme nespecifične obrane domaćina kao što je crijevna peristaltika i ispiranje bakterija mokraćom.

Bakterijski lektini najčešće se eksprimiraju u obliku produženih proteinskih nastavaka nazvanih fimbrije ili pili koji stupaju u interakciju s glikoproteinskim i glikolipidnim receptorima na stanici domaćina i time omogućuju prihvaćanje na stanice i početak kolonizacije bakterija (168).

U patogenezi nastanka upale mokraćnog sustava prvi i najvažniji korak je adhezija, prianjanje bakterija na stanice epitela mokraćnog sustava. Adhezija ovisi o tri elementa:

- mehanizmu obrane domaćina,
- receptorima na stanicama domaćina,
- adhezinima bakterija (171).

1.3.1. Mehanizam obrane domaćina

Reakcije domaćina na uzročnike upala mokraćnog sustava rezultat su složenih mehanizama obrane organizma. Prvu liniju obrane predstavljaju anatomske i fiziološke prepreke - integritet sluznice, očuvana dinamika pražnjenja mjehura, ispiranje mokraćnog trakta mokraćom, ljuštenje epitelnih stanica preko mehanizma nalik apoptozi, nizak pH mokraće, sluz, mikroflora, spolni hormoni (39). Lokalna sekretorna IgA antitijela imaju važnu ulogu u početnoj zaštiti i sprečavanju upale aktiviranjem komplementa (172,173). Stanice uroepitela izlučuju interleukine IL-6 i IL-8 koji potiču proliferaciju neutrofila (174). Jednu od najvažnijih uloga ima topljivi glikoprotein, Tamm-Horsffalov protein, nazvan i uromodulin, koji se stvara u bubrežnim stanicama u širokom uzlaznom dijelu Henleove petlje i u proksimalnom dijelu distalnog tubula u količini od 50 mg na dan. Tamm-Horsffalov protein sadrži glikane s visokim udjelom manoze, tako da na sebe veže bakterije i sprečava njihovo vezanje na epitelne stanice mokraćnog mjehura. Kvalitativni i kvantitativni defekt u Tamm-Horsffalovom proteinu može predisponirati osobu za bakterijske upale mokraćnog sustava. Uništenje uroepitela traumom, npr. kod kateterizacije, predisponirajući je čimbenik za razvoj upala mokraćnog sustava (175,176).

Čimbenici domaćina koji povećavaju sklonost upalama mokraćnog sustava su: povećani broj receptora za uropatogene na epitelnim stanicama spolno-mokraćnog sustava, smanjeno izlučivanje glikozaminoglikana u mokraću, niža razina cervikovaginalnih i urinarnih antitijela na uropatogene te specifični ABO ili Lewis eritrocitni antigen fenotipovi (177).

Mokraćni sustav je u normalnim uvjetima sterilan i uz sve mehanizme obrane domaćina, velik broj uzročnika upala mokraćnog sustava sposoban je za brzo umnažanje i oslobađanje prije aktivacije imunoreakcija te za brzo širenje upale na epitelnim površinama prekrivenim tekućinama (38).

1.3.2. Receptori na stanici domaćina

Unutar mokraćnog sustava, postoje specijalizirane epitelne stanice koje se nazivaju uroepitel. Uroepitel funkcionira kao snažna fizička barijera, sprečavajući difuziju mokraće i drugih supstanci iz lumena mjehura te regulirajući volumen mokraće. Sastoji se od sloja velikih, dobro diferenciranih površinskih stanica, zatim malih, relativno nediferenciranih

bazalnih stanica te intermedijarnih epitelnih stanica. Tanka bazalna membrana i *lamina propria* odvajaju epitelne stanice od glatke muskulature (178,179). Na apikalnoj površini velikih tzv. „kišobran“ stanica nalazi se asimetrična jedinica membrane. Radi se o plakovima koji imaju ulogu u jačanju luminalne površine epitela i sprečavaju oštećenje epitela za vrijeme dok se mjehur rasteže (180).

Asimetrična jedinica membrane sadrži integralne membranske proteine uroplakine: UPIa, UPIb, UPII, UPIIIa i UPIIIb. Uroplakini su proteinske podjedinice od čestica veličine 16 nm koji oblikuju dvodimenzionalne kristale od 0,2 do 1 μm u promjeru, nazvani urotelialni plakovi, koji prekrivaju gotovu cjelokupnu površinu mokraćnog mjehura (181-183).

Uroplakin Ia je glikoprotein molekulske mase od 27 kDa i on je urotelialni receptor za uropatogenu *Escherichia coli*. UPIa sadrži oligosaharide s mnogo terminalnih manoznih ostataka $Man_6GlcNAc_2$ do $Man_9GlcNAc_2$ koji su sposobni specifično stupiti u reakciju s bakterijskim lektinima specifičnim za D-manozu i predstavljaju fiziološki receptor za FimH podjedinicu tipa 1 fimbrija *Escherichia coli* (184).

Međudjelovanje FimH s terminalno izloženim manoznim ostacima na UPIa može dovesti do teških posljedica na stanice uroepitela domaćina, uključujući ulazak bakterije u velike „kišobran“ stanice. Jednom kad uđe u stanicu, bakterija se brzo umnaža, stvarajući unutarstanične zajednice bakterija visokorezistentinih na antibiotike. Neke od unutarstaničnih bakterija mogu ostati skrivene duži period i služe kao izvor za novu upalu. Novija istraživanja pokazuju da vezanje fimbrija na kompleks uroplakina na površini epitelnih stanica mokraćnog mjehura omogućava ulazak uropatogenih *Escherichia coli* i stvaranje unutarstaničnih bakterijskih kolonija u fuziformnim vezikulama. U tom stanju bakterije su zaštićene od djelovanja antibiotika te omogućavaju razvoj rekurentnih i kroničnih upala (178). Nađeno je da se upotrebom inhibitora na bazi D-manoze mogu spriječiti te posljedice blokiranjem FimH i onemogućavanjem vezanja bakterija za UPIa receptore (185).

1.3.3. Adhezini bakterija

Početak upale mokraćnog sustava započinje povezivanjem bakterijskih adhezivnih organela - fimbrija s ugljikohidratnim ostacima koje nose glikoproteini i glikolipidi na stanicama epitela mokraćnog sustava (186,187).

Fimbrije se klasificiraju prema svojoj specifičnosti za pojedine ugljikohidrate. Specifično vezanje za manozu imaju fimbrije tipa 1 bakterija *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp.*, *Serratia marcescens*, *Shigella*

flexneri. Najčešće i najznačajnije adhezivne organele su fimbrije tipa 1. Bakterije mogu imati 200-500 peritrihijalno poredanih fimbrija tipa 1 na svojoj površini. (slika 3.) One imaju značajnu ulogu u ranoj fazi upale, tijekom kolonizacije mokraćnog mjehura i kod invazije u epitelne stanice. Otkrivena je i njihova uloga u stvaranju biofilma na medicinskim implantatima i kateterima. Fimbrije tipa 1 vežu se za manozne epitope na sluznici urotrakta, sekretorna IgA protutijela i Tamm-Horsffalov protein (188,189). Specifično vezanje za manozu imaju bakterijske fimbrije tipa 1. Jedna od podjela fimbrija izvedena je na osnovi inhibicje D-manozom *in vitro* na: manoza osjetljive i manoza neosjetljive fimbrije (184).

P-fimbrije dovode do vezanja bakterije *Escherichia coli* s antigenima krvne grupe P koji se nalaze na eritrocitima i na uroepitelnim stanicama. Uz poboljšanje kolonizacije mokraćnog mjehura, P-fimbrije povećavaju imuni odgovor na bakterije. Češće se nalaze kod sojeva koji uzrokuju upale gornjega dijela mokraćnog sustava. Adhezin na P-fimbrijama je PapG, a receptor za P-fimbrije je α-Gal-(1-4)-β-D-Gal disaharidni završetak glikolipida koji je obilato izražen na uroepitelu. P-fimbrije se vežu za α-D-galaktopiranozil-(1-4)-β-D-galaktopiranozid koji je prisutan na glikolipidima stanice domaćina, naročito u bubregu. P-fimbrije su glavni faktor virulencije povezan s pijolefritisom (190).

Druge fimbrije imaju ulogu u invaziji na epitelne stanice, a receptor im je GalNacβ(1-4)Galβ, nastavak gangliotriaozilceramida, što u stvari predstavlja Dr krvne grupe koji su rasprostranjeni po cijelom mokraćnom sustavu (191). Adhezini obitelji Dr, uključujući Dr fimbrije i afimbrialne adhezine AFA-I i AFA-II, vežu se za Dr antigene krvne grupe i mogu olakšati uzlaznu kolonizaciju mokraćnog sustava.

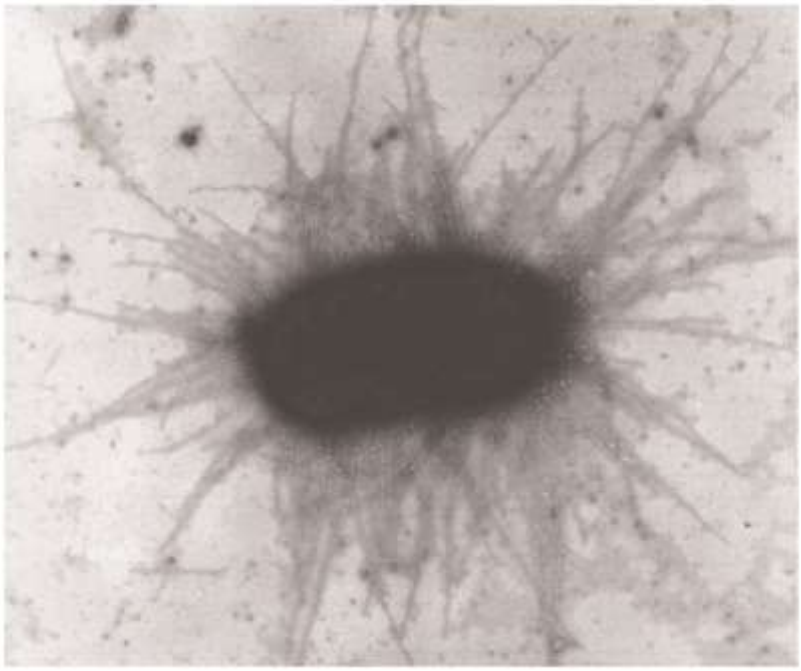
S-fimbrije se vežu za sijalil-glikozide i javljaju se rjeđe kod uropatogenih sojeva.

Rjeđe prisutni adhezini su i fimbrije tipa 1C kao i nefimbrijski adhezini O75X (190).

U razvoju upala mokraćnog sustava osim adhezije važne su i druge osobitosti bakterija. Pokretne bakterije mogu se uspinjati uz mokraćnu cijev nasuprot struji mokraće pomoću flagela. Endotoksini Gram-negativnih bakterija usporavaju peristaltiku mokraćovoda, a pridonose i upalnom odgovoru bubrežnog parenhima. Prisutnost K-kapsularnog antigena štiti bakteriju od fagocitoze leukocitima. Hemolizini olakšavaju invaziju tkiva uzrokujući oštećenje tubula i parenhimskih stanica bubrega. *Escherichia coli* proizvodi i siderofore, toksine (citotoksični nekrotizirajući čimbenik-1 i sekretorni autotransportni toksin), α-hemolizin, β-hemolizin i γ-hemolizin. Baktericidna ili litička aktivnost posredovana komplementom seruma predstavlja važnu primarnu obranu organizma od mikroorganizama. Mnoge Gram-negativne bakterije imaju sposobnost da se odupru baktericidnoj aktivnosti seruma što značajno doprinosi njihovoj virulenciji. Uropatogeni uzročnici izazivaju upalni

odgovor na raznim nivoima mokraćnog sustava stimulirajući uroepitel i druge stanice na proizvodnju citokina, kemokina i drugih proupalnih faktora (184).

Adherirane bakterije mogu uspješno ući u stanice mokraćnog mjehura vjerojatno putem koji je posredovan visokomanoziliranim uroplakinom Ia i α3β1 integrinima koji se nalaze uzduž uroepitela (192).



Slika 3. Fimbrije bakterije *Escherichia coli* (iz 184)

1.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli je vrsta bakterije iz roda *Escherichia* i porodice *Enterobacteriaceae* i široko je rasprostranjena u prirodi. Pripada skupini bakterija koje su, u normalnim uvjetima, dio fiziološke mikroflore donjega dijela probavnog sustava kod mnogih životinja i kod ljudi gdje pomažu u probavi hrane. *Escherichia coli* je Gram-negativni, asporogeni, aerobni i fakultativno anaerobni štapić. Lako se kultivira na uobičajenim hranjivim podlogama. Postoji preko 700 antigenih serotipova *Escherichia coli* baziranih na O, H i K antigenima.

Escherichia coli je najbolje poznata bakterijska vrsta i najčešći izolat u mikrobiološkim laboratorijima. Na temelju biološkog značenja za čovjeka, *Escherichia coli* sojevi se dijele na:

- komenzalne sojeve koji predstavljaju veliki dio normalne flore,
- intestinalne patogene,
- patogene sojeve koji uzrokuju ekstraintestinalne infekcije (186).

Pojam „uropatogena *Escherichia coli*“ odnosi se na one sojeve koji najčešće uzrokuju upale mokraćnog sustava. To su serogrupe O1, O2, O4, O6, O7, O25, O50, O75 i O150. Ti sojevi posjeduju faktore virulencije (fimbrije tipa 1, P- i S-fimbrije, hemolizine, siderofore, toksine i površinske antigene) koji dovode do kolonizacije periuretralnog područja i mokraćne cijevi, invazije mokraćnog sustava i razvoja bolesti. *Escherichia coli* se ne smatra invazivnim patogenom sve dok ne dođe do njene adhezije na površinu sluznice mokraćnog mjehura. *Escherichia coli* izaziva i upale žučnog mjehura i žučnih vodova. Može uzrokovati upalu slijepog crijeva, upalu potrbušnice te gnojne upale kože i rana. *Escherichia coli* može sa mjesta primarne lokacije prodrijeti u krv i izazvati sepsu (186). Odgovorna je za najčešće komplikacije nakon transplantacije bubrega, a može izazvati i neonatalni meningitis i gastroenteritis uzrokovan enteropatogenim sojevima (187). Adherira dva puta jače na epitel mokraćnog mjehura pacijenata sa šećernom bolešću (7). Uropatogena *Escherichia coli* je jedan od najčešćih uzročnika upala anatomski normalnog nezačepljenog mokraćnog sustava i predstavlja značajan terapijski problem. Kolonizira iz fecesa ili perianalne regije i penje se u mokraćni sustav do mjehura (193).

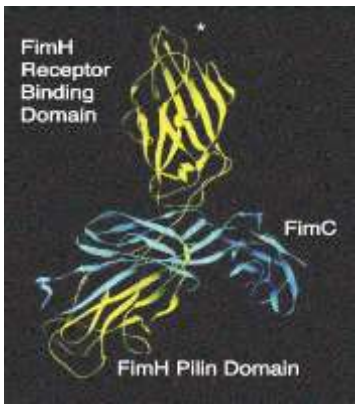
1.4.1. Fimbrije bakterije *Escherichia coli*

Kritični prvi korak u kolonizaciji mokraćnog mjehura je vezanje fimbrija bakterije *Escherichia coli* na ugljikohidratne sekvence koji se nalaze na glikolipidnim i glikoproteinskim receptorima na luminalnoj površini mokraćnog mjehura (194).

Mnoge Gram-negativne bakterije imaju kratke i nježne izdanke. Tanji su od flagela i nisu uključeni u pokretljivost bakterija. Ti izdanci nazivaju se fimbrije ili pili. Zbog male veličine, 1-2 μm dužine i 7 nm debljine, vidljivi su samo elektronskim mikroskopom. Na vrhu fimbrije nalazi se ljepljiv protein, adhezin FimH, koji se veže za ugljikohidratne receptore na stanici domaćina (195).

Fimbrije su tanke cjevčice građene od spiralno poredanih FimA proteinskih podjedinica, po građi nalik imunoglobulinu, a uređene su kao uzvojnica u strukturu poznatu kao osovina. Vezane su za kratki, 3 nm debeli distalni kraj fimbrija, koji se sastoji od 2 adaptorska proteina, FimF i FimG i trećeg, koji je različite vrste - FimH. FimH je adhezijski protein, lociran na vrhu tipa 1 fimbrije, odgovoran za bakterijsku adheziju osjetljivu na prisutnost manoze. FimH (molekulske mase 29-31 kDa) je adhezin koji prepoznaje D-manozu, jer sadrži specifično vezno mjesto. FimH je također prisutan u manjem broju uzduž fimbrijske niti, ali je samo podjedinica na vrhu sposobna posredovati u vezanju D-manoze. Podjedinice na drugim pozicijama su nedostupne za ugljikohidratni ligand. (188-195).

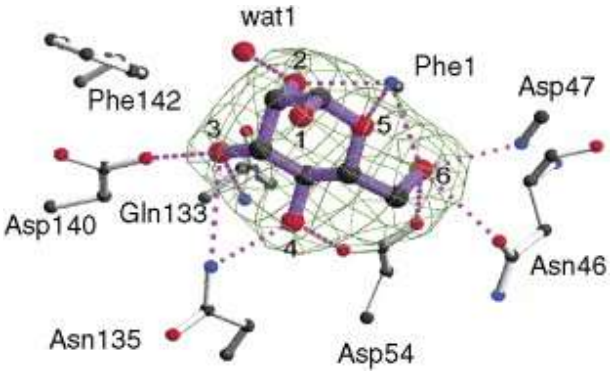
FimH je izgrađen od 279 aminokiselina. Podijeljen je u dvije domene međusobno vezane. Jedna od njih, locirana u N-terminalnom dijelu podjedinice (aminokiselinski ostaci 1-156) je domena koja veže D-manozu. Tri aminokiseline čine interdomenski polipeptidni lanac koji veže C-terminalni dio (aminokiselinski ostaci 160-279) poznat kao domena pilie. Ona je vezana za podjedinicu FimC koja stvara fibrilin domenu. Ta domena ima ulogu u spajanju adhezinskih filamenata (196,197) (slika 4.).



Slika 4. Struktura FimH, * označava mjesto vezanja D-manoze (iz 197)

1.4.2. Vezno mjesto za D-manozu na FimH

Kad u otopini D-manoze postoji smjesa α- i β-anomera, samo se α-oblik može spojiti na FimH na specifično vezno mjesto za D-manozu. FimH izabire samo α-konfiguraciju oko slobodno-reducirajućeg anomernog kisika D-manoze. D-manoza se smješta u duboku, negativno nabijenu udubinu u FimH. Sve hidroksilne skupine, osim anomerne, stupaju u reakciju s aminokiselinskim ostacima. Asparaginska kiselina na položaju 54 stvara vodikove mostove sa 4- i 6-OH skupinom D-manoze, a asparaginska kiselina na položaju 140 sa 3- i 4-OH skupinom D-manoze. Na N-terminalnom dijelu FimH nalazi se na položaju 1 fenilalanin koji se vodikovom vezom veže na 2-OH, 6-OH i za kisik u prstenu D-manoze. Fenilalanin na položaju 142 veže se hidrofobnom vezom s vezom između ugljikovih atoma 2 i 3 od D-manoze. Za vezanje D-manoze važni su i glutamin na položaju 133 i asparagin na položaju 46 135 (197) (slika 5.).



Slika 5. Vezno mjesto za D-manozu na FimH (iz 197)

Strukturni zahtjev FimH-a za α-konfiguraciju D-manoze, bilo u slobodnoj formi ili na nereducirajućem kraju glikana, kritičan je za upalu mokraćnog sustava, za kolonizaciju i invaziju epitela mokraćnog mjehura i nastanak unutarstanične bakterijske zajednice. Samo neki sojevi *Escherichia coli* su rezistentni na D-manozu (196,198).

FimH veže glikoproteinske receptore koji sadrže D-manozu i može posredovati u bakterijskom prianjanju na različite tipove stanica. FimH veže i manozu iz kvasca i posreduje u aglutinaciji kvasca i eritrocita. Primarni fiziološki recepor za FimH je uroplakin Ia - visoko manozilirani glikoprotein obilno prisutan na luminalnoj strani „kišobran“ stanica uroepitela. Ostali receptori za FimH osim uroplakina su: laminin bazalne membrane, CD48 molekule mišjih makrofaga i antigeni granulocitne membrane, leukocitne adhezijske molekule CD11 i CD18, sekretorni imunoglubulin, kolagen, fibronektin, glikoproteini sline, Tamm-Horsffalov

glikoprotein (173,184). Vezanje na uroplakin Ia inhibirano je s topljivim analogom receptora, D-manozom ili enzimskom deglikozilacijom uroplakina Ia (192).

Pokazano je da se blokiranjem interakcija FimH-receptor sprečava bakterijska adhezija na uroepitel mokraćnog mjehura, a time sprečava i upala (191). U blokiranju te interakcije najjače djeluju D-manoza i derivati D-manoze. Uklanjanjem druge -OH skupine sa D-manoze dovodi do 100 puta smanjenja afiniteta za FimH, dok D-glukoza koja je epimer D-manoze, veže 4000 puta slabije. Za galaktozu uopće nema afiniteta, a fruktoza se veže jače za FimH, ali ipak 15 puta slabije od D-manoze (191). Na tim se interakcijama temelji razvoj novih antiadhezivnih lijekova za sprečavanje upala mokraćnog sustava (199).

1.5. Antiadhezijska terapija

Zbog kronične prirode upala mokraćnog sustava i porasta rezistencije bakterija na antibiotike, kao i poremećaja vaginalne i intestinalne flore kod uzimanja antibiotika, sve se više nastoji pronaći drugačiji način profilakse i tretmana upala mokraćnog sustava. Istraživanja upućuju na različite prirodne supstance koje se mogu upotrijebiti u dugotrajnoj profilaksi rekurentnih upala mokraćnih putova kao što su: brusnica, borovnica, *Uva ursi*, vitamin A i C, citratne soli natrija i kalija, upotreba forskolina, probiotika, estrogena (200). Adhezija je preduvjet za bakterijsko preživljavanje i glavni korak u patogenezi. Sprečavanje adhezije u ranom stadiju nakon prodora mikroorganizma, moglo bi sprečiti bolest uzrokovanu tim mikroorganizmom. Blokiranje ili inhibicija topljivim ugljikohidratima ili njihovim analozima cilj je antiadhezijske terapije tih bolesti. Antiadhezijska terapija bi trebala blokirati početno prianjanje mikroorganizama na staničnu površinu i time sprečavati ili suprimirati upalu. Takva terapija je blaga i ekološki prihvatljiva. Kako ti agensi ne ubijaju patogene ni zaustavljaju rast patogena, ne dolazi do rezistencije na antiadhezijsku terapiju. Kako bi antiadhezijska terapija bila efektivna, potrebno je uzeti više tvari koji specifično inhibiraju svaki tip adhezina patogena ili jednu tvar koji pokriva široki spektar antiadhezijske aktivnosti. Razumijevanje mehanizma vezanja i definiranje adhezivnih molekula na površini bakterija (adhezini) kao i onih na membranama stanica domaćina (receptori), omogućuju nove pristupe u prevenciji bakterijskih upala (199).

1.5.1. Vrste antiadhezijske terapije

1. analog receptora - primarno za patogene koji se vežu na stanice preko ugljikohidratno-specifičnih adhezina (lektina). U tom slučaju, analog receptora je saharid koji je strukturno sličan onima na glikanskim strukturama glikoproteinskih ili glikolipidnih receptora za adhezin i time postaje kompetitivni inhibitor. Prepoznavanje posredovano ugljikohidratima ima glavnu ulogu u intreakciji stanica (201). Jedan od najbolje opisanih primjera te interakcije je prijanjanje bakterija na epitel. Prianjanje se inhibira u mnogim slučajevima s niskim koncentracijama monosaharida koji su normalni dijelovi staničnih površinskih glikokonjugata. Mnogi sojevi bakterija *Escherichie coli*, *Klebsiella spp.*, *Shigella spp.* te *Salmonella spp.* inhibirani su s D-manozom ili njenim derivatima (202).

Studije su potvrdile sposobnost saharida da spreče eksperimentalne upale uzrokovane različitim patogenim bakterijama kod različitih vrsta životinja. Samo je nekoliko kliničkih istraživanja provedeno na ljudima u kojima su koristili saharide kao antiadhezivnu terapiju (203-205),

2. analog adhezina - izolirana molekula adhezina bilo kao aktivna sintetička ili kao rekombinantna molekula, veže se za receptor i kompetitivno blokira adheziju bakterije,
3. inhibitori adhezije iz hrane - humano mlijeko, neke biljne tvari,
4. subinhibitorna i subletalna koncentracija antibiotika - davanje one koncentracije antibiotika koja sprečava stvaranje i ekspresiju bakterijskih adhezina,
5. razvoj cjepiva protiv bakterijskih površinskih komponenta koje su uključene u adheziju (171),
6. poticanje imunološkog sustava domaćina na stvaranje antiadhezinskih protutijela (202).

1.5.2. Ugljikohidrati kao antiadhezijska terapija

Istraživanja antiadhezijskih svojstava ugljikohidrata dovode do zaključka da su ugljikohidrati idealni kao antiadhezijska terapija jer su prirodni spojevi, mnogi od njih su sastavni dijelovi staničnih površina ili tjelesnih tekućina kao npr. humano mlijeko, lako su dostupni, nisu toksični i imunogeni, kod njihove primjene rjeđe su popratne pojave, na njih se ne razvija rezistencija kao na antibiotike, ne ubijaju patogene i ne sprečavaju njihov rast te je zagađenje okoliša njima minimalno (42,202-208).

Ugljikohidrati su prisutni posvuda i predstavljaju najzastupljeniju vrstu molekula u prirodi. Sve stanične površine presvučene su kompleksnim ugljikohidratima koji imaju ulogu i kao prepoznavajuće molekule za druge stanice te kao funkcionalne molekule. Oligosaharidi kao antiadhezivne molekule u majčinom mlijeku imaju ulogu kao neimunološka frakcija protiv gastrointestinalnih, respiratornih i upala mokraćnog sustava u prvoj godini života. Mnogi patogeni posjeduju proteine koji vežu ugljikohidrate što omogućuje vezanje patogenih mikroorganizama na stanicu i početak bolesti. To vezanje se inhibira u mnogim slučajevima s niskim koncentracijama ugljikohidrata. Pronađeno je da topljivi ugljikohidrati mogu sprečiti vezanje bakterija blokirajući adheziju i time sprečiti upalu u ranom stadiju, a da mogu odvojiti i već vezane bakterije. Ugljikohidrati su sigurni, neimunogeni, mogu poslužiti kao alternativa ili dodatak antibioticima, nisu baktericidni pa se rezistencija na njih ne razvija (206). Moguća korist od antiadhezijskih terapeutskih agensa je povećanje efekta standardnih antibiotika. Kad

se mikroorganizmi vežu za tkivo domaćina ili na inertne materijale kao npr. kateter, oni su manje osjetljivi na uništenje standardnim antibiotikom nego kad su u otopini. Ako se bakterija odvoji od stanične površine uz slobodne saharide i suspendira u tekućinu, postoji mogućnost da se uz upotrebu takvog antiadhezijskog sredstva doza antibiotika i duljina potrebne terapije može smanjiti, a sve u svrhu smanjenja nuspojava i smanjenja sve jače rezistencije bakterija na antibiotike (199).

1.6. Pregled dosadašnjih istraživanja

Na otkriću kako su FimH adhezini tipa 1 fimbrija bakterije *Escherichia coli* odgovorni za D-manoza-osjetljivu bakterijsku adheziju i na otkriću važnosti adhezije kao preduvjeta u kolonizaciji bakterija i invazije epitela u nastanku upale, nastojalo se naći terapeutsko sredstvo kako bi se sprečila ta adhezija (209,210).

U brojnim studijama kao efikasni inhibitori adhezije pokazali su se D-manoza i derivati D-manoze.

Pronađeno je kako se adhezija bakterija na stanice može mijenjati specifičnim ugljikohidratnim molekulama koje se natječu s epitelnim staničnim receptorima za bakterijska vezna mjesta i da je u toj inhibiciji važna α-konfiguracija D-manoze (147).

Upala mokraćnog mjehura kod miševa sa sojevima bakterije *Escherichia coli* koje izražavaju manoza osjetljive fimbrije je značajno smanjena prethodnom obradom s metil-α-manozidom, a nije bilo učinka kad je upotrijebljena glukoza. Ta spoznaja je omogućila razvoj antiadhezivnih lijekova na bazi ugljikohidrata za profilaktičku upotrebu kod upala uzrokovanih bakterijama. Saharidi su prikladni za tu namjenu jer malo je vjerojatno da su toksični i imunogeni s obzirom na to da su normalni sastavni dio stanične membrane (211).

Nađeno je da svi ugljikohidrati koji imaju hidroksilnu skupinu na ugljikovom atomu 2 u istoj konfiguraciji kao D-manoza (D-manitol, α-metil-D-manozid, manan kvasca), imaju inhibitorini efekt, dok oni s hidroksilnom skupinom na ugljikovom atomu 2 u suprotnoj konfiguraciji (D-glukoza, L-manoza, α-metil-D-glukoza, L-ramnoza, D-riboza, D-galaktoza, D-ksiloza, D-gliceraldehid, dihidroksiaceton) to nemaju. Efektivni inhibitor je i biljni lektin konkanavalin A. Inhibicija D-manozom osniva se na natjecanju sa receptorima na epitelnoj staničnoj površini i ta inhibicija ovisi o koncentraciji D-manoze i vremenu izloženosti (212).

I. Ofek i suradnici prvi su 1977. godine objavili kako je vezanje bakterije *Escherichia coli* na epitelne stanice posredovano manoznim ili receptorima nalik na D-manozu prisutnim na površini epitelnih stanica. Saturacijom veznih mjesta na bakterijskoj površini s ugljikohidratom, sprečava se vezanje bakterija na epitelne membranske receptore koji sadrže manozu. D-manoza i njeni derivati mogu se natjecati s receptorima na epitelu s ciljem uklanjanja vezanih mikroorganizama sa stanične površine. Na vezanje bakterije *Streptoccocus spp.* ti spojevi nisu imali utjecaja (147).

Sposobnost ugljikohidratnih spojeva da inhibiraju eksperimentalno izazvanu upalu mokraćnog mjehura kod pokusnih životinja uzrokovanu bakterijama koje sadrže lektin, pronađeno je 80-tih godina prošlog stoljeća (213). Ispitivanja su provedena na modelu upale

mokraćnih puteva miševa, a kao kompetitivni inhibitor adhezije bakterija *Escherichia coli* upotrebljen je metil-α-D-manopiranozid. Dokazano je da taj spoj ovisno o koncentraciji reverzibilno inhibira adheziju bakterija *Escherichia coli* i *Proteus mirabilis* na stanice mokraćnog mjehura. Inokulacija bakterija uz prisutnost tog spoja rezultiralo je u znatnom smanjenju broja bakteriuričnih miševa za razliku od metil-α-D-glukozida koji nije imao utjecaja na bakteriuriju.

Pokazano je također kako se vezanje bakterije *Escherichia coli* na epitelne stanice izolirane iz usne šupljine može isprati pomoću metil-α-D-manopiranozida (209). Inhibitorno djelovanje na adheziju bakterija *Escherichia coli* i *Salmonellae spp.*. na izolirane epitelne stanice mokraćnog mjehura pokazano je i za D-manozu. Dokazano je kako se vezanje različitih sojeva tih bakterija na epitelne stanice i na fagocite može inhibirati s D-manozom, dok L-fukoza i L-galaktoza nisu djelovali inhibitorno (210).

Ispitivanjima obavljenim na urinarnim, vaginalnim i analnim brisevima žena sa spolno-mokraćnim upalama, dokazano je kako D-manoza inhibira adheziju na epitelne stanice većine sojeva bakterija *Escherichia coli* koja sadrži adhezine osjetljive na manozu (214).

Kasnijim studijama na životinjama je dokazana inhibicija adhezije D-manozom *in vivo* (215).

Kod davanja 2,5 % i 10 % D-manoze intravezikalno, razina bakteriurije štakora se smanjila unutar jednog dana, a efikasnost je bila ovisna o koncentraciji (216).

Dokazano je kako se efekt inhibicije povećava kemijskom derivatizacijom. Derivati 4-metilumbeliferil-α-manozid i p-nitro-o-klorofenil-α-manozid imaju jači inhibitorni učinak od same D-manoze (217).

Na epitelu dušnika pilića pokazano je kako D-manoza i derivat metil-α-D-manopiranozid inhibiraju adheziju serotipova 01 i 078 *Escherichia coli* dok serotip 02 *Escherichia coli* ne inhibira. Nađen je i inhibitoni učnak D-manoze na adheziju bakterija *Pneumoccoccus spp.* i *Shigella spp.* te *Klebsiella spp.* (218).

Na uzorcima endometrija konja dokazano je da D-manoza i N-acetil-D-galaktozamin inhibiraju adheziju bakterija *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*, a samo D-manoza inhibira adheziju bakterije *Streptococcus zooepidermicus* (83).

Dokazano je i kako D-manoza inhibira vezanje tip 1 fimbrija bakterije *Escherichia coli* s Tamm-Horsffalovim proteinom (219). Slijede brojne studije *in vitro* koje sve potvrđuju antiadhezijsku ulogu D-manoze i njenih derivata (220,221) iako su neke pokazale da nema značajnog antiadhezijskog efekta već da promjena adhezijske sposobnosti ovisi o endogenim faktorima izlučivanja, prvenstveno o Tamm-Horsffalovom glikoproteinu (222).

D-manoza i heptil-α-D-manoza inhibiraju *in vitro* adheziju tipa 1 fimbrija bakterije *Escherichia coli*. Heptil-α-D-manoza ima jače inhibitorno djelovanje, smanjuje unutarstaničnu bakterijsku razinu kod miševa i inhibira stvaranje biofilma *in vitro* (192).

Jedno od najnovijih istraživanja pokazuje da postoji efikasna terapeutska mogućnost u tretmanu i prevenciji upala mokraćnog sustava. Transuretralnom kateterizacijom miševa dokazano je kako se bakterija *Escherichia coli* ne može vezati za uroplakin Ia uz prisustvo heptil-α-D-manoze. Jednom kad se heptil-α-D-manoza veže za FimH na tip 1 fimbrije, bakterija se ireverzibilno inhibira u svom vezanju za površinu mjehura i infekcija se smanjuje (221).

Najnovija istraživanja usmjerena su na sintezu molekula male molekularne težine nazvanih manozidi, prilagođenih za oralnu primjenu, koji su se pokazali uspješni u inhibiciji FimH tipa 1 fimbrija uropatogene *Escherichia coli* kod eksperimentalnih životinja (223).

Te i ostale studije pokazuju kako D-manoza specifični lektini imaju glavnu ulogu u sposobnosti raznih D-manoza specifičnih bakterija da uzrokuju eksperimentalne infekcije i to mehanizmom adhezije bakterija na površinu tkiva. Sve to čini i osnovu za mogućnost prevencije upale uz prikladne inhibitore adhezije (208,221,222).

1.7. Obrazloženje teme

Cilj ovog istraživanja je odrediti ulogu neantibiotske profilakse upala mokraćnog mjehura u usporedbi s profilaksom upala mokraćnog mjehura s preporučenim antibiotikom na broj rekurentnih upala mokraćnog mjehura kod žena koje su podložne tim upalama. U tu svrhu treba utvrditi ulogu neantibiotskog pripravka, ugljikohidrata D-manoze, u profilaksi klinički i bakteriološki potvrđenih akutnih nekompliciranih upala mokraćnog mjehura odraslih žena koje nisu trudne, a na temelju kliničkog i bakteriološkog odgovora. Cilj je utvrditi može li dnevno davanje D-manoze ženama koje boluju od rekurentnih upala mokraćnog mjehura smanjiti broj epizoda akutnih upala.

Hipoteze:

- D-manoza je učinkovita u profilaksi akutnih upala mokraćnog mjehura kod odraslih žena s učestalim ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u usporedbi s kontrolnom skupinom žena koje u svrhu profilakse dobivaju preporučeni antibiotik i u usporedbi s drugom kontrolnom skupinom žena koje nisu profilaktički tretirane.
- D-manoza smanjuje broj akutnih upala mokraćnog mjehura kod odraslih žena koje su podložne tim upalama.
- Tretman akutne upale mokraćnog mjehura preporučenim antibiotikom uz daljnje profilaktičko uzimanje D-manoze učinkovitiji je nego samo uzimanje antibiotika.
- Kod dnevnog uzimanja D-manoze rjeđe su popratne pojave u odnosu na dnevno uzimanje antibiotika u svrhu profilakse upale mokraćnog mjehura.

Zadaci:

- Utvrditi utjecaj D-manoze na broj rekurentnih upala mokraćnog mjehura kod žena koje imaju u anamnezi ponavljajuće upale mokraćnog mjehura, a na osnovi smanjenja bakteriurije i leukociturije kao mjere djelotvornosti terapije.
- Utvrditi utjecaj D-manoze na smanjenje učestalosti simptoma upale mokraćnog mjehura.
- Utvrditi broj rekurentnih epizoda upala mokraćnog mjehura, bakteriurije i leukociturije, učestalosti simptoma te utvrđivanje popratnih pojava u skupini ispitanica koje dnevno uzimaju D-manozu u usporedbi sa skupinom ispitanica koje dnevno uzimaju preporučeni antibiotik i u usporedbi sa skupinom ispitanica koje nisu profilaktički tretirane.

- Definirati dozu D-manoze koja je uspješna u profilaksi akutne upale mokraćnog mjehura
- Odrediti koncentraciju D-manoze u krvi i mokraći zdravih ispitanika.
- Odrediti vrijeme kada D-manoza, nakon uzimanja jednokratne doze, u krvi dostigne najvišu koncentraciju, odrediti vrijeme poluživota D-manoze u krvi i vrijeme kad se D-manoza nakon uzimanja jednokratne doze pojavljuje u mokraći.
- Odrediti koncentraciju D-manoze u mokraći kod bolesnica s akutnom upalom mokraćnog mjehura koje uzimaju D-manozu.
- Odrediti utjecaj D-manoze na koncentraciju glukoze u serumu kod zdravih ispitanika.
- Odrediti utjecaj D-manoze na promjenu biokemijskih parametara funkcije jetre i bubrega u serumu kod zdravih ispitanika.
- Pratiti eventualno prisutne popratne pojave i moguće toksično djelovanje kod uzimanja različitih doza D-manoze kod zdravih ispitanika.
- Odrediti utjeće li uzimanje D-manoze na promjenu biokemijskih parametara upale određivanjem sedimentacije eritrocita, broja leukocita u krvi, koncentracije C–reaktivnog proteina u serumu i koncentracije interleukina 6 u mokraći.

2. Metode

U ovom istraživanju kao sudionici ispitivanja sudjelovale su pacijentice koje su se javile u Ambulantu za urologiju Opće bolnice Zabok i u Hitni bolnički prijem, kao i pacijentice koje su se javile izabranom liječniku primarne zdravstvene zaštite Doma zdravlja Krapinsko-zagorske županije sa simptomima akutne upale mokraćnog mjehura.

Ispitanice koje su svojevoljno odlučile sudjelovati u istraživanju, temeljito su upoznate s ciljem i svrhom istraživanja te s cjelokupnim postupkom. Od svake ispitanice koja je željela sudjelovati pribavio se informirani pristnak.

Istraživanje je bilo strogo ograničeno na predloženo istraživanje, a identitet ispitanica bio je sačuvan prema načelu profesionalne tajne. Tijekom istraživanja pridržavalo se načela dobre kliničke prakse i etičkih načela prema Helsinškoj deklaraciji. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Opće bolnice Zabok i Etičko povjerenstvo Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu. Planirano vrijeme istraživanja bilo je od kraja 2009. do početka 2012. godine.

2.1. Ispitanici

Kriteriji za uključivanje u ispitivanje:

- ženski spol
- dob: više od 18 godina i manje od 80 godina
- prisutnost dva ili više simptoma akutne upale mokraćnog mjehura
- prisutnost najmanje 10^3 bakterija u čistom srednjem mlazu mokraće i izoliran uzročnik
- prisutnost leukociturije (≥10 leukocita/mm^3) i/ili prisutnost nitrita u mokraći
- u anamnezi bolesnice najmanje dvije epizode upale mokraćnog mjehura u posljednjih 6 mjeseci i/ili više od tri epizode upale mokraćnog mjehura u posljednjih godinu dana
- početak simptoma manje od 72 sata prije početka ispitivanja.

Kriteriji za isključivanje iz ispitivanja:

- muški spol
- dob mlađa od 18 i starija od 80 godina
- trudnice i dojilje
- simptomi bolesti koje traju duže od 3 dana
- prisutnost povišene tjelesne temperature ≥38°C, mučnine, povraćanja

- povišeni biokemijsko-hematološki parametri upale: CRP (≥10 mg/L), leukociti u krvi (≥12 G/L) i sedimentacija eritrocita (≥15 mm/3,6ks)
- prisutnost simptoma upale gornjega dijela mokraćnog sustava i komplikacija upale
- dijagnoza bolesti spolnog sustava
- bolesnice s funkcionalnim ili anatomskim abnormalnostima mokraćnog sustava (policistična bubrežna bolest, nefolitijaza, neurogeni mjehur, prisutnost katetera, tumori)
- šećerna bolest, osobe s povišenom koncentracijom glukoze, ureje, kreatinina, mokraćne kiseline, Na i K u serumu
- druge kronične bolesti
- osobe koje su unatrag mjesec dana uzimale antibiotike i pomoćne ljekovite pripravke i koje su bile hospitalizirane
- osobe koje uzimaju estrogene
- osobe koje su alergične na lijekove
- izolirana miješana mikrobiološka kultura (više od dva izolata).

Dijagnoza akutne simptomatske upale mokraćnog mjehura bazirala se na uvjetima:

- leukociturija - ≥10 leukocita/mm^3
- najmanje 10^3 bakterija po mL mokraće
- izolacija uzročnika upale
- prisutnost dva ili više simptoma: učestalo bolno mokrenje, mokrenje malih količina mokraće, neodgodiva potreba za mokrenjem, suprapubična bol, osjećaj pečenja kod mokrenja, nemogućnost zadržavanja mokraće, mikro- ili makrohematurija, mokrenje noću, promijenjen i neugodan miris mokraće, zamućenost mokraće.

Svim bolesnicama koje su zadovoljavale uvjete uključenja u studiju uzeti su demografski i anamnestički podaci: dob, obrazovanje, indeks tjelesne mase (eng. *body mass indeks*=BMI) kg/m^2, trajanje simptoma prethodne upale, povijest prethodnih upala, spolna aktivnost, pre- ili postmenopauza. Klinički su pregledane u Ambulanti za urologiju od strane liječnika specijalista urologa.

Na dan prvog posjeta liječniku (dan 0), svakoj bolesnici uzorkovana je krv za biokemijske i hematološke pretrage iz kubitalne vene (ukupno 13 mL) u epruvetu bez antikoagulansa, u epruvetu s antikoagulansom K_3EDTA i u epruvetu s antikoagulansom Na

citratom. Dale su uzorke srednjeg mlaza mokraće, nakon toalete vanjskog spolovila te nakon što barem četiri sata nisu mokrile, u sterilnu posudicu za biokemijsko i mikrobiološko ispitivanje mokraće.

2.2. Metode

Uzorci krvi i mokraće obrađivali su se u Odjelu za medicinsku biokemiju Opće bolnice Zabok. Određivani su biokemijski parametri u serumu: C-reaktivni protein (CRP), glukoza, ureja, kreatinin, mokraćna kiselina, ukupni bilirubin, aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), alkalna fosfataza (AP), gama-glutamiltransferaza (GGT), albumin, natrij i kalij na biokemijskom analizatoru Olympus AU 640 uz IFCC preporučene postupke određivanja; interleukin 6 (IL-6) u uzorku druge jutarnje mokraće pomoću test paketa IL-6 Cobas, Roche, metodom ECLIA (eng. *Elelctrochemiluminescence Immunoassay*) na analizatoru Modular Analytics E 170, Roche; hematološki parametri: kompletna krvna slika na hematološkom analizatoru Sysmex XT-1800i, sedimentacija eritrocita na aparatu za brzu sedimentaciju Ves Matic 30, Diesse; kvalitativna analiza mokraće pomoću automatiziranog test-strip čitača Urisys 1800, Roche pomoću test-traka Combur 10 Test M, Roche. Traka se uronila u mokraću te očitavala nakon točno određenog vremena pomoću čitača test-trake metodom reflektometrije, a rezultat se izražavao arbitrarnim jedinicama od 0 do 3+. Pozitivan test na leukocitnu esterazu, prisutnost eritrocita u mokraći i nitrita bio je definiran s bilo kojom promjenom boje nakon 1 minute. Standardizirani sediment mokraće odredio se svjetlosnom mikroskopijom (21). Koncentracija D-manoze u krvi i mokraći određena je enzimskom metodom upotrebom test reagensa Megazyme, Irska pomoću enzima heksokinaze, fosfoglukoza-izomeraze i fosfomanoza-izomeraze mjerenjem absorbancije na 340 nm pomoću spektrofotometra Pye Unicam SP6-550 uz prethodnu reakciju s glukoza-6-fosfat dehidrogenazom kako bi se uklonila prisutna glukoza u uzorku (224).

Materijali i metode koje su se rabile u prikupljanju i obradi uzoraka krvi i mokraće te analitička metodologija dio su standardnih evaluiranih materijala, postupaka i metoda koje se rabe u svakodnevnom laboratorijskom radu (21).

Svi uzorci za mikrobiološko testiranje obrađeni su unutar 2 sata ili unutar 24 sata ako je uzorak bio pohranjen na +4°C.

U Mikrobiološkom laboratoriju Zavoda za javno zdravstvo KZŽ-e određivan je broj klica u mokraći i identifikacija bakterija.

Uzorci mokraće inokulirani su na CLED agar (eng. *Cystine lactose electrolyte deficient*), podlogu za rast i izolaciju prvenstveno patogena iz mokraće. Inokulacija uzoraka radila se kalibriranom ezom od 10 µl, a inkubacija uzoraka 18-24 sata u termostatu na 36-37ºC.

Porasle bakterijske kolonije kvantificirane su kao broj CFU/ml. Identifikacija kolonija vršila se bojanjem po Gramu, testovima fermentacije šećera, utlizacijom citrata, ureaza-testom, oksidaza-testom i katalaza-testom. Porast više od dvije vrste bakterija nije se obrađivao.

Antimikrobna osjetljivost ispitana je standardnom Kirby-Bauer disk difuzijskom metodom na Mueller Hinton agaru (MHA) s bakterijskom suspenzijom 0,5 % McFarland-a, inkubacijom u termostatu na 36-37ºC u vremenu od 18-24 sata. Ispitivana je osjetljivost na ampicilin, amoksicilin+klavulanska kiselina, cefaleksin, cefuroksim, ceftibuten, gentamicin, sulfametoksazol-trimetoprim, ciprofloksacin, norfloksacin, nitrofurantoin. Sve izolirane enterobakterije testirane su na ESBL produkciju (diskovi ceftriaksona, ceftazidima i amoksicilin+klavulanske kiseline) (19).

2.3. Antibiotska terapija

Sve bolesnice su za početnu akutnu upalu dobile preporučenu antibiotsku terapiju i to ciprofloksacin (Cipromed®, Pliva; Ciprinol®, Krka; Citeral®, Alkaloid ili Ciflox®, Belupo) u dozi od 500 mg 2 puta na dan kroz 7 dana ili norfloksacin (Nolicin®, Krka) 400 mg 2 puta na dan kroz 7 dana (1).

2.4. Profilaktička terapija

Na dan drugog posjeta liječniku (9. do 11. dan nakon početka terapije antibiotikom) bolesnicu je ponovo pregledao liječnik, uzimali su se podaci o simptomima i eventualnim popratnim pojavama i dale su uzorak mokraće za biokemijsku i mikrobiološku analizu.

U uzorcima mokraće odredila se prisutnost leukocita, eritrocita, nitrita, bakterija i radila se izolacija uzročnika.

Po prestanku antibiotske terapije bolesnice su podijeljene u tri skupine. Randomizacija se obavila sustavnim izborom:

1. Pokusna skupina - dobiva pripravak D-manoze u obliku praška za *per os* upotrebu U-TRACT kao prirodni pripravak izoliran iz voća proizvođača Progressive Laboratories, Texsas, u dozi-od 1 čajne žlice (2 g) navečer otopljene u 200 mL vode. Upotrebu ovog pripravaka kao dodatka prehrani odobrilo je Rješenjem Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi Republike Hrvatske; broj Rješenja: 534-08-1-2/2-08-7 od 04.04.2008.
2. Kontrolna skupina 1 - dobiva preporučenu antibiotsku profilaksu nitrofurantoin (Ninur®, Belupo) u dozi od 50 mg navečer (1).
3. Kontrolna skupina 2 - ne dobiva nikakvu daljnju profilaktičku terapiju.

Sve ispitanice pratile su se 60 dana. Potreban broj ispitanica u pokusnoj i kontrolnim skupinama bio je 100.

Nakon 60 dana ili po ponovnoj pojavi simptoma prije 60. dana, ispitanice su se javile liječniku.

2.5. Praćenje učinka profilaktičke terapije 60 dana

Treći posjet liječniku je 60. dan nakon početka davanja profilakse kada je nakon ponovnog pregleda, davanja podataka o simptomima i popratnim pojavama, bolesnica dala uzorak mokraće za biokemijsko i mikrobiološko testiranje.

U uzorcima mokraće odredila se prisutnost leukocita, eritrocita, nitrita, bakterija i radila se izolacija uzročnika.

Ako se u bilo koje vrijeme u toku praćenja pojavilo pogoršanje osnovne bolesti, pogoršanje simptoma, jake popratne pojave ili sumnja na akutni pijelonefritis, bolesnica se odmah trebala javiti liječniku.

Glavni klinički evaluacijski kriterij:

- ponovna pojava akutne upale mokraćnog mjehura.

Kriteriji izlječenja:

- nestanak bakteriurije i leukociturije
- sterilna kultura mokraće
- izostanak simptoma akutne upale mokraćnog mjehura.

U svakoj ispitivanoj skupini bilo je potrebno odrediti:

- pojavu ponovne akutne upale mokraćnog mjehura
- prisutnost leukociturije, bakteriurije, hematurije i prisutnost nitrita u mokraći
- vrstu i količinu uzročnika
- prisutnost simptoma bolesti
- vrstu simptoma
- popratne pojave.

2.6. Određivanje koncentracije D-manoze u serumu i mokraći zdravih ispitanica

Za određivanje koncentracije D-manoze u serumu i u mokraći i utvrđivanja popratnih pojava uzimanja D-manoze u skupini zdravih ispitanika ženskog spola starijih od 18 godina, a koje unatrag godinu dana nisu imale bakterijsku upalu mokraćnih puteva ni uzimale antibiotike ni estrogene i koji nikada do tada nisu uzimali D-manozu, dana je jednokratna doza D-manoze peroralno od 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode i koncentracija D-manoze određena je u serumu i mokraći odmah nakon uzimanja te nakon 1., 3. i 6. sata poslije uzimanja. U svim uzorcima krvi određena je koncentracija glukoze, albumina, ureje, kreatinina, ukupnog bilirubina i katalitička koncentracija AST, ALT, AP i GGT u serumu. Time se pratio utjecaj jednokratne doze D-manoze na koncentraciju glukoze u serumu te da li dolazi do promjena biokemijskih parametara funkcije jetre i bubrega. Potreban broj ispitanika bio je 30.

Koncentracija D-manoze u krvi i mokraći određena je enzimskom metodom. Rezultati su izraženi kao μmol/L manoze u serumu i mokraći.

Izračunalo se vrijeme poluživota (τ) D-manoze u krvi prema formuli:

$\tau = - \ln 2 \times t / \ln (c/c^0)$

gdje je t = vrijeme, c = koncentracija u određenom vremenu, a c^o = početna koncentracija. Ispitanice su dale podatke o eventualnim popratnim pojavama kod uzimanja D-manoze.

Za utvrđivanje eventualnih popratnih pojava različitih doza D-manoze u skupini zdravih ispitanica ženskog spola starijih od 18 godina, a koje unatrag godinu dana nisu imale bakterijsku upalu mokraćnih puteva ni uzimale antibiotike ni estrogene i koje nikada do tada

nisu uzimali D-manozu, dane su dvije različite jednokratne doze. 12 ispitanica dobilo je jednokratnu dozu od 0,15 g/kg tjelesne težine, a 3 ispitanice dobile su dozu od 0,2 g/kg tjelesne težine D-manoze otopljene u 200 mL vode ujutro natašte nakon 12-satnog posta.

Koncentracija D-manoze određena je:

- u serumu prije davanja doze i nakon 1., 2., 3., 4., 5., i 7. sata
- u mokraći prije davanja doze te u uzorcima mokraće danim u intervalima od 0 do 3, 3 do 6, 6 do 12 i 12 do 24 sata nakon davanja doze.

Ispitanice su dale podatke o eventualnim popratnim pojavama kod uzimanja D-manoze.

2.7. Određivanje koncentracije D-manoze u serumu i mokraći bolesnica koje uzimaju D-manozu

U skupini ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje uzimaju D-manozu određena je koncentracija D-manoze u serumu i mokraći nakon peroralnog davanja 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode odmah nakon davanja te nakon 1., 3. i 6. sata poslije uzimanja. Potreban broj ispitanika bio je 30.

2.8. Određivanje hematoloških i biokemijskih parametara upale kod bolesnica koje uzimaju D-manozu

U skupini ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje uzimaju D-manozu određeni su hematološki i biokemijski parametri upale – sedimentacija eritrocita, broj leukocita u krvi, koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) u serumu i koncentracija interleukina 6 (IL-6) u uzorku druge jutarnje mokraće prije početka uzimanja D-manoze i nakon 7 dana uzimanja doze od 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode (kod nekompliciranog cistitisa, očekuje se da se do 7. dana liječenja sanira upala i normaliziraju upalni parametri). Potreban broj ispitanika bio je 30.

2.9. Statistička obrada podataka

Normalnost raspodjela varijabli izraženih na intervalnoj mjernoj ljestvici provjeravana je Kolmogorov-Smirnov testom. Kod varijabli čije se distribucije nisu statistički značajno razlikovale od normalne distribucije korišteni su parametrijski testovi (t-test za zavisne uzorke, jednosmjerna ANOVA za zavisne uzorke) te aritmetička sredina i standardna devijacija kao mjere centralne tendencije i raspršenja rezultata.

Za varijable za koje je utvrđeno da postoje statistički značajna odstupanja raspodjele od teorijski očekivane normalne raspodjele, korišteni su neparametrijski testovi (Fisherov egzaktni test, hi-kvadrat test, Kruskal-Wallis test, Mann-Whitney U test) i pripadajuće mjere centralne tendencije i raspršenja – medijan i interkvartilno raspršenje, a za ispitivanje značajnosti razlika među skupinama korištena je *post-hoc* analiza.

Kako bi se ispitalo postoji li povezanost ponovne upale mokraćnog mjehura i pripadnosti skupini korištena je logistička regresijska analiza i računati su omjeri izgleda.

Kod utvrđivanja statističke značajnosti povezanosti (korelacije) dvije kontinuirane varijable korišten je Spearmanov koeficijent korelacije ranga (ρ). Ako je vrijednost koeficijenta 0 to znači da među varijablama nema povezanosti – da se iz vrijednosti jedne varijable ne može zaključiti ništa o vrijednosti druge varijable. Vrijednosti do 0,3 upućuju na nisku korelaciju, od 0,3-0,6 na srednju korelaciju, dok vrijednosti od 0,6 i više upućuju na visoku korelaciju među varijablama.

Razina statističke značajnosti (p) određena je s vrijednosti $p<0,05$, osim kod *post-hoc* analiza gdje je značajnost bila određena prema formuli: 0,05/n, gdje n predstavlja broj uspoređivanih grupa prije *post-hoc* analize.

Svi su testovi provedeni korištenjem računalnog programa za statističku obradu podataka SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) (225).

3. Rezultati

3.1. Rezultati profilaktičke terapije

Sociodemografski podaci ispitanica

U istraživanju je sudjelovalo ukupno 308 žena koje su imale dijagnozu akutne nekomplicirane upale mokraćnog mjehura, a koje su imale više od dvije epizode akutne upale mokraćnog mjehura u posljednjih 6 mjeseci, odnosno više od tri epizode akutne upale mokraćnog mjehura u posljednjih 12 mjeseci. Na temelju postavljenih kriterija za uključivanje u istraživanje i nakon svojevoljnog pristanka, u studiju su uključene pacijentice koje su prije početka ispitivanja unatrag 72 sata imale najmanje dva simptoma akutne upale mokraćnog mjehura i koje su imale najmanje 10^3 bakterija u mL mokraće dobivene čistim srednjim mlazom, izoliran uzročnik upale i prisutnu leukocituriju ≥10 leukocita/mm^3 i/ili pozitivne nitrite u mokraći. Na dan prvog dolaska liječniku (dan 0) svim bolesnicama uzeti su anamnestički i demografski podaci, klinički su pregledane, uzorkovana im je krv za biokemijske i hematološke pretrage i uzet je uzorak mokraće za biokemijsko i mikrobiološko testiranje.

U prosjeku (medijan i interkvartilno raspršenje) je dob ispitanica bila 49 godina (20 do 79 godina). Medijan (interkvartilno raspršenje) u pokusnoj skupini (terapija D-manozom) iznosio je 49 godina (38-56 godina), u prvoj kontrolnoj skupini (terapija nitrofurantoinom) 48 godina (29-58 godine) te u drugoj kontrolnoj skupini (bez profilaktičke terapije) 52 godine (38-62 godine). Razlike među skupinama prema dobi testirane Kruskal-Wallis testom bile su statistički značajne (p=0,046). *Post-hoc* analizom utvrđeno je da je statistički značajna bila samo razlika između prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,018). U drugoj kontrolnoj skupini ispitanice su starije nego u prvoj kontrolnoj skupini.

U ukupnom uzorku najveći broj ispitanica imao je srednju stručnu spremu 159/308 (51,6%). Hi-kvadrat testom utvrđeno je da se pokusne skupine nisu statistički značajno razlikovale prema razini obrazovanja (p=0,493) pa je i eventualnu povezanost postignute razine obrazovanja s glavnim ishodima ovog istraživanja bilo opravdano zanemariti u interpretacijama rezultata (tablica 1.).

Tablica 1. Ispitanice prema dobi i obrazovanju

	Pokusna		Kontrolna1		Kontrolna 2		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	p
Dob							
do 34	19	(18,4)	37	(35,9)	20	(19,6)	**0,046**
35 – 44	24	(23,4)	7	(6,8)	17	(16,7)	
45 – 54	21	(20,4)	29	(28,2)	15	(14,7)	
55 – 64	21	(20,4)	14	(13,6)	28	(27,5)	
65 i više	18	(17,5)	16	(15,5)	22	(21,6)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Obrazovanje							
oš	6	(5,8)	10	(9,7)	12	(11,8)	0,493
sss	55	(53,4)	58	(56,3)	46	(45,1)	
všs	34	(33,0)	27	(26,2)	34	(33,3)	
vss	8	(7,8)	8	(7,8)	10	(9,8)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

KRATICE: oš= osnovna škola; sss= srednja stručna sprema; všs= viša stručna srema; vss= visoka stručna sprema

Anamnestički podaci ispitanica

Spolno aktivno bilo je 216/308 (70,1 %) ispitanica. Od toga je u pokusnoj skupini bilo njih 69/103 (67 %), u prvoj kontrolnoj skupini 79/103 (76,7 %) te u drugoj kontrolnoj skupini 68/102 (66,7%). S obzirom na spolnu aktivnost, ispitanice se nisu statistički značajno razlikovale po skupinama (hi-kvadrat test, p=0,203).

U premenopauzi su se nalazile 162/308 (52,6 %) ispitanice, odnosno u postmenopauzi njih 146/308 (47,4 %). Prema skupinama, u premenopauzi u pokusnoj skupini bila je 51 od 103 (41,5 %) ispitanice, u prvoj kontrolnoj skupini 61 od 103 (59,2 %) ispitanice te u drugoj kontrolnoj skupini 50 od 102 (49 %) ispitanica. Razlike u skupinama prema pre/post menopauzi nisu se bile statistički značajne (hi-kvadrat test, p=0,255) (tablica 2.).

Medijan (interkvartilno raspršenje) indeksa tjelesne mase cjelokupnog uzorka bio je 28,5 (24,8-33,4), što znači da su ispitanice u prosjeku bile prekomjerne tjelesne težine. U pokusnoj skupini medijan (interkvartilno raspršenje) indeksa tjelesne mase bio je 28,5 (22,5-33,2), u kontrolnoj skupini jedan 28,5 (25,8-33,6) te kod kontrolne skupine dva 28,6 (24,8-34,5). Prema tome, u sve tri skupine ispitanice su u prosjeku bile prekomjerne tjelesne težine.

Razlike među skupinama prema indeksu tjelesne mase nisu bile statistički značajne (Kruskal-Wallis test, p=0,241).

Ispitanice su unatrag godine dana u prosjeku (medijan i interkvartilno raspršenje) imale 2 (1-5) upale. Podaci su dobiveni ili samoizjavom ili iz medicinske dokumentacije. U pokusnoj skupini medijan (interkvartilno raspršenje) je iznosio 2 (2-5), u prvoj kontrolnoj skupini 2 (1-5) i drugoj kontrolnoj skupini 2 (1-5). Provedbom Kruskal-Wallis testa utvrđene su statistički značajne razlike među skupinama (p=0,044). *Post-hoc* analizom dobiveno je da je statistički značajna razlika samo između prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,013).

Simptomi upale prije prvog posjeta liječniku (medijan i interkvartilno raspršenje) trajali su u prosjeku 2 dana (1-2 dana). Pritom je medijan (interkvartilno raspršenje) za pokusnu skupinu iznosio 1 dan (1-2 dana), za prvu kontrolnu skupinu 2 dana (1-2 dana) te za drugu kontrolnu skupinu 2 dana (1-2 dana). Spomenute vrijednosti prema skupinama nisu se statistički značajno razlikovale (Kruskal-Wallis test, p=0,129) (tablica 3.).

Tablica 2. Anamnestički opis ispitanica prema skupinama, 1.dio

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	p
Spolna aktivnost							0,203
da	69	(67,0)	79	(76,7)	68	(66,7)	
ne	34	(33,0)	24	(23,3)	34	(33,3)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Menstruacija							0,255
da	51	(49,5)	61	(59,2)	50	(49,0)	
ne	52	(50,5)	42	(40,8)	52	(51,0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Tablica 3. Anamnestički opis ispitanica prema skupinama, 2.dio

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		
	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	p
BMI	28,5	(22,5-33,2)	28,5	(25,8-33,6)	28,6	(24,8-34,5)	0,241
Simptom/dan	1	(1-2)	2	(1-2)	2	(1-2)	0,129
Prethodne upale	2	(2-5)	2	(1-5)	2	(1-5)	**0,044**

KRATICE: BMI= indeks tjelesne mase (eng. *body mass index*), IQR= inerkvartilno raspršenje

Simptomi prije liječenja

Simptome je imalo 299 (97 %) ispitanica. Najčešće navedeni simptomi bili su: otežano i bolno mokrenje (disurija), učestalo mokrenje, neodgodiva potreba za mokrenjem, suprapubična bol, pečenje kod mokrenja, nemogućnost zadržavanja mokraće. Rjeđe su bili prisutni simptomi hematurija i nokturija. Kako bi ustanovili jesu li skupine izjednačene prema početnim simptomima ispitanica, testirane su razlike među skupinama hi-kvadrat testom. Test je pokazao kako nema statistički značajne razlike (p=0,352) među skupinama s obzirom na prisutnost simptoma.

Pretrage krvi prije liječenja

Svim ispitanicama u svrhu uključenja u ispitivanje nakon uzorkovanja krvi i mokraće napravljene su analize krvi: kompletna krvna slika, sedimentacija eritrocita, koncentracija C-reaktivnog proteina, glukoze, ureje, kreatinina, mokraćne kiseline, natrija i kalija u serumu. Kruskal-Wallis testom nisu pronađene statistički značajne razlike između skupina u rezultatima tih pretraga. Svi rezultati određivanih biokemijskih parametara bili su unutar referentnog raspona za odrasle ženske osobe (tablica 4.).

Tablica 4. Pretrage krvi prema skupinama prije liječenja

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	
glukoza mmol/L	5,5	(4,7-6,1)	5,4	(4,4-6,0)	5,8	(4,0-6,2)	0,663
ureja mmol/L	3,9	(3,2-7,8)	4,1	(3,4-7,2)	5,0	(4,0-8,0)	0,720
kreatinin µmol/L	97	(82-103)	100	(77-104)	102	(62-110)	0,800
mokraćna kiselina µmol/L	295	(200-388)	303	(221-356)	287	(195-351)	0,560
natrij mmol/L	144	(139-150)	140	(137-149)	142	(136-150)	0,600
kalij mmol/L	4,1	(3,8-5,0)	4,0	(3,7-4,9)	4,3	(3,9-5,0)	0,680

KRATICE: IQR= inerkvartilno raspršenje

Od biokemijskih i hematoloških parametara upale ispitanice su u prosjeku (medijan i interkvartilno raspršenje) imale koncentraciju C-reaktivnog proteina u serumu 3,8 mg/L (3,8-8,5), sedimentacija eritrocita je iznosila 7 mm/3,6ks (5-14) dok je broj leukocita u krvi bio 7,2 G/L (5,5-10,5). Između skupina nisu pronađene statistički značajne razlike u koncentraciji C-reaktivnog proteinu u serumu (Kruskal-Wallis test, p=0,663), sedimentaciji eritrocita (Kruskal-Wallis test, p=0,803), niti u broju leukocita u krvi (Kruskal-Wallis test, p=0,830) (tablica 5.).

Tablica 5. Pretrage krvi prema skupinama prije liječenja

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	Medijan	(IQR)	
CRP mg/L	4,5	(2,5-7,8)	3,6	(2,2-8,9)	3,8	(2,5-8,1)	0,663
SE mm/3,6ks	7	(5-14)	8	(5-14)	7	(5-13)	0,803
Lkc G/L	7,4	(5,6-11,4)	7,0	(5,5-10,5)	7,1	(5,4-10,5)	0,830

KRATICE :IQR= inerkvartilno raspršenje, CRP= C-reaktivni protein, SE= sedimentacija eritrocita, Lkc= broj leukocita u krvi

Koncentracija C-reaktivnog proteina u serumu unutar referentnog intervala (<5 mg/L u serumu) imalo je 165 od 308 (53,6 %) ispitanica, dok je kod preostalih 143 (46,4 %) ispitanica koncentracija bila iznad referentnog intervala (>5 mg/L u serumu).

Broj leukocita u krvi unutar referentnog raspona (3,3-9,3 G/L u krvi) imalo je 200 od 308 (64,9 %) ispitanica, dok je broj leukocita u krvi ispod donje granice referentnih

vrijednosti (<3,3 G/L) imalo 7 (2,3 %), a iznad gornje granice referentnih vrijednosti (>9,3 G/L) 101 (32,8 %) ispitanica.

Sedimentaciju eritrocita u krvi unutar referentnog raspona imalo je 51/308 (16,6 %) ispitanica, a iznad gornje granice referentnih vrijednosti 257 (83,4 %) ispitanica. Iako su ispitanice imale vrijednosti određivanih parametara iznad gornje granice referentnih vrijednosti, obuhvaćene su daljnjim istraživanjem jer su te vrijednosti još bile prihvatljive po kriterijima uključivanja u ispitivanje.

Skupine se nisu statistički značajno razlikovale prema koncentraciji C-reaktivnog proteina u serumu (hi-kvadrat test, p=0,978), broju leukocita (hi-kvadrat test, p=0,416) niti prema sedimentaciji eritrocita u krvi (hi-kvadrat test, p=0,100) (tablica 6.).

Tablica 6. Pretrage krvi prema skupinama prije liječenja

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
CRP							0,978
normalno	55	(53,4)	56	(54,4)	54	(52,9)	
iznad RV	48	(46,6)	47	(45,6)	48	(47,1)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Leukociti							0,416
ispod RV	3	(2,9)	4	(3,9)	0	(0)	
normalno	65	(63,1)	66	(64,1)	69	(67,6)	
iznad RV	35	(34,0)	33	(32,0)	33	(32,4)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
SE							0,100
normalno	17	(16,5)	15	(14,6)	19	(18,6)	
iznad RV	86	(83,5)	88	(85,4)	83	(81,4)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

KRATICE: CRP= C-reaktivni protein, SE= sedimentacija eritrocita; RV= referentna vrijednost

Pretrage mokraće prije liječenja

Sve ispitanice 308/308 (100 %) uključene u istraživanje imale su upalu mokraćnog mjehura potvrđenu bakteriurijom i leukociturijom.

Ispitanice su imale (medijan i interkvartilno raspršenje) 10^4 CFU/mL (10^4-10^5 CFU/mL) bakterija u čistom srednjem mlazu mokraće. S obzirom na uzročnika upale pokazalo se kako je najučestalija bakterija *Escherichia coli* koju je imalo 236/308 (76,6 %) ispitanica. 50 (21,1 %) ispitanica s ovim uzročnikom imale su 10^3 CFU/mL, 112 (47,5 %) ispitanica 10^4 CFU/mL, a 74 (31,4 %) $\geq 10^5$ CFU/mL bakterija u mokraći.

Ostale bakterije u mokraći su bile prisutne u manjoj mjeri, pa je tako *Enterococcus faecalis* imalo 17/308 (5,5 %) ispitanica, *Klebsiella pneumoniae* 12/308 (3,9 %,) *Proteus mirabilis* 7/308 (2,3 %), *Streprococcus agalactiae* 8/308 (2,6 %) te *Citobacter freundi* 4/308 (1,3 %) ispitanice.

Od 308 ispitanica 24 (7,8 %) ih je uz bakterije *Escherichia coli* imalo i drugu vrstu bakterije. Tako je uz bakteriju *Escherichia coli* 14 ispitanica imalo i bakteriju *Streprococcus agalactiae*, odnosno njih 10 i bakteriju *Enterococcus faecalis.*

Uzmemo li u obzir rezultate spomenutih kultura s po dva izolirana uzročnika, *Escherichia coli* bila je prisutna kao uzročnik kod 258/308 (83,8 %) ispitanica. Najveći broj ispitanica, njih 180 (69,8 %), imalo je 10^4 CFU/mL bakterija u čistom srednjem mlazu mokraće.

Svih 308 od 308 ispitanica u mokraći je imalo pozitivne leukocite određene test-trakom. Pozitivne nitrite u mokraći imalo je 149/308 (48,4 %) ispitanica, a pozitivne eritrocite njih 254/308 (82,5 %). Medijan broja leukocita (interkvartilno raspršenje) iznosio je 55 L/mm3 (30-90) leukocita.

Nisu dobivene statistički značajne razlike između skupina s obzirom na vrstu bakterije (hi-kvadrat test, p=0,982), broj bakterija (Kruskal-Wallis test, p=0,833), broj leukocita (L/mm^3) (Kruskal-Wallis test, p=0,811), pozitivne eritrocite (Kruskal-Wallis test, p=0,839), pozitivne nitrite (Kruskal-Wallis test, p=0,895), niti pozitivne leukocite u mokraći (Kruskal-Wallis test, p=0,983) (tablica 7. i 8.).

Tablica 7. Pretrage mokraće prema skupinama prije liječenja (1.dio)

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	p
Bakterije CFU/mL	10^4	(10^4-10^5)	10^4	(10^4-10^5)	10^4	(10^4-10^5)	0,833
Leukociti/mm^3	55	(25-86)	55	(40-90)	50	(30-90)	0,811

KRATICE: IQR= inerkvartilno raspršenje

Tablica 8. Pretrage mokraće prema skupinama prije liječenja (2.dio)

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	p
Vrsta bakterije							0,982
Escherichia coli	81	(78,6)	78	(75,7)	77	(75,5)	
ostale	22	(21,4)	25	(24,3)	25	(24,5)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	103	(100)	
Leukociti							0,983
0	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
1+	19	(18,4)	17	(16,5)	20	(19,6)	
2+	50	(48,5)	52	(50,5)	47	(46,1)	
3+	34	(33,0)	34	(33,0)	35	(34,3)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Eritrociti							0,839
0	16	(15,5)	20	(19,4)	18	(17,6)	
1+	55	(53,4)	51	(49,5)	50	(49,0)	
2+	23	(22,3)	20	(19,4)	17	(16,7)	
3+	9	(8,7)	12	(11,7)	17	(16,7)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Nitriti							0,895
0	57	(55,8)	53	(51,9)	51	(50)	
1+	30	(28,8)	26	(25)	32	(30,8)	
2+	10	(9,6)	20	(19,2)	15	(15,4)	
3+	6	(5,8)	4	(3,8)	4	(3,8)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Među osnovnim karakteristikama triju skupina prema zadanim parametrima (sociodemografski podaci, anamnestički podaci, simptomi, pretrage krvi i mokraće), statistički značajna razlika pronađena je za varijablu dob te za broj prethodnih upala u godini dana ili u proteklih 6 mjeseci. Stoga su prilikom analize skupina (nakon profilaktičke terapije) spomenute razlike među skupinama uzete u obzir.

Prva terapija akutne upale antibiotikom

Na dan prvog posjeta liječniku ispitanice su dobile preporučenu antibiotsku terapiju za akutnu nekompliciranu upalu mokraćnog mjehura žena koje nisu trudne. Njih 148/308 (48,1%) dobilo je ciprofloksacin, dok je 160/308 (51,9 %) ispitanica dobilo norfloksacin. Odabir lijeka ovisio je o nalazu antimikrobne osjetljivosti i o terapiji prethodnih upala. Pokusne skupine nisu bile statistički značajno različite s obzirom na primljenu antibiotsku terapiju (hi-kvadrat test, p=0,935) (tablica 9.). Nakon antibiotske terapije u trajanju od 7 dana ispitanice su ponovo pregledane 9. do 11. dan nakon započete antibiotske terapije, zabilježeni su simptomi i popratne pojave te su dale uzorak mokraće.

Simptomi među skupinama nakon antibiotske terapije

Od ukupno 308 ispitanica nakon terapije antibioticima njih 234 (76 %) više nije imalo simptome upale mokraćnog mjehura. S obzirom na primljenu antibiotsku terapiju, nisu dobivene statistički značajne razlike prema broju simptoma (hi-kvadrat, p=0,146). U obje skupine bio je podjednak broj ispitanica sa simptomima. Uzimanjem ciprofloksacina 41/148 (27,7 %) ispitanica imalo je simptome, a u skupini koja je uzimala norfloksacin simptomi su zabilježeni kod 33/160 (20,6 %) ispitanica. Najčešći simptomi koje su ispitanice navodile bili su: otežano i bolno mokrenje, učestalo mokrenje, neodgodiv nagon na mokrenje i suprapubična bol. Razlike među pokusnim skupinama prema simptomima nisu bile statistički značajne (hi-kvadrat test, p=0,337) (tablica 9.).

Tablica 9. Simptomi prema skupinama nakon antibiotske terapije

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	n	%	n	%	n	%	
Terapija							0,935
ciprofloksacin	48	(46,6)	50	(48,5)	50	(49,0)	
norfloksacin	55	(53,4)	53	(51,5)	52	(51,0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Simptomi							0,337
ne	83	(80,6)	74	(71,8)	77	(75,5)	
da	20	(19,4)	29	(28,2)	25	(24,5)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Pretrage mokraće među skupinama nakon terapije antibioticima

Nakon antibiotske terapije od 308 ispitanica 15 (4,9 %) ih je nakon terapije i dalje imalo nalaz bakterija u mokraći. Pritom je 13 ispitanica imalo 10^3 CFU/mL, a 2 ispitanice 10^4 CFU/mL. Nijedna ispitanica nije imala 10^5 ili više CFU/mL bakterija u čistom srednjem mlazu mokraće. Srednja vrijednost (medijan i interkvartilno raspršenje) broja leukocita bila je 5 L/mm^3 (2-10). Pozitivne nitrite u mokraći imalo je 12/308 (3,9 %) ispitanica. Pozitivni leukociti pronađeni su kod 150/308 (48,7 %), a pozitivni eritrociti u mokraći kod 49/308 (15,9 %) ispitanica. Kod 293 (95,1 %) ispitanica mikrobiološki nalaz je bio sterilan ili je porasla fiziološka flora.

Statistički značajne razlike među pokusnim skupinama pronađene su za pozitivne eritrocite u mokraći (Kruskal-Wallis test, p=0,001), pozitivne nitrite (Kruskal-Wallis test, p=0,034), broj bakterija u mokraći (Kruskal-Wallis test, p=0,019). *Post-hoc* analizom utvrđeno je da su za pozitivne nitrite razlike statistički značajne između prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,007), za pozitivne eritrocite između pokusne i prve kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,001), za broj bakterija između pokusne i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,004) te prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,008). Statistički značajne razlike među skupinama nisu dobivene za pozitivne leukocite (Kruskal-Wallis test; p=0,667) te leukocite/mm^3 (Kruskal-Wallis test, p=0,647) (tablica 10. i 11.).

Tablica 10. Pretrage mokraće prema skupinama nakon antibiotske terapije (1.dio)

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
Leukociti/	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	
mm^3	4	(2-12)	5	(3-10)	5	(2-14)	0,647

KRATICE: IQR= inerkvartilno raspršenje

Tablica 11. Pretrage mokraće prema skupinama nakon antibiotske terapije (2.dio)

	Pokusna		Kontrolna		Kontrolna 2		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	p
Vrsta bakterije							
nema bakt.	95	(92,2)	96	(93,2)	102	(100)	-
E. coli	3	(2,9)	5	(4,9)	0	(0,0)	
ostale	5	(4,9)	2	(1,9)	0	(0,0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Leukociti							
0	54	(52,4)	54	(52,4)	50	(49,0)	0,667
1+	43	(41,7)	40	(38,8)	40	(39,2)	
2+	6	(5,8)	9	(8,7)	9	(8,8)	
3+	0	(0)	0	(0)	3	(2,9)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Eritrociti							
0	76	(73,8)	95	(92,2)	88	(86,3)	**0,001**
1+	20	(19,4)	4	(3,9)	12	(11,8)	
2+	4	(3,99	2	(1,9)	2	(2,0)	
3+	3	(2,9)	2	(1,9)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Nitriti							
0	98	(92,2)	103	(100)	95	(93,1)	**0,034**
1+	3	(5,8)	0	(0)	7	(6,9)	
2+	2	(1,9)	0	(0)	0	(0)	
3+	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Bakterije CFU/mL							
0	95	(92,2)	96	(93,2)	102	(100)	**0,019**
10^3	6	(5,8)	7	(6,8)	0	(0)	
10^4	2	(1,9)	0	(0)	0	(0)	
$\geq 10^5$	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
Ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Popratne pojave među skupinama nakon antibiotske terapije

Nakon antibiotske terapije 44/308 (14,3 %) ispitanica imalo je popratne pojave. Od toga ih je 19 uzimalo ciprofloksacin, a 25 norfloksacin. Nisu dobivene statistički značajne razlike u popratnim pojavama prema antibiotskoj terapiji (hi-kvadrat test, p=0,485). Ispitanice su imale jednu ili više popratnih pojava. Najčešće navedene popratne pojave bile su vaginalni svrbež kod 15 (34,1 %) ispitanica, mučnina kod 14 (31,8 %) ispitanica, glavobolja kod 10 (22,7 %) ispitanica, diareja kod 5 (11,3 %) ispitanica.

Nije dobivena statistički značajna razlika među ispitanicama pokusne i kontrolnih skupina u odnosu na popratne pojave nakon antibiotske terapije (hi-kvadrat test, p=0,722) (tablica 12.).

Tablica 12. Popratne pojave među skupinama nakon antibiotske terapije

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
ne	89	(86,4)	86	(83,5)	89	(87,3)	0,722
da	14	(13,6)	17	(16,5)	13	(12,7)	
Ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Među karakteristikama triju skupina nakon antibiotske terapije, statistički značajne razlike pronađene su za količinu i vrstu bakterije u mokraći te pozitivne eritrocite i nitrite. Iz tog razloga su prilikom analize pokusnih skupina (nakon profilaktičke terapije) prema istim parametrima (broj i vrsta bakterije, pozitivni eritrociti i nitriti) spomenute razlike uzete u obzir.

Profilaktička terapija

Po prestanku antibiotske terapije u trajanju od 7 dana, bolesnice su podijeljene u tri skupine. Randomizacija u pokusnu i kontrolne skupine obavljena je sustavnim izborom u ovoj fazi ispitivanja. Prva bolesnica koja je došla na pregled bila je dodijeljena u pokusnu skupinu, druga u prvu kontrolnu, treća u drugu kontrolnu skupinu, četvrta ponovno u pokusnu skupinu itd. (205).

- Pokusna skupina - 103/308 (33,4 %) ispitanica je dobilo pripravak D-manoze u obliku praška za *per os* upotrebu u dozi od 1 čajne žlice (2 g) otopljene u 200 mL vode jedanput dnevno navečer kroz 60 dana.
- Kontrolna skupina 1 - 103/308 (33,4 %) ispitanica dobilo je standardnu antibiotsku profilaksu nitrofurantoin (Ninur®, Belupo) u dozi od 50 mg jedanput dnevno navečer kroz 60 dana.
- Kontrolna skupina 2 - 102/308 (33,1 %) ispitanica nije dobilo profilaksu.

Svima je preporučeno uzimanje dosta tekućine kroz cijelo razdoblje (više od dvije litre dnevno).

Ako se u bilo koje vrijeme pojavilo pogoršanje osnovne bolesti, pogoršanje simptoma, jake popratne pojave, sumnja na akutni pijelonefritis, bolesnica se morala odmah javiti liječniku.

Tijekom trećeg posjeta liječniku, 60. dan nakon početka profilaktičke terapije, ispitanice su ponovno davale podatke o simptomima i popratnim pojavama te dale uzorke mokraće na testiranje.

Simptomi nakon profilaktičke terapije

Nakon završetka profilaktičke terapije 120/308 (39 %) ispitanica imalo je simptome upale mokraćnog mjehura. Najmanje ispitanica sa simptomima bilo je u skupini onih koje su uzimale D-manozu 22/103 (21,4 %). U skupini koja je uzimala nitrofurantoin bilo je 30/103 (29,1 %) ispitanica sa simptomima, dok je najviše simptoma zabilježeno u skupini ispitanica koje nisu primale terapiju 68/102 (66,7 %). Najčešće navedeni prisutni simptomi bili su otežano bolno mokrenje, učestalo mokrenje i neodgodiva potreba za mokrenjem te nemogućnost zadržavanja mokraće i hematurija.

Provedbom hi-kvadrat testa utvrđena je statistički značajna razlika u broju simptoma između skupina (hi-kvadrat test, $p<0,001$). *Post-hoc* analizom dobiveno je da je razlika statistički značajna između pokusne i druge kontrolne skupine (Fisherov egzaktni test, $p<0,001$,) te između prve i druge kontrolne skupine (Fisherov egzaktni test, $p<0,001$,). Razlika u simptomima između pokusne i kontrolne skupine jedan nije bila statistički značajna (Fisherov egzaktni test, $p=0,199$).

Nakon završetka profilaktičke terapije bez simptoma bilo je 188 (61,0 %) ispitanica. Nestanak znakova i simptoma povezanih s upalom u pokusnoj skupini navelo je 81 (78,6 %) ispitanica, u kontrolnoj jedan 73 (70,8 %), a u kontrolnoj dva 34 (33,3 %) ispitanice. U

pokusnoj skupini bilo je najviše ispitanica bez simptoma. Najviše se razlikuje kontrolna skupina dva u kojoj su se nalazile ispitanice bez terapije i u kojoj je bilo najmanje ispitanica bez simptoma. U pokusnoj skupini bilo je nešto više ispitanica bez simptoma nego u kontrolnoj skupini jedan međutim *post-hoc* analiza pokazala je da nema statistički značajne razlike (tablica 13.).

Tablica 13. Simptomi prema skupinama nakon profilaktičke terapije

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
ne	81	(78,6)	73	(70,9)	34	(33,3)	**<0,001**
da	22	(21,4)	30	(29,1)	68	(66,7)	
Ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Rezultati pretraga mokraće nakon profilaktičke terapije

Nakon profilaktičke terapije 98/308 (31,7 %) ispitanica imalo je bakterije u uzorku mokraće. Od toga je u skupini koje je uzimala D-manozu s bakterijama u mokraći bilo 15 od 103 (14,6 %) ispitanice, u prvoj kontrolnoj skupini bilo ih je 21 od 103 (20,4 %), dok je u drugoj kontrolnoj skupini 62 ispitanica od 102 (60,7 %) imalo bakterije u mokraći. Razlike među skupinama bile su statistički značajne (Kruskal-Wallis test; p<0,001). *Post-hoc* testiranjem nije dobivena statistički značajna razlika između pokusne i prve kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,262), međutim razlika je statistički značajna između pokusne i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001) te između prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001).

Najzastupljenija izolirana bakterija bila je *Escherichia coli*, pronađena kod 40/308 (13 %) ispitanica. Od toga, u skupini koja je uzimala D-manozu, 1 (0,9 %) ispitanica je imala *Escherichia*-u *coli.* U kontrolnoj skupini jedan 4 ispitanice od 103 (3,8 %) imale su bakteriju *Escherichia coli*, dok je preostalih 35 bilo u drugoj kontrolnoj skupini.

Pošto je prethodno ustanovljeno da su nakon profilaktičke terapije skupine bile statistički značajno različite prema vrsti bakterije (hi-kvadrat test, p=0,015), moguće je da je razlika u vrsti bakterije nakon profilaktičke terapije djelomično uvjetovana prethodnom

neizjednačenosti skupina prema vrsti bakterije. Nije bilo moguće utvrditi statistički značajnost s obzirom na vrstu bakterije jer je bio premali broj ispitanica u pojedinoj kategoriji.

Srednja vrijednost (medijan i interkvartilno raspršenje) broja leukocita u mokraći svih ispitanica nakon profilaktičke terapije iznosila je 5 L/mm^3 (2-20 L/mm^3). U pokusnoj skupini medijan (interkvartilno raspršenje) je bio 2 L/mm^3 (2-6 L/mm^3), u prvoj kontrolnoj 4 L/mm^3 (2-12 L/mm^3), a u drugoj kontrolnoj 20 L/mm^3 (10-50 L/mm^3). Utvrđene su statistički značajne razlike među skupinama (Kruskal-Wallis test, p<0,001). Dobivena je statistički značajna razlika za sve *post-hoc* pojedinačne usporedbe – između pokusne i prve kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p=0,005), pokusne i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001) te prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001).

Utvrđeno je da postoji statistički značajna niska pozitivna povezanost dobi i leukocita (L/mm3) u mokraći (Spearmanov ρ=0,121, p=0,033) te s obzirom na to da je prethodno ustanovljeno da su u drugoj kontrolnoj skupini ispitanice statistički značajno starije nego u prvoj kontrolnoj skupini (Mann-Whitney test, p=0,013), moguće je da je razlika u broju leukocitia u mm^3 u mokraći između prve i druge kontrole skupine dijelom posredovana dobi ispitanica.

Pozitivne leukocite u mokraći imalo je 128/308 (41,6 %). Od toga ih je u skupini koja je uzimala D-manozu bilo 21/103 (20,4 %), u prvoj kontrolnoj skupini 31/103 (30,1 %) te u drugoj pokusnoj skupini 76/102 (74,5 %). Dobivene su statistički značajne razlike među skupinama (Kruskal-Wallis test, p<0,001). *Post-hoc* analizom je utvrđeno da razlika između pokusne i prve kontrolne skupine nije statistički značajna (Mann-Whitney test, p=0,141), dok je statistički značajna razlika dobivena između pokusne i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001) te prve i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001).

Utvrđeno je da postoji statistički značajna niska pozitivna povezanost dobi i pozitivnih leukocita u mokraći (Spearmanov ρ=0,116, p=0,042) te s obzirom na to da je prethodno ustanovljeno da su u drugoj kontrolnoj skupini ispitanice statistički značajno starije nego u prvoj kontrolnoj skupini (Mann-Whitney test, p=0,013), moguće je da je razlika u leukocitima u mokraći između prve i druge kontrole skupine dijelom posredovana dobi ispitanica.

Pozitivne nitrite u mokraći je imalo 18 od 308 (5,8 %) ispitanica te su sve pripadale drugoj kontrolnoj skupini, dok u pokusnoj i prvoj kontrolnoj skupini ni kod jedne ispitanice nisu zabilježeni pozitivni nitriti u mokraći. Razlike među skupinama statistički su značajne (Kruskal-Wallis test, p<0,001). I pokusna i kontrolna skupina jedan imaju statistički značajno manje pozitivnih nitrita u mokraći od druge kontrolne skupine (u obje usporedbe: Mann-Whitney test, p<0,001).

Utvrđeno je da postoji statistički značajna niska pozitivna povezanost dobi i nitrita u mokraći (Spearmanov ρ=0,148, p=0,009) te s obzirom na to da je prethodno ustanovljeno da su u drugoj kontrolnoj skupini ispitanice statistički značajno starije nego u prvoj kontrolnoj skupini (Mann-Whitney test, p=0,013), moguće je da je razlika u nitritima između prve i druge kontrole skupine dijelom posredovana dobi ispitanica.

Pozitivne eritrocite u mokraći imalo je 108/308 (35,1 %) ispitanica. Najmanje ispitanica bilo je u pokusnoj skupini (16/103 (15,5 %)), zatim u kontrolnoj skupini jedan (26/103 (25,2 %), dok je preostalih 66 ispitanica (66/102 (64,7 %) bilo u drugoj kontrolnoj skupini. Razlike između skupina statistički su značajne (Kruskal-Wallis test, p<0,001). *Post-hoc* analizom ustanovljeno je da razlika između pokusne i prve kontrolne skupine nije statistički značajna (Mann-Whitney test, p=0,118), dok je razlika značajna između pokusne i druge kontrolne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001) te između prve i druge pokusne skupine (Mann-Whitney test, p<0,001) (tablica 14. i 15.).

Tablica 14. Pretrage mokraće prema skupinama nakon profilaktičke terapije (1.dio)

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
Leukociti/	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	
mm^3	2	(2-6)	4	(2-12)	20	(10-50)	**<0,001**

KRATICE: IQR= inerkvartilno raspršenje

Tablica 15. Pretrage mokraće prema skupinama nakon profilaktičke terapije (2.dio)

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	p
Vrsta bakterije							
Nema bakterija	88	(85,4)	82	(79,6)	38	(37,3)	-
E. coli	1	(0,9)	4	(3,9)	35	(34,3)	
ostale	14	(13,6)	17	(16,5)	27	(26,4)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Bakterije CFU/mL							
0	88	(85,4)	82	(79,6)	38	(37,3)	**<0,001**
10^3	0	(0)	3	(1,9)	0	(0)	
10^4	15	(14,6)	16	(15,5)	46	(45,1)	
$\geq 10^5$	0	(0)	2	(1,9)	18	(17,6)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Eritrociti							
0	87	(84,5)	77	(74,8)	36	(35,3)	**<0,001**
1+	10	(9,7)	22	(21,4)	46	(45,1)	
2+	6	(5,8)	4	(3,9)	18	(17,6)	
3+	0	(0)	0	(0)	2	(2)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Leukociti							
0	82	(79,6)	72	(69,9)	26	(25,5)	**<0,001**
1+	11	(10,7)	17	(16,5)	34	(33,3)	
2+	6	(5,8)	14	(13,6)	28	(27,5)	
3+	4	(3,9)	0	(0)	14	(13,7)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	
Nitriti							
0	103	(100)	103	100)	84	(82,4)	**<0,001**
1+	0	(0)	0	(0)	18	(17,6)	
2+	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
3+	0	(0)	0	(0)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)	

Popratne pojave nakon profilaktičke terapije

Nakon profilaktičke terapije popratne pojave je imalo 37 od 308 (12 %) ispitanica. Od toga je u pokusnoj skupini koja je uzimala D-manozu popratne pojave imalo 8/103 (7,8 %) ispitanica i sve su navele kao popratnu pojavu diareju (100 %), a u kontrolnoj skupini koja je uzimala nitrofurantoin o popratnim pojavama je izvijestilo 29/103 (27,2 %) ispitanica i navele su: diareju 10 (34,4 %), mučninu 6 (20,7 %), glavobolju 3 (10,3 %), osip po koži 1 (3,6 %) i vaginalni svrbež 9 (31 %).

Provedbom hi-kvadrat testa utvrđeno je da je skupina koja je uzimala D-manozu imala statistički značajno manje popratnih pojava od skupine ispitanica koje su uzimale nitrofurantoin ($p<0,001$). Druga kontrolna skupina nije imala popratne pojave s obzirom na to da nije uzimala nikakvu profilaktičku terapiju.

Za 206 ispitanica koje su uzimale profilaktičku terapiju, pripadnost skupini pokazala se statistički značajnim prediktorom pojave popratnih pojava. U odnosu na skupinu koja je uzimala nitrofurantoin, ispitanice koje su uzimale D-manozu imale su 0,215 puta manje izgleda da imaju popratne pojave (tablica 16.).

Tablica 16. Popratne pojave s obzirom na korištenu profilaktičku terapiju

	da		ne		ukupno		
	n	%	n	%	n	%	OR
Pokusna (D-manoza)	8	(7,8)	95	(92,2)	103	(100)	0,215
Kontrolna 1 (nitrofurantoin)	29	(27,2)	74	(72,8)	103	(100)	

KRATICE: OR= omjeri izgleda (eng. *odds ratio*)

Ponovna upala mokraćnog mjehura tijekom profilakse

Od ukupno 308 ispitanica, 98 (31,8 %) njih je prijavilo ponovnu upalu mokraćnog mjehura u razdoblju od 60 dana od početka profilaktičke terapije. Od toga se ponovna upala mokraćnog mjehura u pokusnoj skupini pojavila kod 15/103 (14,6 %) ispitanica, u kontrolnoj

skupini jedan kod 21/103 (20,4 %) ispitanica, a u kontrolnoj skupini dva kod 62/102 (60,7 %) ispitanica.

Dobiveno je da se skupine statistički značajno razlikuju prema pojavi ponovne upale (hi-kvadrat test, p<0,001). *Post-hoc* analizom utvrđeno je da se pokusna skupina i kontrolna skupina jedan ne razlikuju statistički značajno s obzirom na pojavu ponovne upale (Fisherov egzaktni test, p=0,348), dok se statistički značajno razlikuju pokusna skupina i kontrolna skupina dva (Fisherov egzaktni test, p<0,001) te kontrolna skupina jedan i kontrolna skupina dva (Fisherov egzaktni test, p<0,001).

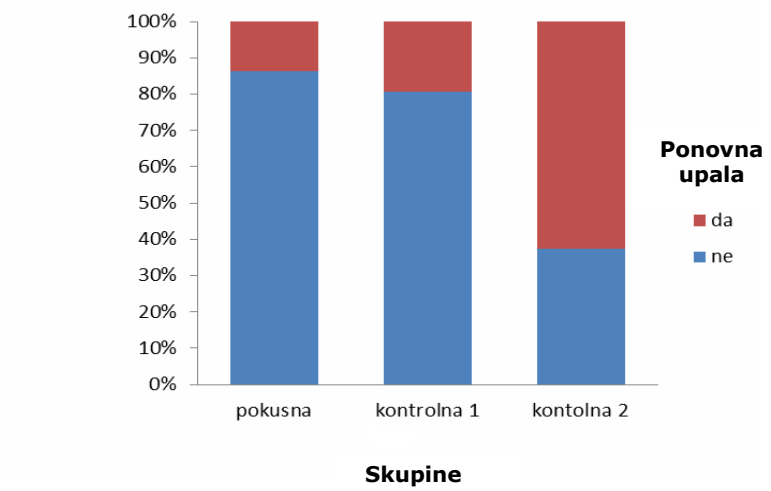
Skupina ispitanica koje su uzimale D-manozu nisu imale statistički značajno veće izglede da dobiju ponovnu upalu mokraćnog mjehura u odnosu na skupinu koja je uzimala nitrofuranotion (OR=1,532). Skupina koja nije dobivala profilaktičku terpiju imala je 3,272 puta veće izglede da dobiju ponovnu upalu mokraćnog mjehura od skupine koja je uzimala D-manozu (OR=3,272). Omjeri izgleda skupine koja je uzimala D-manozu i skupine koja nije dobivala nikakvo profilaktičko sredstvo pokazala se statistički značajna (tablica 17.).

Tablica 17. Ponovna upala mokraćnog mjehura prema skupinama

	ne		da		ukupno		OR	(95% CI)
	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
Pokusna	88	(85,4)	15	(14,6)	103	(100)		
Kontrolna 1	82	(79,6)	21	(20,4)	103	(100)	1,532	(0,727-3,229)
Kontrolna 2	40	(39,3)	62	(60,7)	102	(100)	3,272	(2,315-4,624)

KRATICE: OR= omjeri izgleda (eng. *odds ratio*), 95% CI= 95-postotni interval pouzdanosti za omjer izgleda

U pokusnoj skupini i kontrolnoj skupini jedan bilo je statistički značajno manje ponovnih upala nego u kontrolnoj skupini dva. Iako se nije pokazalo statistički značajnim, u uzorku ispitanica koje su koristile D-manozu bilo je 6 (5,8 %) ponovnih upala manje nego u skupini ispitanica koje su koristile antibiotik (slika 6.).



Slika 6. Ponovna upala mokraćnog mjehura među skupinama nakon profilaktičke terapije

Početak ponovne upale mokraćnog mjehura

Ponovna upala mokraćnog mjehura ispitanicama se u prosjeku (medijan i interkvartilno raspršenje) javila nakon 30 dana (20-41). Pritom se u prosjeku u pokusnoj skupini upala javila 43. dan (15-50), u prvoj kontrolnoj skupini nakon 24 dana (15-36) te u drugoj kontrolnoj skupini nakon 28 dana (20-42). Spomenute razlike nisu bile statistički značajne (Kruskal-Wallis test, p=0,121) (tablica 18.).

Tablica 18. Dan ponovne upale mokraćnog mjehura prema skupinama

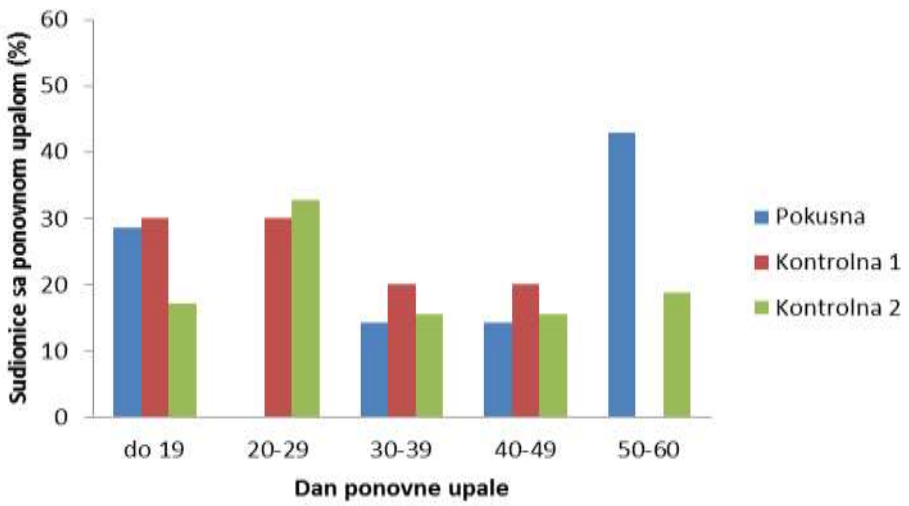
	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2		p
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	
Dan početka upale	43	15-50	24	15-36	28	20-42	0,121

KRATICE: IQR= inerkvartilno raspršenje

U kontrolnoj skupini dva bilo je više upala negoli u ostale dvije skupine do 60. dana istraživanja. Sveukupno u skupini ispitanica koje su uzimale D-manozu bilo je 6 ponovnih upala manje nego u skupini ispitanica koje su uzimale antibiotik te je u skupini ispitanica koje su uzimale D-manozu bilo više ponovnih upala krajem ispitivanja, a u skupini ispitanica koje su uzimale antibiotik početkom ispitivanja. Kruskal-Wallis test je pokazao kako nema statistički značajnih razlika u danu početka ponovne upale između pokusne skupine i kontrolne skupine jedan niti između pokusne i kontrolne skupine dva (tablica 19. i slika 7.).

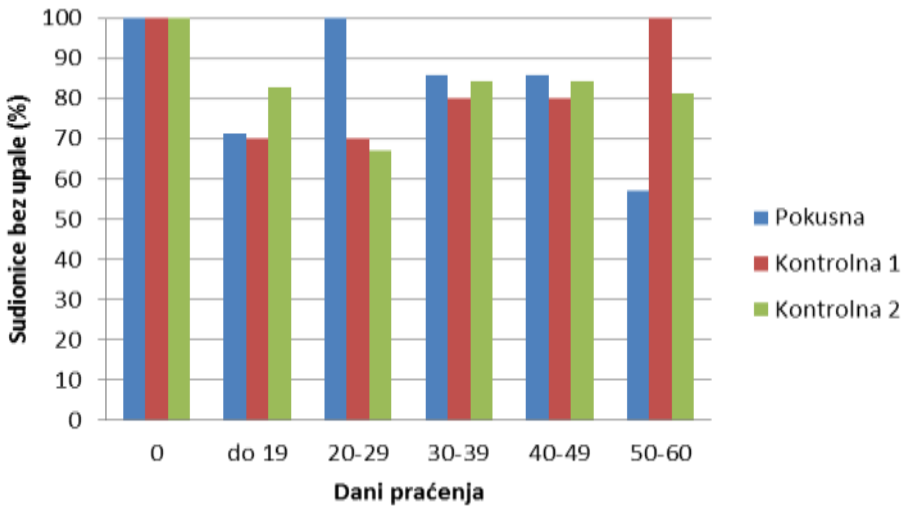
Tablica 19. Dan početka ponovne upale mokraćnog mjehura

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Dan						
Do 19	4	(26,6)	6	(28,6)	11	(17,7)
20-29	0	(0)	6	(28,6)	20	(32,3)
30-39	2	(13,3)	4	(19,0)	10	(16,1)
40-49	3	(20,0)	5	(23,8)	9	(14,5)
50-60	6	(40,0)	0	(0)	12	(19,4)
ukupno	15	(100)	21	(100)	62	(100)



Slika 7. Dan početka ponove upale među skupinama u periodu od 60 dana

Nakon 60 dana trajanja ispitivanja, 210 (68 %) ispitanica nije imalo ponovnu upalu mokraćnog mjehura. Na dan prvog posjeta sve ispitanice u sve tri skupine imale su upalu mokraćnog mjehura. Nakon početne terapije antibiotikom, 95 % ispitanica nije imalo upalu mokraćnog mjehura. Nakon 60 dana profilakse 85,4 % ispitanica iz pokusne skupine koja je uzimala profilatički D-manozu, 79,6 % iz kontrolne skupine jedan koja je uzimala nitrofurantoin kao profilaktički antibiotik te 39,3 % ispitanica iz kontrolne skupine dva koje nisu uzimale profilaksu, nisu imale upalu mokraćnog mjehura (slika 8.).



Slika 8. Prikaz broja pacijentica bez upala praćene 60 dana

Povezanost sociodemografskih i anamnestičkih obilježja s popratnim pojavama i ponovnom upalom nakon profilaktičke terapije D-manozom

Nije dobivena nijedna statistički značajna povezanost sociodemografskih i anamnestičkih obilježja s pojavom popratnih pojava nakon terapije D-manozom.

Za ponovnu upalu nakon terapije D-manozom jedina statistički značajna povezanost bila je za indeks tjelesne mase (BMI). Navedena povezanost bila je niska i pozitivna (Spearmanov ρ=0,274, p=0,005). Ispitanice s većim indeksom tjelesne mase u prosjeku su imale više ponovnih upala (tablica 20. i 21.).

Tablica 20. Povezanost sociodemografskih i anamnestičkih obilježja s popratnim pojavama i ponovnom upalom nakon profilaktičke terapije (1.dio)

	Popratne pojave					Ponovna upala				
	ne		da			ne		da		
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	r	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	r
Dob	49	35-58	45	26-68	0,000	49	35-58	52	36-61	0,098
BMI	28,6	25,3-33,5	26,6	24,5-32,5	0,135	28,5	24,5-33,0	28,6	25,7-33,6	**0,274**
Prethodna UMS	2	2-3	2	2-3	0,029	2	2-3	2	2-3	0,001

KRATICE: IQR= interkvartilno raspršenje, r= Spearmanov ρ koeficijent korelacije, BMI= indeks tjelesne mase (eng. *body mass index*); UMS= upala mokraćnog sustava

Tablica 21. Sociodemografska i anamnestička obilježja u odnosu na popratne pojave i ponovne upale nakon profilaktičke terapije (2.dio)

	Popratne pojave				Ponovna upala			
	ne		da		ne		da	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Obrazovanje								
oš	22	(8,1)	6	(16,2)	16	(7,6)	12	(12,2)
sss	145	(53,5)	14	(37,8)	113	(53,8)	46	(46,9)
všs	84	(31,0)	11	(29,7)	65	(31,0)	30	(30,6)
vss	20	(7,4)	6	(16,2)	16	(7,6)	10	(10,2)
ukupno	271	(100)	37	(100)	210	(100)	98	(100)
Spolna aktivnost								
da	191	(70,5)	25	(67,6)	146	(69,5)	70	(71,4)
ne	80	(29,5)	12	(32,4)	64	(30,5)	28	(28,6)
ukupno	271	(100)	37	(100)	210	(100)	98	(100)
Menstruacija								
da	141	(52,0)	21	(56,8)	116	(55,2)	46	(46,9)
ne	130	(48,0)	16	(43,2)	94	(44,8)	52	(53,1)
ukupno	271	(100)	37	(100)	210	(100)	98	(100)

KRATICE: oš= osnovna škola; sss= srednja stručna sprema; všs= viša stručna srema; vss= visoka stručna sprema

Usporedba laboratorijskih nalaza nakon prve terapije antibiotikom i nakon profilakse

Bakteriološki efekt terapije

Rezultati na temelju bakteriološkog odgovora na terapiju određenog na bazi bakterioloških kultura mokraće napravljenih prije, u toku i nakon terapije su sljedeći:

- Prilikom prvog posjeta liječniku, sve ispitanice, njih 308 od 308, imale su 10^3 ili više bakterija u mL mokraće.
- Nakon početne antibiotske terapije kod 293 od 308 (95,1 %) ispitanica uklonjen je uzročnik upale ($<10^3$ bakterija u mL mokraće), dok je kod preostalih 15 ispitanica u mokraći bilo prisutno 10^3 ili više bakterija. Od toga je 8 ispitanica pripalo u pokusnu,

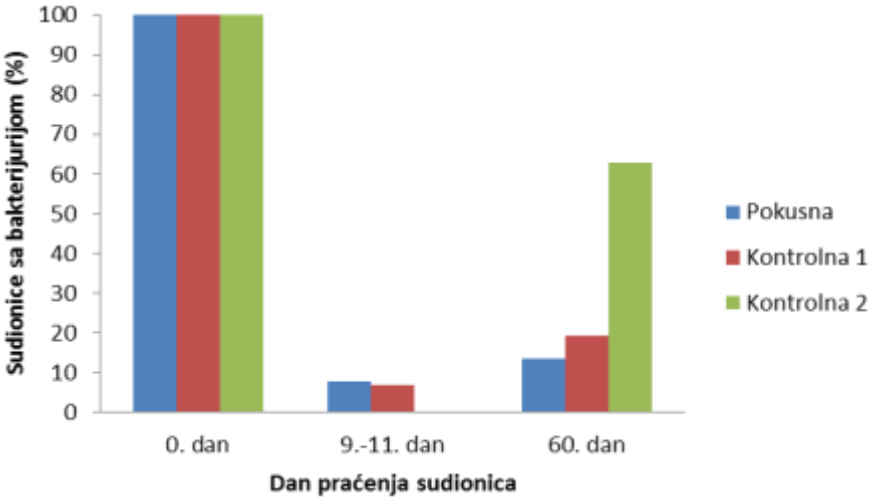
a 7 u prvu kontrolnu skupinu. Nijedna ispitanica s nađenim uzročnikom nakon antibiotske terapije nije pripala u drugu kontrolnu skupinu.

- Nakon profilaktičke terapije u trajanju od 60 dana kod 98 od 308 ispitanica pronađen je uzročnik upale ($\geq 10^3$ bakterija u mL mokraće). Od 103 ispitanica u skupini koja je uzimala D-manozu kod 15 je pronađeno više od 10^3 bakterija u mL mokraće. U skupini koja je uzimala nitrofurantoin od 103 ispitanice 21 ih je imalo 10^3 i više bakterija u mL mokraće, dok je skupini koja nije dobivala profilaktičku terapiju kod 62 od 102 ispitanice pronađeno 10^3 i više bakterija u mL mokraće.

Analiziran je broj bakterija nakon antibiotske terapije u odnosu na broj bakterija nakon profilaktičke terapije. U skupini ispitanica koje su uzimale D-manozu, 10^3 i više bakterija u mL mokraće nakon antibiotske terapije imalo je 8 ispitanica, a nakon profilaktičke terapije 15 ispitanica. Povećanje u broju pacijentica s bakteriurijom od prestanka antibiotske terapije do završetka profilaktičke terapije nije bilo statistički značajno (Wilcoxon test, p=0,433).

U skupini koja je uzimala nitrofurantoin, nakon antibiotske terapije 7 ispitanica imalo je 10^3 i više bakterija u mL mokraće, dok se nakon uzimanja nitrofurantoina taj broj povećao na 21 sudionicu. Dobiveno je da je statistički značajno više bakterija nakon uzimanja nitrofurantoina u odnosu nakon početne antibiotske terapije (Wilcoxon test, p=0,010).

U skupini koja nije dobivala profilaktičku terapiju, nakon početne antibiotske terapije nijedna ispitanica nije imala 10^3 i više bakterija u mL mokraće, međutim nakon prestanka terapije, nakon 60 dana, 62 ispitanice su imale simptome upale mokraćnog mjehura. Utvrđeno je da je razlika u broju ispitanica sa simptomima nakon antibiotske terapije u odnosu nakon prestanka terapije statistički značajna (Wilcoxon test, p<0,001) (tablica 22. i slika 9.).



Slika 9. Prisutnost bakterija u mokraći kod ispitanica tokom terapija .

Tablica 22. Količina bakterija (CFU/ mL) po skupinama prije i nakon profilaktičke terapije

	Terapija 1		Terapija 2		p
	n	(%)	n	(%)	
Pokusna					
0	95	(92,2)	88	(85,4)	0,433
10^3	8	(7,8)	0	(0)	
10^4	0	(0)	15	(14,6)	
$\geq 10^5$	0	(0)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Kontrolna 1					**0,010**
0	96	(93,2)	82	(79,6)	
10^3	7	(6,8)	2	(1,9)	
10^4	0	(0)	17	(16,5)	
$\geq 10^5$	0	(0)	2	(1,9)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Kontrolna 2					**<0,001**
0	102	(100)	40	(39,2)	
10^3	0	(0)	0	(0)	
10^4	0	(0)	45	(44,1)	
$\geq 10^5$	0	(0)	17	(16,6)	
ukupno	102	(100)	102	(100)	

Ostali laboratorijski nalazi mokraće

Profilaksa s D-manozom

Unutar pokusne skupine dobivena je statistički značajna razlika između prve terapije antibiotikom i druge terapije D-manozom s obzirom na nitrite (Wilcoxon test, p=0,022). Nakon antibiotske terapije 95,1 % (98/103) ispitanica pokusne skupine nije imalo nitrite, dok je nakon terapije D-manozom njih 100 % (103/103) bilo bez nitrita u mokraći.

Statistički značajna razlika nakon prve i druge terapije kod pokusne skupine dobivena je i za leukocite u mokraći određene pomoću test-trake (Wilcoxon test, p=0,033). Nakon prve terapije 54/103 (52,4 %) ispitanica nije imalo pozitivne leukocite u mokraći. Broj ispitanica koje nisu imale pozitivne leukocite u mokraći se povećao u tijeku terapije D-manozom nakon

koje su 82/103 (79,6 %) ispitanice nisu imale pozitivne leukocite u mokraći. Značajna razlika nije dobivena za broj leukocita u mokraći (L/mm^3) (Wilcoxon test, p=0,068). Nakon prve terapije antibioticima prosječna vrijednost leukociturije iznosila je 4 L/mm^3 (2-12), a nakon druge terapije D-manozom 2 L/mm^3 (2-6).

Statistički značajne razlike unutar pokusne skupine s obzirom na prvu i drugu terapiju nisu pronađene za eritrocite u mokraći (Wilcoxon test, p=0,116) (tablica 23. i 24.).

Tablica 23. Pretrage mokraće u pokusnoj skupini prije i nakon profilaktičke terapije (1.dio)

	Terapija 1		Terapija 2		p
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	
Leukociti/mm^3	4	(2-12)	2	(2-6)	0,068

KRATICE: IQR= interkvartilno raspršenje

Tablica 24. Pretrage mokraće u pokusnoj skupini prije i nakon profilaktičke terapije (2.dio)

	Terapija 1		Terapija 2		p
	n	(%)	n	(%)	
Eritrociti					
0	76	(73,8)	87	(84,5)	0,116
1+	20	(19,4)	10	(9,7)	
2+	4	(3,99	6	(5,8)	
3+	3	(2,9)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Leukociti					
0	54	(52,4)	82	(79,6)	**0,033**
1+	43	(41,7)	11	(10,7)	
2+	6	(5,8)	6	(5,8)	
3+	0	(0)	4	(3,9)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Nitriti					
0	95	(92,2)	103	(100)	**0,022**
1+	6	(5,8)	0	(0)	
2+	0	(0)	0	(0)	
3+	2	(1,9)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	

Profilaksa s nitrofurantoinom

Unutar kontrolne skupine jedan dobivena je statistički značajna razlika s obzirom na eritrocite u mokraći između prve terapije antibiotikom i druge profilaktičke terapije antibiotikom (Wilcoxon test, p=0,040). Nakon prve terapije 95/103 (92,2 %) ispitanica nije imalo eritrocite u mokraći, dok ih nakon druge terapije nije imalo 77/103 (74,8 %) ispitanica. Statistički značajne razlike nisu dobivene za leukocite (Wilcoxon test, p=0,202), nitrite (Wilcoxon test, p=1,000) te leukocite (L/mm^3) u mokraći (Wilcoxon test, p=0,601) (tablica 25. i 26.).

Tablica 25. Pretrage mokraće u prvoj kontrolnoj skupini prije i nakon profilaktičke terapije (1.dio)

	Terapija 1		Terapija 2		p
	n	(%)	n	(%)	
Eritrociti					
0	95	(92,2)	77	(74,8)	**0,040**
1+	4	(3,9)	22	(21,4)	
2+	2	(1,9)	4	(3,9)	
3+	2	(1,9)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Leukociti					
0	54	(52,4)	72	(69,9)	0,202
1+	40	(38,8)	17	(16,5)	
2+	9	(8,7)	14	(13,6)	
3+	0	(0)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	
Nitriti					
0	103	(100)	103	(100)	1,000
1+	0	(0)	0	(0)	
2+	0	(0)	0	(0)	
3+	0	(0)	0	(0)	
ukupno	103	(100)	103	(100)	

Tablica 26. Pretrage mokraće u prvoj kontrolnoj skupini prije i nakon profilaktičke terapije (2.dio)

	Terapija 1		Terapija 2		p
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	0,601
Leukociti/mm^3	5	(3-10)	4	(2-12)	

KRATICE: IQR= interkvartilno raspršenje

Kontrolna skupina bez profilaktičke terapije

Unutar kontrolne skupine dva dobivene su statistički značajne razlike između prve terapije antibiotikom i prestanka terapije s obzirom na nitrite (Wilcoxon test, p=0,022), pozitivne leukocite (Wilcoxon test, p<0,001) i eritrocite u mokraći (Wilcoxon test, p<0,001) te leukocite (L/mm^3) (Wilcoxon test, p<0,001). Nakon antibiotske terapije 95/102 (93,1 %) ispitanica nije imalo nitrite u mokraći, dok ih nakon prestanka ispitivanja nisu imale 84/102 (82,4 %) ispitanice. Pozitivne leukocite nakon antibiotske terapije nije imalo 50/102 (49 %) ispitanica, dok ih nakon prestanka ispitivanja nije imalo 26/102 (25,5%) ispitanica. Eritrocite u mokraći nije imalo 88/102 (86,3 %) ispitanica nakon antibiotske terapije, a nakon prestanka ispitivanja, eritrocite u mokraći nije imalo 36/102 (35,3 %) ispitanica (tablica 27. i 28.).

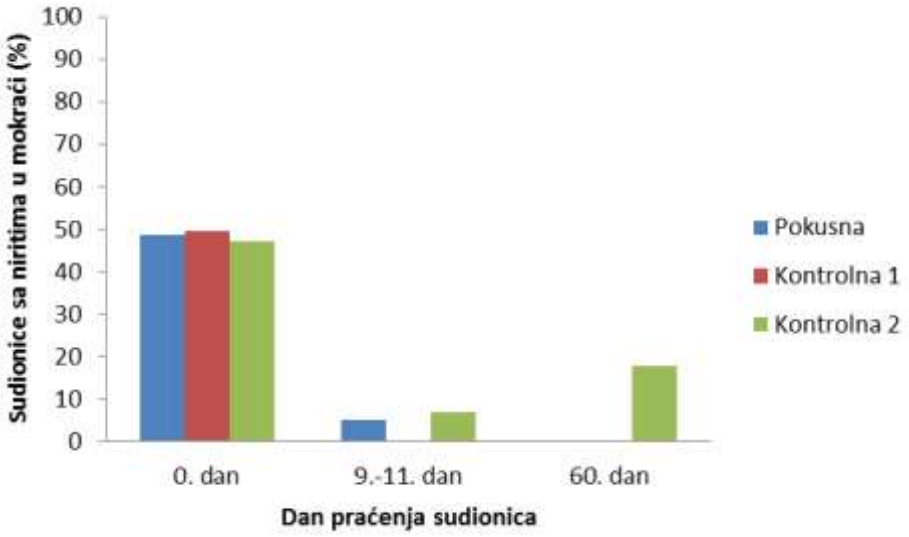
Tablica 27. Pretrage mokraće u drugoj kontrolnoj skupini nakon antibiotske terapije i nakon 60 dana (1.dio)

	Terapija 1		Bez terapije		p
	medijan	(IQR)	medijan	(IQR)	**<0,001**
Leukociti/mm^3	5	(2-14)	20	(10-50)	

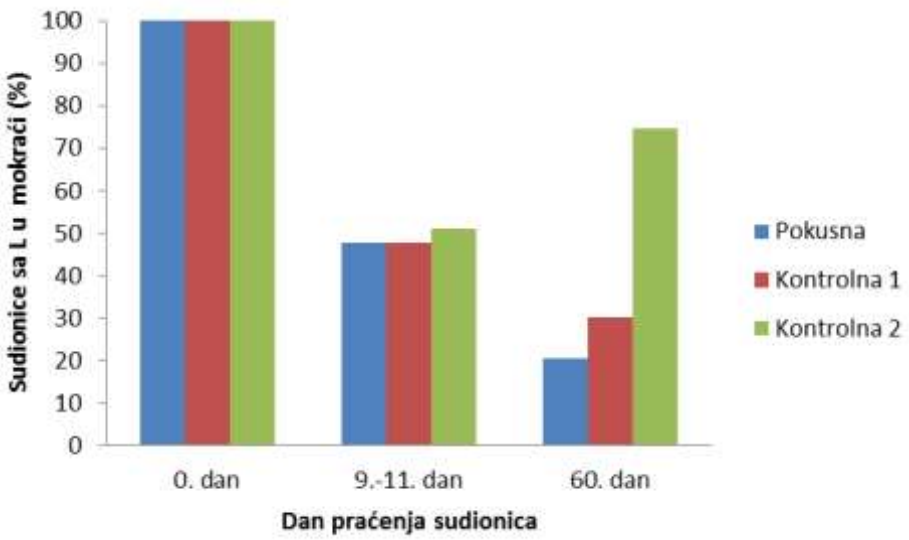
KRATICE: IQR= interkvartilno raspršenje

Tablica 28. Pretrage mokraće u kontrolnoj skupini dva nakon antibiotske terapije i nakon 60 dana (2.dio)

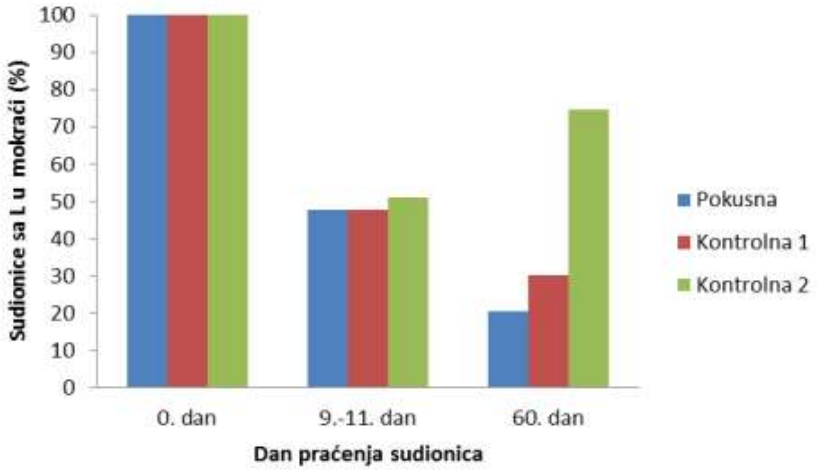
	Terapija 1		Bez terapije		p
	n	(%)	n	(%)	
Eritrociti					
0	88	(86,3)	36	(35,3)	**<0,001**
1+	12	(11,8)	46	(45,1)	
2+	2	(2,0)	18	(17,6)	
3+	0	(0)	2	(2)	
ukupno	102	(100)	102	(100)	
Leukociti					
0	50	(49,0)	26	(25,5)	**<0,001**
1+	40	(39,2)	34	(33,3)	
2+	9	(8,8)	28	(27,5)	
3+	3	(2,9)	14	(13,7)	
ukupno	102	(100)	102	(100)	
Nitriti					
0	95	(93,1)	84	(82,4)	**0,022**
1+	7	(6,9)	18	(17,6)	
2+	0	(0)	0	(0)	
3+	0	(0)	0	(0)	
ukupno	102	(100)	102	(100)	



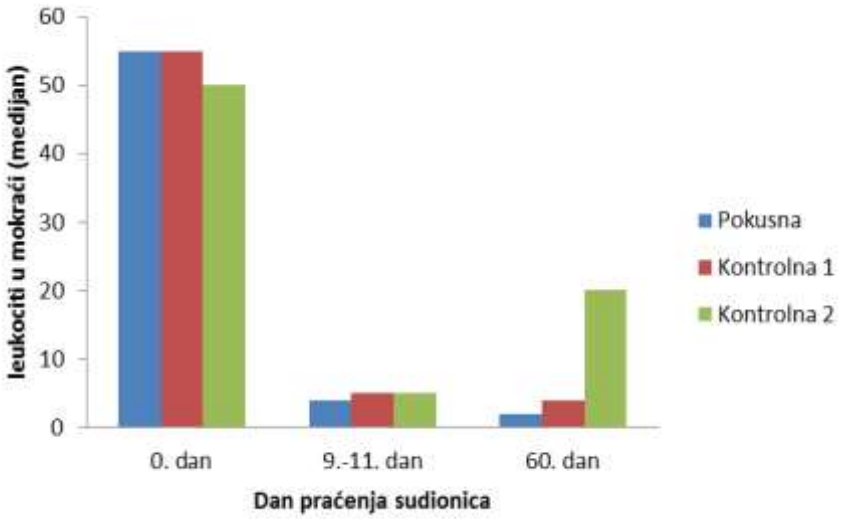
Slika 10. Prisutnost nitrita u mokraći tokom trajanja istraživanja



Slika 11. Prisutnost leukocita u mokraći tokom trajanja istraživanja



Slika 12. Prisutnost eritrocita u mokraći tokom trajanja istraživanja



Slika 13. Prisustnost broja leukocita /mm^3 u mokraći tokom trajanja istraživanja

Klinički efekt terapije

Klinički efekt terapije utvrđen je preko nestajanja simptoma.

- Na dan prvog posjeta liječniku svih 308 od 308 (100 %) ispitanica imale su simptome.
- Nakon antibiotske terapije 234 (76 %) ispitanica više nije imalo simptome. Od toga ih je 107/234 (45,7 %) uzimalo ciprofloksacin, a 127/234 (54,3 %) norfloksacin. U pokusnu skupinu je pripalo 83/234 (35,5 %) ispitanica bez simptoma, u prvu kontrolnu njih 74/234 (31,6 %), a u drugu kontrolnu 77/234 (32,9 %) ispitanica.
- Nakon uzimanja profilaktičke terapije broj ispitanica bez simptoma smanjio se na 188 od 308 ispitanice. Od toga je u pokusnoj skupini bila 81/188 (43,1 %) ispitanica, u prvoj kontrolnoj skupini 73/188 (38,8 %) ispitanice, a u drugoj kontrolnoj 34/88 (18,1 %) ispitanice.

U skupini ispitanica koje su uzimale D-manozu, nakon antibiotske terapije, u odnosu na početno stanje, statistički se značajno smanjio broj ispitanica bez simptoma (Wilcoxon test, $p<0,001$), a taj broj nije se statistički značajno promijenio do završetka profilaktičke terapije (Wilcoxon test, $p=0,732$).

U skupini ispitanica koje su uzimale nitrofurantoin, nakon antibiotske terapije statistički značajno se smanjio broj ispitanica bez simptoma u odnosu na početno stanje (Wilcoxon test, $p<0,001$), dok se taj broj do završetka profilaktičke terapije nije statistički značajno promijenio (Wilcoxon test, $p=0,876$).

U skupini ispitanica koje nisu dobivale profilaktičku terapiju, nakon antibiotske terapije došlo je do statistički značajnog smanjenja u broju ispitanica bez simptoma (Wilcoxon test, p<0,001), međutim nakon prestanka terapije broj ispitanica sa simptomima se statistički značajno povećao (Wilcoxon test, p<0,001) (tablica 29.).

Tablica 29. Klinički efekt terapije prema skupinama

	Pokusna		Kontrolna 1		Kontrolna 2	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Simptomi 0						
ne	0	(0)	0	(0)	0	(0)
da	103	(100)	103	(100)	102	(100)
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)
Simptomi nakon 1. terapije						
ne	83	(80,6)	74	(71,8)	77	(75,5)
da	20	(19,4)	29	(28,2)	25	(24,5)
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(100)
Simptomi nakon 2.terapije						
ne	81	(78,6)	73	(70,9)	34	(33,3)
da	22	(21,4)	30	(29,1)	68	(66,7)
ukupno	103	(100)	103	(100)	102	(102)

Klinički efekt terapije utvrđen je prema tijeku bolesti.

- Kod 88 (85,4 %) ispitanica iz pokusne skupine nakon završetka profilaktičke terapije D-manozom, 82 (79,6 %) ispitanica iz kontrolne skupine 1 nakon završene terapije nitrofurantoinom i 40 (39,2 %) ispitanica iz kontrolne skupine 2 bez profilaktičke terapije, nije bilo prisutnog uzročnika upale ($<10^3$ bakterija u mL mokraće) 60 dana nakon početka profilaktičke terapije.
- Nakon profilakse 15 (14,6 %) ispitanica iz pokusne skupine imalo je uzročnika u mokraći i to u 5 (33,4 %) slučaja relaps uzrokovan istim uzročnikom i u 10 (66,6 %) slučajeva reinfekcija uzrokovna drugim uzročnikom različitim od početne upale, 21

(20,4 %) ispitanica iz kontrolne skupine jedan i to 8 (38,1 %) relapsa i 13 (61,9 %) reinfekcija te 62 (60,7 %) ispitanice iz kontrolne skupine dva i to 27 (41,9 %) relapsa i 35 (56,4 %) reinfekcija (tablica 30.).

Tablica 30. Tijek bolesti prema skupinama

Tijek bolesti	pokusna (n=103)		kontrolna 1 (n=103)		kontrolna 2 (n=102)		ukupno	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Izliječenje nakon 1. i 2. terapije	88	(41,9)	82	(39)	40	(19)	210	(100)
Prisutnost bolesti nakon antibiotske terapije	8	(50)	7	(50)	0	(0)	15	(100)
reinfekcija	4	(57)	4	(50)	0	(0)	7	(100)
relaps	4	(50)	3	(43)	0	(0)	8	(100)
Ponovna upala nakon profilaktičke terapije - reinfekcija	10	(17,2)	13	(22,4)	35	(60,3)	58	(100)
Ponovna upala nakon profilaktičke terapije- relaps	5	(11,9)	8	(19,0)	27	(64,2)	42	(100)

3.2. Rezultati određivanja koncentracije D-manoze u serumu i mokraći zdravih ispitanica

Određivanje koncentracije D-manoze u serumu i u mokraći i utvrđivanja popratnih pojava uzimanja D-manoze izvršeno je u skupini zdravih žena (n=30) starijih od 18 godina, a koje unatrag godinu dana nisu imale bakterijsku upalu mokraćnih puteva ni uzimale antibiotike ni estrogene i koje nikada do tada nisu uzimale D-manozu. Žene su bile u dobi od 22 do 60 godina i dobile su jednokratno dozu D-manoze peroralno u količini od 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode. Koncentracija D-manoze određena je u serumu i mokraći neposredno prije uzimanja i u 1., 3. i 6. satu nakon uzimanja. Kod te skupine zdravih ispitanica pratio se utjecaj jednokratne doze D-manoze na koncentraciju glukoze u serumu te dolazi li do promjena biokemijskih parametara funkcije jetre i bubrega određivanjem

koncentracije ukupnog bilirubina, albumina, ureje, kreatinina i katalitičke koncentracije AST, ALT, AP i GGT u serumu. U svim uzorcima krvi određeni su navedeni parametri.

Određivanje koncentracije D-manoze u krvi zdravih ispitanica

Aritmetička sredina (standardna devijacija) koncentracije D-manoze u krvi zdravih ispitanica neposredno prije uzimanja D-manoze bila je 56,83 μmol/L (18,10), 1 sat nakon uzimanja 86,60 μmol/L (22,37), 3 sata nakon uzimanja 177,27 μmol/L (55,46), te 6 sati nakon uzimanja 63,93 μmol/L (19,93) (tablica 31.).

S obzirom da nijedna varijabla nije odstupala od normalne distribucije (Kolmogorov-Smirnov test), računati su parametrijski testovi.

Dobiveno je da se koncentracija D-manoze u krvi kod zdravih ispitanica statistički značajno razlikovala s obzirom na različite vremenske jedinice ($p<0,001$).

Tablica 31. Koncentracija D-manoze u krvi zdravih ispitanica (n=30) u različitim vremenskim jedinicama**;** doza 2 g D-manoze

	0h		nakon 1h		nakon 3h		nakon 6h		
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	p
D-manoza μmol/L	56,83	18,10	86,60	22,37	177,27	55,46	63,93	19,93	**<0,001**

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija

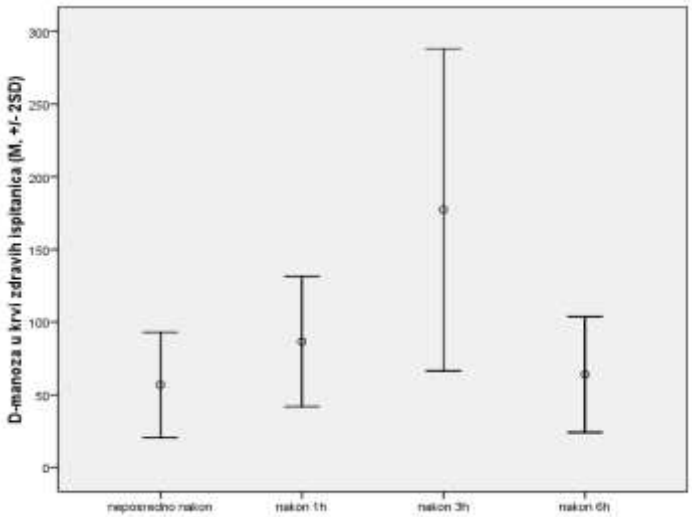
Analizom kontrasta utvrđen je statistički značajni kvadratični trend koncentracije D-manoze u krvi kod zdravih ispitanica. To znači da se prolaskom vremena razina D-manoze u krvi povećavala te dostigla najvišu razinu 3 sata nakon uzimanja, nakon čega je ponovno padala (slika 14.).

Koncentracija D-manoze u krvi zdravih ženskih osoba iznosila je 57 μmol/L (21-92 μmol/L).

Na temelju koncentracije D-manoze u krvi izračunato je vrijeme poluživota D-manoze u krvi prema formuli:

$\tau = - \ln 2 \times t / \ln (c/c^0)$

gdje je t = vrijeme, c = koncentracija u određenom vremenu, a c^o = početna koncentracija i ono iznosi od 1,7 do 3,3 sati, srednja vrijednost 2,5 sata.



Slika 14. Koncentracija D-manoze u krvi zdravih ispitanica (n=30) u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

Određivanje koncentracije D-manoze u mokraći zdravih ispitanica

Aritmetička sredina (standardna devijacija) D-manoze u mokraći zdravih ispitanica (n=30) neposredno nakon uzimanja D-manoze bila je 23,53 μmol/L (14,67), 1 sat nakon uzimanja 91,20 μmol/L (60,60), 3 sata nakon uzimanja 170,67 μmol/L (56,88), te 6 sati nakon uzimanja 72,33 μmol/L (38,09) (tablica 32.).

Dobiveno je da se koncentracija D-manoze u mokraći statistički značajno razlikovala s obzirom na različite vremenske jedinice (p<0,001).

Tablica 32. D-manoza u mokraći zdravih ispitanica (n=30) u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

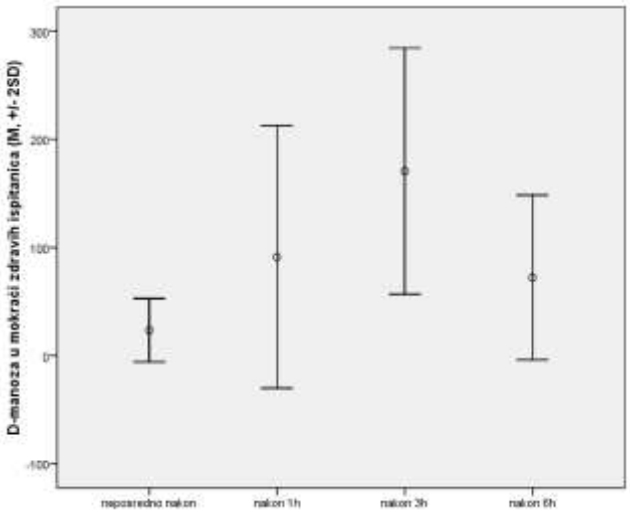
	nakon 0h		nakon 1h		nakon 3h		nakon 6h		
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	p
D-manoza μmol/L.	23,53	14,67	91,20	60,60	170,67	56,88	72,33	38,09	**<0,001**

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija

Analizom kontrasta utvrđen je statistički značajni kvadratični trend koncentracije D-manoze u mokraći kod zdravih ispitanica (p<0,001). Prolaskom vremena razina D-manoze u

mokraći se povećavala te je dostigla najvišu razinu 3 sata nakon uzimanja, nakon čega je ponovno padala (slika 15.).

Koncentracija D-manoze u mokraći zdravih ženskih osoba iznosila je 24 μmol/L (0-52 μmol/L).



Slika 15. Koncentracija D-manoze u mokraći zdravih ispitanica (n=30) u različitim vremenskim jedinicama**;** doza 2 g D-manoze

Određivanje utjecaja D-manoze na biokemijske parametre u serumu zdravih ispitanica i praćenje popratnih pojava

Koncentracije glukoze, ukupnog bilirubina, albumina, ureje, kreatinina i katalitičke koncentracije AST, ALT, AP i GGT u serumu zdravih ispitanica (n=30) tijekom perioda od 6 sati nakon uzimanja D-manoze nisu se statistički značajno promijenile. Sve vrijednosti bile su unutar referentnog raspona za odrasle ženske osobe prije uzimanja D-manoze kao i u svim ostalim uzorcima krvi uzorkovanim u različitim vremenima nakon uzimanja D-manoze. Kod svih 30 ispitanica tokom uzimanja D-manoze u dozi od 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode i tokom idućih 24 sata nakon uzimanja, nisu zabilježene nikakve popratne pojave (tablica 33.).

Tablica 33. Biokemijski parametri u serumu zdravih ispitanica (n=30) u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

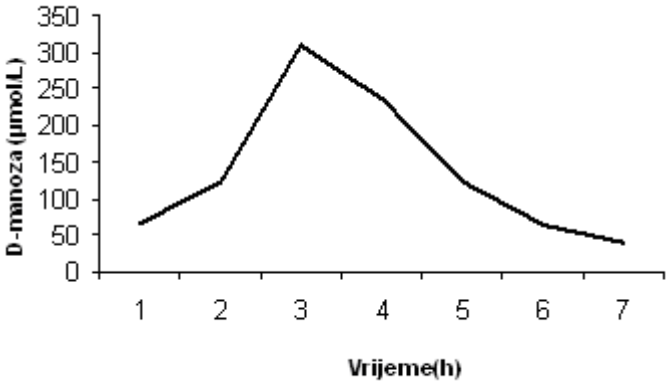
	nakon 0h		nakon 1h		nakon 3h		nakon 6h		
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	p
Glukoza mmol/L	4,54	0,49	4,49	0,44	4,43	0,39	4,47	0,48	0,277
Bilirubin µmol/L	11,60	3,57	11,50	3,67	11,40	3,32	11,27	3,00	0,574
AST U/L	17,23	3,80	16,50	3,98	16,53	4,20	16,60	3,94	0,301
ALT U/L	11,80	4,16	11,67	3,83	12,37	4,32	11,63	3,57	0,543
AP U/L	66,60	11,69	65,70	11,44	65,23	10,98	65,70	11,18	0,271
GGT U/L	11,90	4,68	11,57	3,54	11,43	2,98	11,70	3,50	0,616
Albumin g/L	46,07	3,57	45,90	3,37	43,13	3,40	45,93	3,66	0,866
Ureja mmol/L	4,23	1,31	4,09	1,25	4,10	1,21	4,08	1,23	0,088
Kreatinin µmol/L	71,40	9,38	70,53	8,26	70,50	7,87	70,40	7,87	0,519

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija, AST= aspartat aminotransferaza, ALT= alanin amniotransferaza, AP= alkalna fosfataza, GGT= gama-glutamiltransferaza

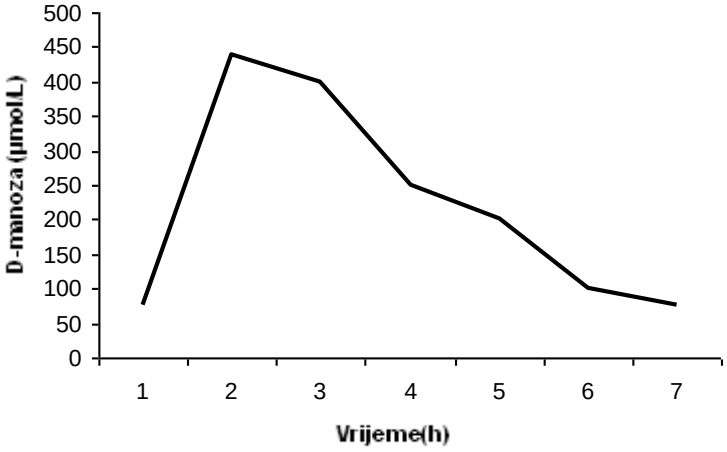
Određivanje koncentracije D-manoze u krvi i u mokraći zdravih ispitanica kod različitih doza i praćenje popratnih pojava

Određivanje koncentracije D-manoze u krvi i u mokraći kod različitih doza i utvrđivanje popratnih pojava uzimanja D-manoze izvršeno je u skupini od 15 zdravih žena u dobi od 28 do 59 godina. 12 ispitanica je dobilo jednokratnu dozu D-manoze ujutro natašte nakon 12-satnog gladovanja u količini 0,15 g/kg tjelesne težine otopljene u 200 mL vode, a 3 ispitanice su dobile D-manozu u koncentraciji 0,2 g/kg tjelesne težine otopljene u 200 mL vode. D-manoza je određena :

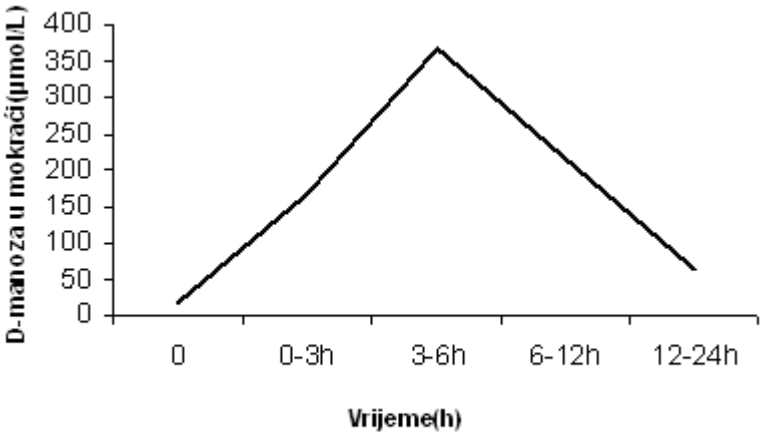
- u serumu prije davanja doze i nakon 1., 2., 3., 4., 5., i 7. sata
- u mokraći prije davanja doze te u uzorcima mokraće datim u intervalima od 0 do 3, 3 do 6, 6 do 12 i 12 do 24 sata nakon davanja doze (slike 16.-19.).



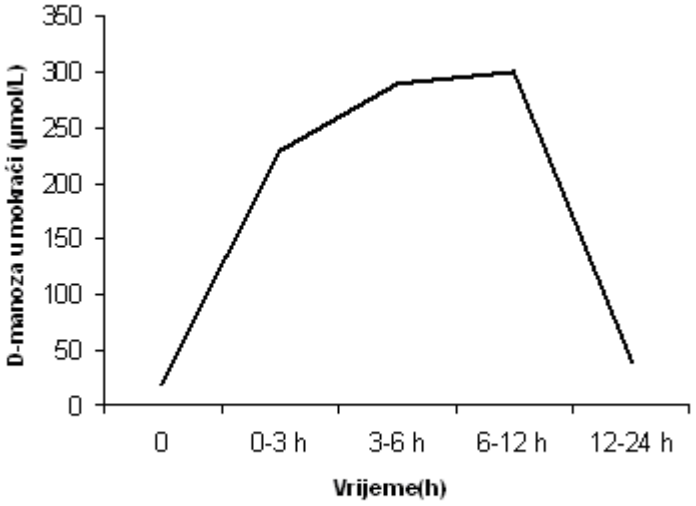
Slika 16. Koncentracija D-manoze u serumu zdravih ispitanica (n=12) doza 0,15 grama/kg tjelesne težine



Slika 17. Koncentracija D-manoze u serumu zdravih ispitanica (n=3), doza 0,2 grama/kg tjelesne težine



Slika 18. Koncentracija D-manoze u mokraći zdravih ispitanica (n=12), doza 0,15 grama/kg tjelesne težine



Slika 19. Koncentracija D-manoze u mokraći zdravih ispitanica (n=3), doza 0,2 grama/kg tjelesne težine

Koncentracija D-manoze u mokraći nakon uzimanja 0,15 g/kg tjelesne težine bila je najviša u mokraći sakupljenoj između 3. i 6. sata nakon uzimanja, a kod uzimanja 0,2 g/kg tjelesne težine najviše koncentracije D-manoze u mokraći dobivene su u mokraći sakupljenoj u periodu od 6 do 12 sati nakon uzimanja. Najviše vrijednosti koncentracije D-manoze u mokraći bile su 12 do 14 puta više nego bazalne vrijednosti.

U skupini od 12 ispitanica koje su dobile D-manozu u dozi od 0,15 g/kg tjelesne težine 2 (16,6 %) su navele kao popratnu pojavu lakše probavne smetnje oko pola sata nakon uzimanja D-manoze dok ostale ispitanice nisu navele popratne pojave. U skupini od 3 ispitanice koje su dobile D-manozu u dozi 0,2 g/kg tjelesne težine, 1 (33,3 %) je navela jače probavne smetnje 2 do 4 sata nakon uzimanja. Sve ostale ispitanice dobro su podnijele pripravak D-manoze.

3.3. Rezultati određivanja koncentracije D-manoze u serumu i mokraći bolesnica koje uzimaju D-manozu

U skupini ispitanica (n=30) s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje su uzimale 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode, određena je koncentracija D-manoze u serumu i mokraći prije i u 1., 3. i 6. satu nakon uzimanja.

Određivanje koncentracije D-manoze u krvi bolesnica

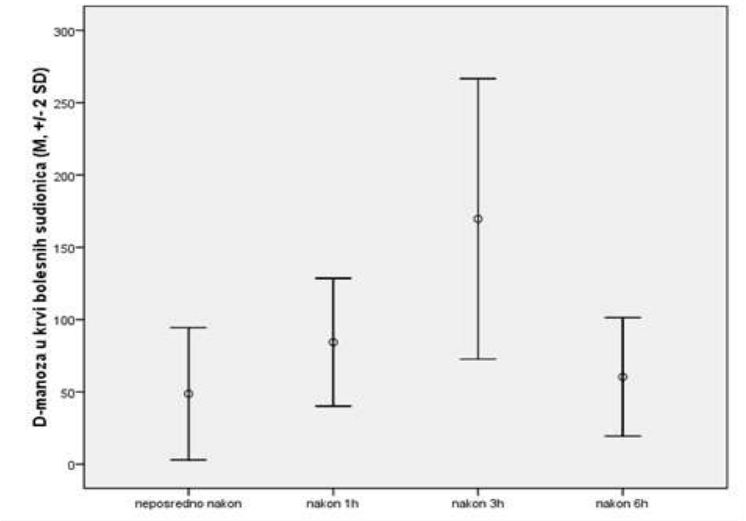
Dobiveno je da se koncentracija D-manoze u krvi kod ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura statistički značajno razlikovala s obzirom na različite vremenske jedinice (p<0,001) (tablica 34.).

Tablica 34. Koncentracija D-manoze u krvi ispitanica (n=30) sa ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

	nakon 0h		nakon 1h		nakon 3h		nakon 6h		
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	p
D-manoza µmol/L.	48,77	22,85	84,37	22,11	169,63	48,47	60,37	20,47	**<0,001**

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija

Analizom kontrasta utvrđen je statistički značajni kvadratični trend koncentracije D-manoze u krvi kod ispitanica s ponovljenim upalama mokraćnog mjehura (p<0,001). Prolaskom vremena razina D-manoze u krvi se povećavala te je dostigla najvišu razinu 3 sata nakon uzimanja, nakon čega je ponovno padala (slika 20.).



Slika 20. Koncentracija D-manoze u krvi ispitanica (n=30) s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u različitim vremenskim jedinicama ; doza 2 g D-manoze

Određivanje koncentracije D-manoze u mokraći bolesnica

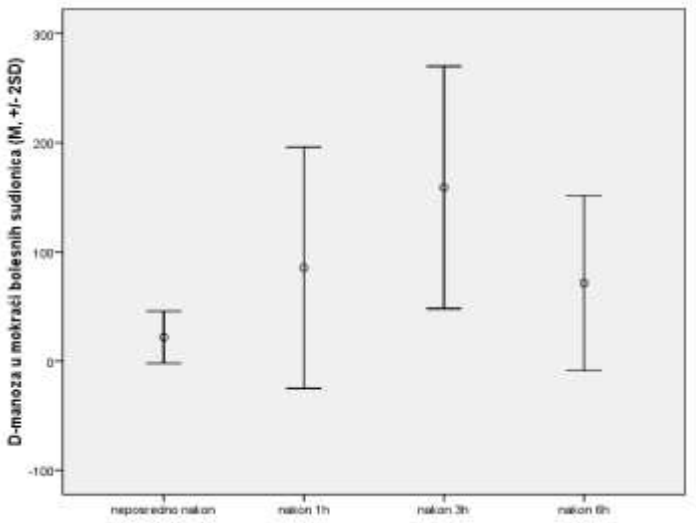
Dobiveno je da se koncentracija D-manoze u mokraći kod ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura statistički značajno razlikovala s obzirom na različite vremenske jedinice (p<0,001) (tablica 35.).

Tablica 35. Koncentracija D-manoze u mokraći ispitanica (n=30) s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

	nakon 0h		nakon 1h		nakon 3h		nakon 6h		
	M	SD	M	SD	M	SD	M	SD	p
D-manoza µmol/L.	21,83	11,92	85,43	55,20	159,03	55,52	71,40	40,18	**<0,001**

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija

Analizom kontrasta utvrđen je statistički značajni kvadratični trend koncentracije D-manoze u mokraći kod ispitanica s ponovljenim upalama mokraćnog mjehura (p<0,001). Prolaskom vremena razina D-manoze u mokraći se povećavala te je dostigla najvišu razinu 3 sata nakon uzimanja, nakon čega je ponovno padala (slika 21.).



Slika 21. Koncentracija D-manoze u mokraći ispitanica (n=30) s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u različitim vremenskim jedinicama; doza 2 g D-manoze

Usporedba koncentracije D-manoze u krvi i mokraći zdravih i bolesnih ispitanica

Nisu dobivene statistički značajne razlike (t-test) između zdravih ispitanica (n=30) i ispitanica sa ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura (n=30) u koncentraciji D-manoze u krvi niti u koncentraciji D-manoze u mokraći (tablica 36.i tablica 37.).

Tablica 36. Usporedba koncentracije D-manoze u krvi ispitanica (n=30) s i (n=30) bez upala mokraćnog mjehura; doza 2 g D-manoze

	sa UMM		bez UMM		
	M µmol/L.	SD	M µmol/L.	SD	p
neposredno nakon	48,77	22,85	56,83	18,10	0,135
nakon 1h	84,37	22,11	86,60	22,37	0,699
nakon 3h	169,63	48,47	177,27	55,46	0,572
nakon 6h	60,37	20,47	63,37	19,93	0,497

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija, UMM= upala mokraćnog mjehura

Tablica 37. Usporedba koncentracije D-manoze u mokraći ispitanica (n=30) s i (n=30) bez upala mokraćnog mjehura, doza 2 g D-manoze

	sa UMM		bez UMM		
	M µmol/L.	SD	M µmol/L.	SD	p
neposredno nakon	21,83	11,92	23,53	14,67	0,277
nakon 1h	85,43	55,20	91,20	60,60	0,574
nakon 3h	159,03	55,52	170,67	56,88	0,301
nakon 6h	71,40	40,18	72,33	38,09	0,543

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija, UMM= upala mokraćnog mjehura

3.4. Rezultati određivanja hematoloških i biokemijskih parametara upale kod bolesnica koje uzimaju D-manozu

U skupini ispitanica (n=30) s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje uzimaju D-manozu određeni su hematološki i biokemijske parametre upale – sedimentacija eritrocita (SE), broj leukocita (Lkc) u krvi, koncentracija C-reaktivnog proteina (CRP) u serumu i koncentracija interleukina 6 (IL-6) u mokraći prije i nakon 7 dana uzimanja D-manoze u dozi od 2 g otopljene u 200 mL vode navečer.

Od hematoloških i biokemijskih parametara, prije i nakon uzimanja D-manoze statistički se značajno razlikovao broj leukocita u krvi (t-test, p=0,019) te koncentracija IL-6 (t-test, p=0,022). U odnosu na broj leukocita (M=8,62, SD=3,01) prije uzimanja D-manoze, broj leukocita nakon 7 dana uzimanja D-manoze bio je niži (M=7,68, SD=2,04). Također, koncentracija IL-6 u mokraći prije uzimanja D-manoze bila je viša (M=24,70, SD=16,16), nego koncentracija IL-6 u mokraći nakon uzimanja D-manoze (M=19,30, SD=12,63). Sedimentacija eritrocita i koncentracija C-reaktivnog proteina nisu se statistički značajno razlikovali (tablica 38.).

Tablica 38. Biokemijski i hematološki parametri upale kod ispitanica s ponavljajućim upalama (n = 30) prije i nakon 7 dana uzimanja D-manoze; doza 2 g D-manoze

	prije uzimanja		nakon 7 dana		
	M	SD	M	SD	p
SE mm/3,6ks	12,23	5,66	11,70	5,29	0,467
Lkc G/L	8,62	3,01	7,68	2,04	**0,019**
CRP mg/L	4,44	2,67	4,70	2,24	0,681
IL-6 ng/L	24,70	16,16	19,30	12,63	**0,022**

KRATICE: M= aritmetička sredina, SD= standardna devijacija

4. Rasprava

Upale mokraćnih puteva ubrajaju se u najčešće bakterijske infekcije i jedan su od najčešćih razloga propisivanja antimikrobnih lijekova. Oko 50 % žena najmanje jedanput u životu ima upalu mokraćnih puteva. Te upale čine i 40-60 % svih bolničkih infekcija, a akutna upala mokraćnog mjehura jedna je od najčešćih bakterijskih upala kod žena.

Liječe se sve simptomatske upale mokraćnih puteva kod odraslih osoba i asimptomatske bakteriurije kod trudnica primjenom najmanje toksičnog i ujedno najjeftinijeg antimikrobnog lijeka u adekvatnoj dozi i dovoljno dugom razdoblju za uklanjanje infekcije. Antimikrobni spektar primijenjenog lijeka mora pokrivati spektar dokazanog ili očekivanog uzročnika, a što manje poremetiti normalnu crijevnu floru. Za pacijente s nekompliciranim upalama donjega dijela mokraćnog sustava bitno je da je primarni put izlučivanja preko mokraćnog sustava kako bi se postigla visoka razina lijeka u mokraći.

Liječenje cistitisa uobičajeno se započinje empirijskom antimikrobnom terapijom pri čemu je važno poštovati praćenu rezistenciju bakterija na antimikrobna sredstva. Nije problem izliječiti upalu lijekom na koji je mikroorganizam osjetljiv, već je izazov u mogućnosti sprečavanja rekurentnih upala.

Cilj terapije upala mokraćnih puteva je nestanak kliničkih simptoma i iskorjenjivanje infekcije u svrhu sprečavanja recidiva i acsendentne upale bubrega (1).

Rekurentne nekomplicirane upale mokraćnog sustava česte su među mlađim inače zdravim ženama bez anatomskih i funkcionalnih nepravilnosti mokraćnog sustava. Terapiju rekurentnih upala mokraćnog mjehura u osoba sa stalnim simptomima ili s visokim rizikom od progresivnog oštećenja bubrega, kao što su osobe u stacionarima, s ugrađenim kateterima i inkontinencijom, potrebno je provoditi kroz dulje vrijeme. Rizični čimbenik za rekurentne upale kod inače zdravih žena je spolna aktivnost, a kod postmenopauzalnih žena deficit estrogena koji imaju značajan efekt na vaginalnu floru *Lactobacillus* i održavanje niskog vaginalnog pH (226).

Rekurentne upale mokraćnog mjehura javljaju se kao relaps ili reinfekcija i to kod 20 do 50 % žena koje su imale jednom akutnu upalu. Relaps se obično pojavi rano, unutar mjesec dana, uzrokovan istim mikroorganizmom, a reinfekcija kasnije i to najčešće uzrokovane novim uzročnikom (34). 25 % žena ima rekurentnu upalu unutar 6 mjeseci od početne akutne epizode. Kod nekih žena su akutne pojave upala tako učestale da narušavaju normalni svakodnevni život pa je u takvim slučajevima potrebno uvesti profilaksu u trajanju od 6 mjeseci ili duže, a neki autori navode i period od 2 pa čak i do 5 godina (39,40).

Produžena terapija niskim dozama antibiotika vrlo vjerojatno selektira rezistentne bakterije, bolesnik postaje preosjetljiv na lijek, moguće je toksično djelovanje lijeka, nastanak

popratnih pojava, uništenje normalne crijevne i vaginalne flore i kao posljedica toga gastrointestinalni poremećaji i razvoj gljivičnih infekcija. Rizik od nuspojava raste s godinama života. Broj epizoda upala po pacijentu godišnje se smanji za 95 % za vrijeme antibiotske profilakse u usporedbi s placebom ili u usporedbi s periodom prije profilakse, ali kad se prekine profilaksa, čak i nakon dugog perioda uzimanja antibiotika, oko 60 % žena ima reinfekciju unutar 3 do 4 mjeseca (39).

Bakterije imaju razvijene mehanizme genske prilagodbe i zbog sve veće upotrebe antibiotika, bakterije su razvile mehanizme otpornosti na njih što često kompromitira uspjeh antibiotske terapije te se infekcije izazvane rezistentnim bakterijama sve teže liječe. Prije je najčešće propisivan antibiotik za tretman akutnog nekompliciranog cistitisa bio trimetoprim-sulfametoksazol, ali je sve više izvještaja o rezistenciji na njega širom svijeta. Također je sve veći stupanj rezistencije na ampicilin i gentamicin. Zbog dobrog prodora u tkiva, odlične eradikacije patogena iz spolno-mokraćnog sustava, dobrog prodora u biofilm koji obavija katetere, fluorokinoloni su uspješni lijekovi u terapiji upala mokraćnih puteva i pokazuju odličnu djelotvornost na Gram-negativne bakterije. Do rezistencije na fluorokinolone dolazi zbog mutacije gena koji kodiraju podjedinice enzima giraze i DNA topoizomeraze IV odgovornih za sintezu DNA. Bilježi se stalan porast rezistencije na njih (53). Rezistencija na ciprofloksacin i norfloksacin u Hrvatskoj u 2010. godini zabilježena je za uropatogenu *Escherichia coli,* koja uzrokuje više od 80 % svih nekompliciranih upala mokraćnog mjehura, 13 % i 12 %, dok je rezistencija na cefaleksin 8 %, koamoksiklav 4 %, gentamicin 6 %, amoksicilin 52%, trimetoprim-sulfametoksazol 24 % i kotrimoksazol 24 %. Rezistencija na nitrofurantoin, koji je jedan od lijekova preporučen za profilaktičko liječenje rekurentnih upala mokraćnog mjehura, za sada je stalno niska i iznosi za *Escherichia coli* 4 % što je za 10 % više nego prethodne godine dok je za ostale uropatogene *Enterobacteriaceae* visoka i iznosi od 30 do 98%. Hrvatska se ubraja u europske zemlje s visokom potrošnjom antibiotika, naročito ambulantno (227).

Zbog kronične prirode upala mokraćnog mjehura i sve veće antibiotske rezistencije, sve se više potiče primjena alternativnih oblika profilakse. Socijalni trendovi u brizi za zdravlje pokazuju pomak prema upotrebi prirodnih lijekova ili pomoćnih ljekovitih prirodnih pripravaka umjesto kemoterapeutskih sredstava. Nije zanemariva i niža cijena prirodnih proizvoda (57).

Idealno profilaktičko sredstvo trebalo bi se apsorbirati oralnim putem, izlučivati uglavnom mokraćom, biti aktivno protiv najčešćih patogena, dobro podnošljivo, netoksično, da ne izaziva popratne pojave, da se može dugotrajno koristiti i da nije skupo. Smatra se da bi

ugljikohidrati mogli biti takvo sredstvo. Ugljikohidrati su sveprisutni i predstavljaju najzastupljeniju vrstu molekula u prirodi. Sve stanične površine su presvučene složenim ugljikohidratima gdje funkcioniraju kao receptori za druge stanice, funkcionalne molekule i patogene. Mnoge upalne bolesti započinju vezanjem površinskih lektina patogenih mikroorganizama na komplementarne površinske ugljikohidrate tkiva domaćina. Ispitivanja *in vitro* dokazala su da se blokiranjem FimH-receptor interakcije može sprečiti bakterijska adhezija na uroepitelne stanice, a time i infekcija (213). Na tome se temelji antiadhezijska terapija. Antiadhezijska terapija ugljikohidratima je blaga i sigurna u usporedbi s kemoterapeutskim sredstvima. Ugljikohidrati su idealni za to jer izgleda da nisu toksični ni imunogeni, na njih se ne razvija rezistencija i mnogi od njih, koji su sposobni inhibirati bakterijsku adheziju, normalni su sastavni dijelovi staničnih površina ili tjelesnih tekućina. Takvu funkciju imaju i ugljikohidrati u majčinom mlijeku (202). Inhibicija bakterijskog vezanja na epitelne stanice uz ugljikohidrate poznata je od 1980. godine i obećavajući rezultati su dobiveni *in vitro* i *in vivo*, ali njihova uspješnost kod ljudi još nije sasvim potvrđena (228-232).

Preko 80 % uropatogenih bakterija imaju sposobnost adhezije na uroepitelne stanice i to putem organela za adheziju tip 1 fimbrija i P-fimbrija. Gotovo svi sojevi *Escherichia coli* koji uzrokuju upalu mokraćnog mjehura eksprimiraju tip 1 fimbrije koje omogućuju bakteriji vezanje na epitelne stanice specifičnim prepoznavanjem manosiliranih molekula na staničnoj površini. Adhezin FimH na vrhu fimbrije ima vezno mjesto za ugljikohidrat D-manozu. Dokazano je da se blokiranjem FimH-receptor interakcija sprečava bakterijska adhezija na uroepitel mokraćnog mjehura, a time sprečava i upala. Najjače djeluju u blokiranju te interakcije D-manoza i derivati D-manoze.

Dokazano je kako D-manoza inhibira vezanje uropatogene *Escherichia coli* na stanice mokraćnog mjehura brojnim pokusima *in vitro* i na eksperimentalnim upalama kod pokusnih životinja *in vivo* (209-216).

Za sada nema objavljenih istraživanja o upotrebi D-manoze kao terapijskog ili profilaktičkog sredstva kod upalnih bolesti ljudi. D-manoza se u terapiji upotrebljava samo kod bolesnika s prirođenim poremećajem glikozilacije CDG-Ib.

Cilj ovog rada bio je odrediti učinak neantibiotske profilakse upala mokraćnog mjehura u usporedbi s antibiotskom profilaksom, na broj ponavljajućih upala kod žena koje su podložne tim upalama. Kao neantibiotska profilaksa korišten je prirodni pripravak, dodatak prehrani, ugljikohidrat D-manoza u obliku praška, radi utvrđivanja profilaktičke uloge kod klinički i bakteriološki potvrđenih akutnih nekompliciranih upala mokraćnog mjehura

odraslih žena koje nisu trudne. Nije ispitivana uloga D-manoze kod trudnica jer nema podatka o neškodljivosti D-manoze za fetus. Istraživanja na eksperimentalnim životinjama pokazala su teratogenost D-manoze na embrije štakora (109).

U istraživanju je sudjelovalo ukupno 308 žena u dobi od 20 do 79 godina, koje su imale dijagnozu akutne nekomplicirane upale mokraćnog mjehura i koje su imale više od dvije epizode akutne upale mokraćnog mjehura u posljednjih 6 mjeseci, odnosno više od tri epizode akutne upale mokraćnog mjehura u posljednjih 12 mjeseci. Na temelju postavljenih uvjeta za uključivanje u istraživanje i nakon svojevoljnog pristanka, uključene su pacijentice koje su kod dolaska liječniku imale prisutna najmanje 2 simptoma akutne upale mokraćnog mjehura i koje su imale najmanje 10^3 bakterija u mL mokraće, dobivene čistim srednjim mlazom, izoliran uzročnik upale i prisutnu leukocituriju ≥10 leukocita/mm^3 i/ili pozitivne nitrite u mokraći. Pacijentice su imale incidenciju od 2,0 upale po pacijentici godišnje što odgovara prosječnoj incidenciji broja rekurentnih upala od 1,6 do 2,6 upala po pacijentu na godinu (220). Ispitanice nisu imale znakova upale gornjih dijelova mokraćnog sustava, nisu imale povišenu tjelesnu temperaturu, a rezultati hematoloških parametara: sedimentacija eritrocita, broj leukocita u krvi i biokemijskih parametara: koncentracija C-reaktivnog proteina, glukoze, ureje, kreatinina, mokraćne kiseline, natrija i kalija u serumu bili su unutar referentnog raspona. S obzirom na uzročnika upale pokazalo se kako je najučestalija bakterija bila *Escherichia coli* što odgovara podacima o najčešće izoliranom uzročniku kod nekompliciranih upala mokraćnih puteva (1) i najčešće izoliranom klinički značajnom izolatu na području cijele RH i podatku da su upale mokraćnih puteva najčešće bakterijske upale odrasle dobi (227). Najveći broj ispitanica imalo je 10^4 bakterija u čistom srednjem mlazu mokraće. Nije bilo statistički značajne razlike u osnovnim demografskim karakteristikama, anamnestičkim podacima i medicinskim karakteristikama među ispitanicama uključenim u istraživanje. Na temelju jasnih kriterija uključivanja, faktori kao što su temperatura, komplikacije upale, bolesti spolnog sustava, kao i ostale bolesti (šećerna bolest, bubrežne bolesti) te trudnoća, bili su isključeni. Osnovne karakteristike među skupinama nisu se razlikovale po nekom bitnom čimbeniku. Skupine su slične po broju sudionika, godinama, obrazovanju, indeksu tjelesne mase, pre/postmenopauzi, spolnoj aktivnosti, broju medicinskih problema - broju bakterija u mokraći, leukocita, eritrocita, nitrita u mokraći, broju prijašnjih upala, simptomima, vrsti simptoma, dominantnim izoliranim bakterijama. Ispitanice nisu nikad prije koristile pripravak D-manoze. Izabrane ispitanice predstavljale su tipičnu skupinu žena za rizik od ponovne upale mokraćnog mjehura.

Na dan prvog posjeta liječniku sve su ispitanice bile u akutnoj fazi nekomplicirane upale mokraćnog mjehura i dobile su preporučenu antibiotsku terapiju ciprofloksacin 2x500 mg dva puta na dan kroz 7 dana ili norfloksacin 2x400 mg dva puta na dan kroz 7 dana. Nije bilo slučaja bakterijske rezistencije na nalazu antibiograma na antibiotike koji su se koristili. Ovi antibiotici izabrani su prema preporukama grupe ISKRA, kao ciljana terapija prema antibiogramu kao i zbog njihove efikasnosti i zbog neuspjeha nekih od prethodno provedenih terapija (1).

Ciprofloksacin iz grupe 2 i norfloksacin iz grupe 1 fluorokinolona su antibiotici širokog spektra koji djeluju tako da interferiraju s bakterijskim genetskim materijalom inhibirajući bakterijsku topoizomerazu (DNA girazu) i time sprečavaju reprodukciju bakterija. Vrlo su efikasni, ali ne smiju se koristiti kod trudnica i djece. Učinak liječenja upala mokraćnog mjehura, u toj istoj dozi i vremenu primjene, eradikacija bakterija ciprofloksacinom se postigla u 93 % slučajeva, a norfloksacinom u 98 % slučajeva (233). U ovom radu korištena je također moguća preporučena sedmodnevna terapija antibiotikom kako bi se postigla sigurna eradikacija bakterija jer se radilo o osobama s prethodnim rekurentnim upalama (1). Popratne pojave kod primjene ciprofloksacina javljaju se u 26 % slučajeva, a norfloksacina u 24 % slučajeva. Mogu izazvati fototoksične kožne reakcije, cerebralne disfunkcije, naročito kod djece i starijih. Skuplji su i razvijaju rezistenciju u zemljama gdje se koriste u primarnoj zdravstvenoj zaštiti (234-236). Kod ispitanica u ovom ispitivanju, popratne pojave kod uzimanja ciprofloksacina bile su prisutne kod 19 (6 %), a kod uzimanja norfloksacina kod 25 (8 %) ispitanica. U ovom radu uspjeh antibiotske terapije bio je eradikacija bakterija i sterilna kultura mokraće u 95 % slučajeva.

Po prestanku antibiotske terapije, bolesnice su podijeljene u tri skupine. Pokusna skupina je dobila kao profilaksu pripravak D-manoze u obliku praška za upotrebu *per os* kao prirodni pripravak izoliran iz voća u dozi od 1 čajne žlice (2 g) navečer otopljene u 200 mL vode. Kontrolna skupina jedan dobila je standardnu antibiotsku profilaksu nitrofurantoin (Ninur®, Belupo) u dozi od 50 mg navečer. Kontrolna skupina dva nije dobila profilaksu. Svima je preporučeno uzimanje dosta tekućine kroz cijelo razdoblje (više od dvije litre dnevno). Vremensko razdoblje praćenja bilo je 60 dana. Ako se u bilo koje vrijeme pojavilo pogoršanje osnovne bolesti, pogoršanje simptoma, jake popratne pojave, sumnja na akutni pijelonefritis, bolesnica se morala odmah javiti liječniku. Pacijentice koje su ponovo dobile simptome i znakove akutne upale mokraćnog mjehura prekidale su praćenje i dobile su odgovarajući antibiotik. Od ukupno 308 ispitanica, njih 98 (31,8 %) prijavilo je ponovnu upalu mokraćnog mjehura u razdoblju od 60 dana trajanja profilakse i to prosječno 30. dan.

Pokusna skupina (D-manoza) i kontrolna skupina jedan (nitrofurantoin) nisu se razlikovale statistički značajno s obzirom na broj ponovnih upala. Između pokusne i kontrolne skupine dva (bez profilaktičke terapije) postojala je statistički značajna razlika. Ispitanice iz kontrolne skupine dva bile su statistički značajno sklonije ponovnim upalama

Pri trećem posjetu liječniku, 60. dan nakon početka profilakse ispitanice su ponovno dale podatke o simptomima i popratnim pojavama te uzorke mokraće na testiranje. Usporedba učinkovitosti D-manoze i antibiotika pokazuje da je u pokusnoj skupini po završetku ispitivanja bilo 8 ispitanica više bez ikakvih simptoma upale nego u kontrolnoj skupini jedan. Kako je prisutnost simptoma samo jedan od znakova upale, a ovisi o subjektivnoj procjeni pacijentice, taj podatak se ne slaže s bakteriološkim i laboratorijskim potvrdama ponovne upale. Samo prisutnost simptoma nije glavni klinički evaluacijski kriterij za postavljanje dijagnoze upale mokraćnog mjehura. Dijagnoza ponovne upale postavljena je na osnovi leukociturije i broja bakterija u mokraći.

210 (68,2 %) ispitnica nije imalo bakterije u uzorku mokraće. U pokusnoj skupini bilo je 15 (14,6 %) ispitanica s bakterijama, u kontrolnoj skupini jedan 21 (20,4 %), a u kontrolnoj skupini dva 62 (60,7 %) ispitanice s bakterijama u mokraći. U pokusnoj skupini bilo je 6 ispitanica više bez bakterija u mokraći nego u kontrolnoj skupini jedan. Profilaktička upotreba D-manoze u smanjenju bakteriurije i leukociturije bila je uspješna kao i antibiotska profilaksa preporučenim antibiotikom, a naročito uspješna u usporedbi sa skupinom žena koje nisu dobile profilaksu.

U razdoblju od 60 dana ponovna pojava upale mokraćnog mjehura javila se kod 98 pacijentica i to prosječno 30. dan (20-41 dan) s tim da se u pokusnoj skupini ponovna upala javila kasnije (43. dan) nego u kontrolnim skupinama (24. i 28. dan) što ukazuje na uspješnost primjene D-manoze u profilaksi upala.

Nitrofurantoin se upotrebljava samo za liječenje upala mokraćnog mjehura jer za sistemske infekcije ne postiže dovoljnu koncentraciju u serumu. Zbog brze apsorpcije u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta producira minimalno uništenje crijevne flore i manje vaginitisa. To je sintetski kemoterapeutik koji svoje djelovanje ostvaruje inhibirajući sintezu bakterijskih proteina. Djeluje baktericidno prema najčešćim uzročnicima upala mokraćnog sustava. Izlučuje se mokraćom, efikasan je u dugotrajnoj terapiji niskim dozama, ali je povezan s čestim i jakim popratnim pojavama kao što su akutne plućne reakcije, alergijske reakcije, leukopenije, oštećenje jetre, oštećenje sluznice probavnog trakta, naročito kod starijih osoba, a ne smiju ga uzimati ljudi s oštećenjem bubrega i neurološkim poremećajima niti trudnice. Ne preporuča se uzimanje dijabetičarima i osobama s manjkom vitamina B

skupine. Zbog svega navedenog njegova je uportreba ograničena. Nije skup i unatoč dugotrajnoj primjeni i dalje je niska stopa rezistencije na taj lijek. Uspješnost prevencije upala nitrofurantoinom je u smanjenju upala po pacijentu godišnje na 0 do 0,6 u u odnosu na 1,12 do 3,6 upala po osobi godišnje s upotrebom placeba (237).

U ovom radu uspješnost liječenja nitrofurantoinom kao preporučenim profilaktičkim lijekom u dozi od 50 mg navečer bila je: eradikacija bakteriurije od 79,6 % uz 27,2 % ispitanica sa zabilježenim popratnim pojavama. U radu Bailey i suradnika kod 25 žena s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura liječenih nitrofurantoinom u dozi od 50 mg kroz 3 mjeseca bila je uspješnost liječenja 88 % uz 14 % pacijentica s popratnim pojavama dok je u skupini pacijentica koje su uzimale placebo, od 25 pacijentica 15 dobilo ponovnu upalu unutar 3 mjeseca (238). Kod 48 žena s istom dozom nitrofurantoina uspješnost liječenja bila je 80 %, a popratne pojave zabilježene kod 20 % pacijentica (239), dok je kod 47 pacijentica u periodu od 6 mjeseci uspješnost izlječenja bila kod njih 70 % uz popratne pojave kod 17% sudionika. (240). Kod 66 pacijentica praćenih 12 mjeseci, uspješnost profilaktičkog liječenja nitrofurantoinom bila je 84 %, a prisutne popratne pojave kod 27 % (241). Navodi se da 15% pacijenata s rekurentnim upalama ne odgovara ni na nitrofurantoin ni na druge profilaktičke antibiotike (242).

U skupini ispitanica koje su koristile D-manozu bilo je manje ponovnih upala, više ispitanica bez simptoma, manje ispitanica sa bakterijama, leukocitima i nitritima nego u ostale dvije skupine ispitanica. Ispitanice koje su koristile D-manozu imale su statistički značajno manje popratnih pojava od ispitanica koje su koristile antibiotsku terapiju.

Iz rezultata kontrolne skupine dva, koja je nakon početne upale liječenja antibiotikom i dalje kroz razdoblje od 60 dana nije ničim bila profilaktički tretirana, a pojava ponovne upale, broja simptoma, bakteriurije i leukociturije bila je najveća u odnosu na pokusnu skupinu i kontrolnu skupinu jedan, može se zaključiti da kod pacijentica, koje su podložne rekurentnim upalama mokraćnog mjehura, samo terapija početne epizode upale antibiotikom nije dovoljna, već se mora uključiti i profilaksa.

D-manoza se pokazala kao uspješno sredstvo za profilaktičku primjenu kod žena koje su podložne rekurentnim nekompliciranim upalama mokraćnog mjehura. Uspješnost liječenja potvrđena je klinički smanjenjem simptoma, a bakteriološki smanjenjem bakteriurije i leukociturije kao osnovnih pokazatelja upale. Uspješnost u terapiji upala mokraćnog mjehura pripravka D-manoze jednaka je kao i uspješnost profilaktičkog liječenja nitrofurantoinom, po preporukama najčešće korištenim antibiotikom, kroz razdoblje od 2 mjeseca. Kod upotrebe D-manoze kroz to razdoblje zabilježeno je manje popratnih pojava nego kod korištenja

antibiotika. Zbog toga je i prednost D-manoze u odnosu na antibiotik veća jer je D-manoza prirodni proizvod, prikladan za upotrebu jer je glavni put izlučivanja manoze preko mokraće, lakše se podnosi od antibiotika i na njega se ne može razviti rezistencija bakterija.

Kako bi se dokazalo da se pripravak D-manoze u obliku praška kao vodena otopina uzeta *per os* apsorbira, pojavljuje u krvi i izlučuje mokraćom, određivana je koncentracija D-manoze pomoću enzimske metode.

Dobivene su vrijednosti koncentracije D-manoze u serumu zdravih odraslih žena (n=30) 57 µmol/L (21-92 µmol/L). Dobivene vrijednosti koncentracije D-manoze u mokraći zdravih odraslih žena (n=30) bile su 24 µmol/L (0-52 µmol/L).

U literaturi se navode različite vrijednosti koncentracije D-manoze u krvi i mokraći, ovisno o metodologiji određivanja. Enzimskom metodom u kojoj je glukoza eliminirana iz uzorka uz glukoza oksidazu, dobivene su vrijednosti koncentracije D-manoze u serumu od 55 µmol/L (32,7-74,9 µmol/L) kod 22 zdrave trudnice, a povišene vrijednosti kod trudnica sa šećernom bolesti (122). Kod 14 novorođenčadi enzimskom metodom dobivene su vrijednosti u serumu 69,8 µmol/L (48,6-111,75 µmol/L) (152). Kod 6 zdravih osoba dobivena je koncentracija od 18,5 µmol/L (13-24 µmol/L) (123), a kod 21 zdrave osobe koncentracija D-manoze u serumu bila je od 0 do 58 µmol/L (121). Također su slični rezultati dobiveni i enzimskom metodom uz upotrebu glukokinaze 54,1 µmol/L (42,2-66,1 µmol/L) gdje su rezultate određivanja D-manoze potvrdili i metodom anionske-izmjenjivačkle kromatografije visoke učinkovitosti (124).

U ovom radu najviše koncentracije D-manoze u serumu i mokraći zdravih žena (n=30) dobivene su u vremenu od 3 sata nakon uzimanja 2 g D-manoze.

D-manoza se brzo apsorbira, maksimalne koncentracije u krvi postiže, ovisno o dozi, idućih 2 do 4 sata i vraća se na bazalnu vrijednost za 6 do 7 sati.

U ovom radu najviše vrijednosti koncentracije D-manoze u krvi nakon uzimanja 0,15 g/kg tjelesne težine (n=12) bila je nakon 3 sata od uzimanja uz pad na vrijednost prije uzimanja nakon 6 sati. Kod veće doze od 0,2 g/kg tjelesne težine (n=3) najviši porast u krvi bio je 2 sata nakon uzimanja, a pad na početnu vrijednost nakon 6 sati.

Nakon uzimanja D-manoze, koncentracija D-manoza u serumu dostigla je 4 do 6 puta više vrijednost od normalnih. Na temelju koncentracije D-manoze u krvi izračunato je vrijeme poluživota u serumu D-manoze iz krvi i ono iznosi 1,7 do 3,3 sata, srednja vrijednost 2,5 sata. U literaturi se navodi vrijeme poluživota kod štakora od 30 min (95), kod miševa 28 minuta (96), a kod ljudi 4 sata (133). Na dobivenu razliku u vremenu poluživota D-manoze u krvi vjerojatno je utjecala različita metodologija određivanja (kod životinja pomoću radioaktivno

obilježene D-manoze) dok su ispitivanja na ljudima rađena tek u nekoliko slučajeva i to na malom broju ispitanika (86).

Studije na ljudima i životinjama pokazale su da se oralno uzeta D-manoza brzo apsorbira, povisi u krvi 3 do 10 puta i izluči za nekoliko sati, pojavljuje se u mokraći od pola sata nakon uzimanja do 10 sati nakon uzimanja (134,165). Davanjem 0,15g/kg tjelesne težine koncentracija D-manoze se povisila na razinu od 490 μmol/L 90 minuta nakon davanja bez popratnih pojava (86). U ovom radu koncentracija D-manoze u mokraći nakon uzimanja 0,15 g/kg tjelesne težine bila je najviša u mokraći sakupljenoj između 3. i 6. sata nakon uzimanja, a kod uzimanja 0,2 g/kg tjelesne težine najviše koncentracije D-manoze u mokraći dobivene su u mokraći sakupljenoj u periodu od 6 do 12 sati nakon uzimanja. Najviše vrijednosti koncentracije D-manoze u mokraći bile su 12 do 14 puta više nego bazalne vrijednosti što se slaže s literaturnim podacima (86).

U svim uzorcima krvi određena je i koncentracija glukoze, bilirubina, albumina, ureje, kreatinina i katalitičke koncentracije aspartat-aminotransferaze, alanin-aminotransferaze, alkalne fosfataze i gamaglutamil-transferaze u serumu. Sve vrijednosti bile su unutar referentnog raspona za odrasle ženske osobe, prije uzimanja jednokratne doze od 2 g D-manoze kao i u svim ostalim uzorcima krvi vađenim u različitim vremenima nakon uzimanja D-manoze. Nije bilo utjecaja jednokratnog uzimanja preparata D-manoze na određivane biokemijske parametre funkcije jetre i bubrega niti utjecaja na koncentraciju glukoze u serumu.

U istraživanju s D-manozom doziranom kao 0,5 g/kg tjelesne težine zabilježen je porast bilirubina za oko 30 % nakon 8 sati (103), dok drugi autori ne navode porast bilirubina (95). U tom radu navodi se da uzimanje D-manoze ne utječe na koncentraciju glukoze, a najviši porast koncentracije manoze zabilježen je 90 minuta nakon uzimanja. Doza od 0,17 g/kg tjelesne težine povisi razinu D-manoze u krvi i do 4 puta s najvišom vrijednosti 2 sata nakon uzimanja bez utjecaja na testove bubrežne i jetrene funkcije i bez utjecaja na koncentraciju glukoze (133).

U ovom radu skupina od 30 zdravih ispitanica koja je dobivala dozu od 2 g D-manoze nije navela popratne pojave. U skupini od 12 ispitanica koje su dobile D-manozu u dozi od 0,15 g/kg tjelesne težine dvije su navele kao popratnu pojavu lakše probavne smetnje oko pola sata nakon uzimanja D-manoze dok ostale ispitanice nisu navele popratne pojave. U skupini od 3 ispitanice koje su uzele D-manozu u dozi 0,2 g/kg tjelesne težine jedna je navela jače probavne smetnje 2 do 4 sata nakon uzimanja pa se iz tog razloga nije provodilo daljnje ispitivanje s tom dozom.

Doza od 0,2 g/kg tjelesne težine navodi su u literaturi kao doza koja kod polovice ispitanika izaziva probavne smetnje i zato se smatra da se D-manoza može upotrijebiti najviše u dozi od 0,15 g/kg tjelesne težine (26). U drugim radovima navode dozu od 0,5 g/kg tjelesne težine kao onu koja je još dozvoljena i koja ne izaziva smetnje (86,103).

Ovo istraživanje pokazalo je da se D-manoza dobro apsorbira, da postoji porast koncentracije manoze u krvi s maksimalnom koncentracijom 2 do 3 sata nakon oralno uzete jednokratne doze od 2 g, vremenom poluživota u serumu od 2,5 sata i pojavom u mokraći s najvišom koncentracijom u mokraći 3 sata nakon uzimanja. Izlučivanje manoze mokraćom ovisno je o dozi. Povećanjem doze pomiče se vrijeme izlučivanja najviše koncentracije D-manoze mokraćom na period od 6. do 12. sata nakon uzimanja jednokratne doze, što bi moglo biti smjernica za preporuku doziranja.

Korištena doza od 2 g D-manoze otopljene u 200 mL vode jednom dnevno navečer kod ispitanica s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura pokazala se kao doza koja djeluje kao uspješno profilaktičko sredstvo djelotvornosti kao i preporučeni antibiotik, a s manje popratnih pojava. Kako je većina ispitanica bila povišene tjelesne mase na temelju izračunatog indeksa tjelesne mase, pretpostavlja se da bi povišenje doze na 4 g dnevno raspoređenih u dvije doze (ujutro i navečer zbog maksimalnog izlučivanja mokraćom unutar 12 sati) moglo dati još bolje rezultate u profilaksi rekurentnih upala.

Koncentracija D-manoze određena je i skupini ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje su uzele D-manozu u dozi od 2 g u 200 mL tekućine. Prije uzimanja D-manoze koncentracija manoze u krvi bila je 49 µmol/L s najvišom vrijednosti 3 sata nakon uzimanja dok je u mokraći izmjereno 22 µmol/L prije uzimanja s najvišom vrijednosti također 3 sata nakon uzimanja. Nisu dobivene statistički značajne razlike između zdravih ispitanica i ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura u koncentraciji D-manoze u krvi niti u mokraći.

U skupini ispitanica s ponavljajućim upalama mokraćnog mjehura koje su uzimale D-manozu određeni su hematološki i biokemijski parametri upale – sedimentacija eritrocita, broj leukocita u krvi, koncentracija C-reaktivnog proteina u serumu i koncentracija interleukina 6 u mokraći prije i 7 dana nakon uzimanja D-manoze u dozi od 2 g otopljene u 200 mL vode. Kod nekompliciranog cistitisa, u slučaju liječenja, očekuje se da se do 7. dana sanira upala i normaliziraju upalni parametri. Statistički se značajno razlikovao broj leukocita u krvi te koncentracija IL-6 u mokraći. U odnosu na broj leukocita prije uzimanja D-manoze, broj leukocita nakon 7 dana uzimanja D-manoze bio je niži. Također, koncentracija IL-6 u mokraći prije uzimanja D-manoze bila je viša nego koncentracija IL-6 nakon uzimanja D-

manoze. Smanjenje broja leukocita u krvi i koncentracije IL-6 u mokraći nakon 7 dana uzimanja D-manoze moglo bi se pripisati pripravku D-manoze. Vrijednosti sedimentacije eritrocita i CRP-a nisu se značajno promijenile što može upućivati na to da je nekomplicirana upala mokraćnog mjehura lokalnog, a ne sistemskog karaktera što se slaže s literaturnim podacima (23,26).

Cilj ovog rada bilo je ispitati djelotvornost profilaktičke primjene ugljikohidrata D-manoze u žena s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura.

Glavni klinički evaluacijski kriterij je bio broj ponovnih akutnih epizoda upale mokraćnog mjehura koje su potvrđene po postavljenim dijagnostičkim kriterijima. Učinkovitost istraživanja je određena na bazi bakteriološkog odgovora uzročnika bolesti i kliničkog odgovora pacijenta. Kako se radilo o populaciji žena koje su tipična grupa za rizik od ponovne upale mokraćnog mjehura, a nisu imale anatomski ni funkcionalne abnormalnosti mokraćnog sustava, kako su sve žene bile slične po svim osnovnim karakteristikama i nije bilo statistički značajne razlike među skupinama te nisu nikada prije koristile D-manozu, a kako je dokazano da normalno mokraća sadrži vrlo malo D-manoze, da se D-manoza pojavljuje u mokraći i izlučuje kroz nekoliko sati nakon jednokratnog uzimanja, jedina objašnjavajuća varijabla u skupini žena koje su uzimale D-manozu u uspješnosti smanjenja bakteriurije, leukociturije i smanjenja broja ponovnih upala može se pripisati pripravku D-manoze. D-manoza se pokazala uspješna u profilaksi ponovnih upala mokraćnog mjehura i kod žena u pre- i post-menopauzi kao prirodan proizvod koji ima rijetke popratne pojave i to u obliku probavnih smetnji, a kao prirodan pripravak dobiven iz biljaka prikladan je za dugotrajnu upotrebu. Slobodno se može koristiti i više od doze od 2 g dnevno, maksimalno do 0,15 g po kg tjelesne težine.

Profilaktička primjena ugljikohidrata D-manoze kod žena s rekurentnim upalama mokraćnog mjehura praćenih u razdoblju od 2 mjeseca, pokazala se djelotvorna kao i profilaksa preporučenim antibiotikom, ali uz manje popratnih pojava, a značajno djelotvornija u usporedbi sa skupinom žena bez ikakve profilaktičke terapije.

S obzirom na to da je dokazano da D-manoza ne utječe na promjenu koncentracije biokemijskih parametara funkcije jetre i bubrega i ne utječe na koncentraciju glukoze u serumu, upotreba D-manoze bi se mogla ispitati i na dječjoj populaciji i na skupini dijabetičara. Također bi se moglo ispitati da li mokraća osoba koje uzimaju D-manozu ima inhibitorni efekt na adheziju *Escherichia coli* na kulture stanica kao i na inhibiciju hemaglutinacije *in vitro*.

Budućnost ugljikohidrata kao profilaktičkih antiadhezijskih pripravaka predviđa se u aplikaciji na mjesta upale te u kombinaciji antibiotika i ugljikohidratnih pripravaka kod pacijenata kojima se na kateterima stvara mikrobna zajednica fenotipski promijenjenih i time znatno otpornijih bakterija – biofilm. U tom slučaju vezane bakterije ne reagiraju na antibiotike. Uz pomoć ugljikohidrata koji sprečavaju adheziju, smatra se da bi se bakterije mogle naći u suspenziji i antibiotici bi tada na njih mogli djelovati (243).

Kako je do sada glavni terapeutski pristup liječenja upala mokraćnih puteva uzimanje antibiotika, koji su uspješni u akutnoj fazi bolesti, za pacijente s rekurentnim upalama, ponavljano uzimanje antibiotika, čak i u terapeutskim dozama, razvija rezistentne bakterijske sojeve i narušava imuni sistem bolesnika. Zbog toga se sve više nastoji naći prirodna dugotrajna profilaksa što je i uključeno u nacionalne smjernice ISKRA za liječenje upala mokraćnog sustava (1). Usmjeravanje na racionalno korištenje antibiotika i aktivno uključivanje u sprečavanje širenja multirezistentnih sojeva preporuke su „Nacionalnog programa za kontrolu otpornosti bakterija na antibiotike za razdoblje od 2009. do 2014. godine“ koji obuhvaća implementaciju smjernica ISKRA te napominje da se problem rezistencija bakterija na antibiotike mora shvatiti kao globalni problem s ciljem zaustavljanja širenja rezistencije (244,245).

5. Zaključci

D-manoza je jednako učinkovita kao i profilaktička primjena antibiotika u sprečavanju akutnih nekompliciranih upala mokraćnog mjehura kod odraslih žena koje imaju povećani rizik od rekurentnih upala mokraćnog mjehura.

- D-manoza je učinkovitija u profilaksi upala mokraćnog mjehura žena koje su podložne tim upalama u odnosu na skupinu žena koje ne uzimaju profilaktičku terapiju.
- D-manoza smanjuje broj rekurentnih epizoda upala mokraćnog mjehura kod odraslih žena, smanjuje bakteriuriju i leukocituriju te smanjuje simptome upale.
- Tretman akutne upale mokraćnog mjehura preporučenim antibiotikom uz daljnje profilaktičko uzimanjem D-manoze učinkovitiji je u sprečavanju rekurentnih upala nego samo uzimanje antibiotika.
- Kod dnevnog uzimanja D-manoze manje su popratne pojave u odnosu na dnevno uzimanje antibiotske profilakse upala mokraćnog mjehura.
- D-manoza se normalno nalazi u krvi i mokraći u niskim koncentracijama.
- Koncentracija manoze u serumu zdravih ženskih osoba iznosi 57 μmol/L (21-92 μmol/L), a u mokraći zdravih ženskih osoba 24 μmol/L (0-52 μmol/L).
- Nakon jednokratnog oralnog uzimanja D-manoze, koncentracija manoze se povisuje u serumu i mokraći s najvišim vrijednostima 3 sata nakon uzimanja i s vremenom poluživota u krvi od 2,5 sata.
- Doza D-manoze koja je uspješna u prevenciji akutne upale mokraćnog mjehura je 2 g D-manoze dnevno otopljene u 200 mL vode.
- D-manoza se dobro podnosi do doze od 0,15 g po kg tjelesne težine.
- D-manoza ne utječe na koncentraciju glukoze u serumu zdravih ispitanika.
- D-manoza ne utječe na promjenu biokemijskih parametara funkcije jetre i bubrega.
- Uzimanje D-manoze rijetko izaziva slabije probavne smetnje.
- Nema razlike u koncentraciji D-manoze u serumu i mokraći zdravih ispitanica i bolesnica koje uzimaju D-manozu.
- Uzimanje D-manoze utječe na promjenu biokemijskih parametara upale – broja leukocita u krvi i koncentraciju interleukina 6 u mokraći.

6. Literatura

1. V.Škerk, A.Tambić Andrašević, S.Andrašević, E.Sušić, A.Mlinarić Džepina, V.Mađarić i dr. ISKRA smjernice antimikrobnog liječenja i profilakse infekcija mokraćnog sustava- hrvatske nacionalne smjernice. Liječ Vjesn 2009; 131: 105-118
2. L.D.Brown, A.Cheung, J.E.Harwood, F.C.Battaglia. Inositol and mannose utilization rates in term and late-preterm infants exceed nutritional intakes. J Nutr 2009; 139(9): 1648-1652
3. J.M.Bower, D.S.Eto, M.A.Mulvey. Convert operations of uropathogenic *Escherichia coli* within the urinary tract. Traffic 2005; 6(1): 18-31
4. J.Song, S.N.Abraham. Innate and adaptive immune responses in the urinary tract. Eur J Clin Invest 2008; 38(S2): 21-28
5. C.S.Hung, K.W.Dodson, J.S.Hultgren. A murine model of urinary tract infection. Nature Protoc 2009; 4: 1230-1243
6. J.R.Johnson, W.E.Stamm. Urinary tract infections in women: diagnosis and treatment. Ann Intern Med 1989; 11: 906-917
7. S.E.Geerlings, R.Meiland, E.C.van Lith, E.C.Brouwer, W.Gaastra, A.I.Hoepelman. Adherence of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to uroepithelial cells: more in diabetic women than in control subjects. Diabetes Care 2002; 25: 1405-1409
8. K.N.Moore, R.A.Day, M.Albers. Pathogenesis of urinary tract infections: a review. J Clin Nurs 2002; 11: 568-574
9. M.Grabe, T.E.Bjerklund-Johansen, H.Botto, B.Wullt, M.Cek, K.G.Naber et al. Giudelines on urological infectious European Association of Urology. 2011; 1-112
10. R.H.Rubin, E.D.Shapiro, V.T.Andriok, R.J.Davis, V.T.Andriole, R.J.Davis, W.E.Stamm with modifications by a European Working Party (Norrby SR): General guodelines for the evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Taufkirchen, Germany. The European Society of Clinical Microbilogy and Infectious Diseases 1993; 294-310
11. B.Foxman. Epidemiology of urinary tract infections: incidance, morbidity and economic costs. Am J Med 2002; 113: 259-266
12. S.D.Fihn. Clinical practice. Acute uncomplicated urinary tract infections in women. N Engl J Med 2003; 349: 259-266
13. J.Campbell, M.Felver, S.Kamarei. „Telephone treatment“ of uncomplicated acute cystitis. Cleve Clin J Med 1999; 66: 495-501
14. A.S.Mehnert Kay. Diagnosis and Management of Uncomplicated Urinary Tract Infections. Am Fam Physician 2005; 72(3): 451-456

15. S.Hedges, K.Stenqvist, G.Lidin Janson, J.Martinell, T.Sandberg, C.Svanborg. Comparison of urine and serum concentrations of Interleukin-6 in women with acute pyelonephritis or asymtomatic bacteriuria. J Infect Dis 1992; 166: 653-656
16. C.Svanborg, G.Godaly. Bacterial virulence in urinary tract infection. Infec Dis Clin N Am 1997; 11(3): 513-529
17. I.U.Mysorekar, S.J.Hultgren. Mechanism of uropathogenic *E.coli* persistance and eradication from the urinary tract. PNAS 2006; 103(38): 14170-14175
18. M.L.Grover, J.D. Bracamonte, A.K.Kanadia, M.J.Bryan, S.P.Donahue, A-M.Warner et al. Assessing adherence to evidence-based guidelines for the diagnosis and menagement of uncomplicated urinary tract infection. Mayo Clin Proc 2007; 82(2): 181-185
19. T.Kouri, G.Fogazzi, V.Gant, H.Hallander, W.Hofmann, W.G.Suder. European urinalysis guidelines; ECLM-European Urinalysis Group. Scand J Clin Lab Invest 2000; 60, Supl 231: 1-96
20. C.A.Burits, E.R.Ashwood. Tietz Textbook of clinical Chemistry. Philadephia, W.B. Saunders CO 1994: 2176- 2210
21. A.S.Rukavina, D.Čvorišćec. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalizirane i visokodiferentne medicinske biokemije. HKMB Medicinska naklada, Zagreb, 2007: 28-29
22. D.H.Williams, A.J.Schaffer. Current concepts in urinary tract infections. Minerva Urol Nefrol 2004; 56(1): 15-31
23. L.M.Rodriguez, B.Robies, J.M.Marugan, A.Suarez, F.Santos. Urinary interleukin-6 is useful in disinguishing between upper and lower urinary tract infections. Pediatr Nephrol 2008; 23(3): 429-433
24. M.Sadeghi, V.Daniel, C.Naujokat, R.Weirner, G.Opelz. Strikingly higher interleukin (IL)-1α, IL-1β and soluble interleukin-1 receptor antagonist (SIL-1RA) but similar IL-2, sIL-2R, IL-3, IL-4, IL-6, sIL-6R, IL-10, tumor necrosis factor (TNF)-α, transforming growth factor (TGF)-beta$_2$ and interferon IFN-gama urine levels in healthy females compared to healthy males: protection against urinary tract injury? Clin Exp Immunol 2005; 142: 312-317
25. N.Nanda, M.Juthani-Mahta. Novel biomarkers for the diagnosis of urinary tract infection-a systematic review. Biomarker Insights 2009; 4: 111-121
26. K.Tullus, J.A.Wang, Y Lu, L.G.Burman, A.Brauner. Interleukin-1 alpha and interleukin-6 in the urine, kidney, and bladder of mice inoculated with Escherichia coli. Pediatr Nephrol 1996; 10(4): 453-457

27. P.R.Murray, E.J.Baron, M.A.Pfaller, F.C.Tenover and R.H.Yolken. Manual of Clinical Microbiology. ASM Press Washington 2003; ISBN 1-55581-086-1
28. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; 19th informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute 2009; M100-S19 29(3): 1-182
29. C.M.Gonzales, A.J.Schaeffer. Treatment of urinary tract infections: what's old, what's new and what works. World J Urol 1999; 17: 372-382
30. V.Šerek, A.T.Andrašević, S.Andrašević, A.Markotić, V.Šerek. Antimikrobno liječenje: profilaksa infekcije mokraćnog sustava odraslih osoba; Medicus 2006; 15(2): 251-256
31. D.J.Sobel, D.Kaye. Urinary tract infections. U: G.L.Mandell, J.E.Bennett, R.E.Dolin. Principles and practice of infectious diseases. Philadelphia Churchil Livingstone 2000; str. 773-805.
32. J.L.Arredondo-García, R.Figueroa-Damián, A.Rosas, A.Jáuregui, M.Corral, A.Costa et al. Comparison of short-term treatment regimen of ciprofloxacin versus long-term treatment regimens of trimethoprim/sulfamethoxazole or norfloxacin for uncomplicated lower urinary tract infections: a randomized, multicentre, open-label, prospective study. J Antimicrob Chemother. 2004; 54(4): 840-843
33. A.J.Schaefer. Infectious of the urinary tract U: P.C.Walsh, A.B.Retik, E.D.Vaugheim, A.J.Wein. Cambell;s Urology 9th ed. Philadelphia WBSaunders Company 2007; 254-265
34. J.S.Scheffield, F.G.Cunningham. Urinary tract infection in women. Obstet Gynecol 2005; 106: 1085-1092
35. S.C.Arya. Recurrent urinary tract infections: relapses or reinfections?. J Infect Dis 2002; 186(6): 876-895
36. M.A.Mulvey, J.D.Schilling, S.J.Hutgren. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. Infect Immun 2001; 69(7): 4572-4579
37. M.J.Duncan, G.Li, J.S.Shin, J.L.Carson, S.N.Abraham. Bacterial penetration of bladder epithelium through lipid rafts. J Biol Chem 2004; 279 (18): 18944-18951
38. M.Chromek, A.Brauner. Antimicrobial mechanisms of the urinary tract. J Mol Med 2008; 86(1): 37-47
39. T.M.Hooton. Recurrent urinary tract infections in women. Int J Antimicrob Agents 2001; 17: 259-268

40. E.J.Ernest, M.E.Ernest, J.D.Hoehns, G.R.Bergns. Women's quality of life is decresed by acute cystitis and antibiotic adverse effects associated with treatment. Health Qual Life Outcomes 2005; 3: 45-52
41. T.Tambić, A.Tambić-Androšević. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u Republici Hrvatskoj u 2005.godini. Zagreb; Akademija medicinskih znanosti Hrvatske; 2006.
42. K.A.Head. Natural approaches to prevention and treatment of infections of the lower urinary tract. Altern Med Rev 2008; 13(3): 227-244
43. L.A.Stotchers. A randomized trial to evaluate effectiveness and cost effectivenes of naturopathic cranberry products as prophylaxis against urinary tract infection in women. Can J Urol 2002; 9: 1558-1562
44. T.Kantiokari, K.Sundqvist, M.Nuutinen, T.Pokka, M.Koskela, M.Unari. Randomised trial of cranberry-lingonberry juice and *Lactobacillus* GG drink for the prevention of urinary tract infections in women. Brit Med J 2001; 322: 1571-1575
45. R.G.Jepson, J.C.Craig. A systematic review of the evidence for cranberries and blueberries in UTI prevention. Mol Nutr Food Res 2007; 51: 738-745
46. M.J.Mathers, F.von Rundstedt, A.S.Brandt, M.König, D.A.Lazica, S.Roth. Myth or truth. Cranberry juice for prophylaxis and treatment of recurrent urinary tract infections. Urologe A 2009; 48(10): 1203-1205
47. A.B.Howell. Bioactive compounds in cranberries and their role in prevention of urinary tract infections. Mol Nutr Food Res 2007; 51(6): 732-737
48. D.R.Guaz. Cranberry and urinary tract infectious. Drugs 2009; 69(7): 775-807
49. R.G.Jepson, J.C.Craig: Cranberries for preventing urinary tract infections. Cochrane Datatbase of Systematic Reviews 2008; Issue 1.Art: No: CD001321.DOI:10.1002/ 14651858.CD001321.pub4.
50. J.L.Miller, J.N.Krieger: Urinary tract infections cranberry juice, underwear, and probiotics in the 21st century. Urol Clin North Am 2002; 29(3): 695-699
51. U.S.Ha, Y.H.Cho. Immunostimulation with *Escherichia coli* extract prevention of recurrent urinary tract infectious. Int J Antimicrob Agents 2008; 31(1): 63-67
52. D.Borchert, L.Sheridan, A.Papatsoris, Z.Faruquz, J.M.Barua, I.Junaid et al. Prevention and treatment of urinary tract infection with probiotics: Review and research perspective. Indian Journal Urol 2008; 24(2): 139-144

53. G.J.Ochoa-Brust, A.R.Fernandez, G.J.Villankeva-Rulz, R.Velasco, B.Trujilo-Hernandez, C.Vasquez. Daily intake of 100 mg ascorbic acid as urinary tract infection prophylactic agent during pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 2007; 86(7): 783-787
54. R.Funfstuck, E.Straube, O.Schidlbach, U.Tietz. Prevention and reinfection by L-methionine in patients with recurrent urinary tract infection. Med Klin(Munich) 1997; 92(10): 574-581
55. T.Alraek, L.I.Fosil Soedal, S.U.Fagerheim, H.Digraes, A.Baerheim. Acupuncture treatment in the prevention of uncomplicated recurrent lower urinary tract infectious in adult women. Am J Public Health 2002; 92(10): 1609-1611
56. A.Yilmaz, E.Bahat, G.G.Yilmaz. Adjuvant effect of vitamin A on recurrent lower urinary tract infectious. Pediatr Int 2007; 49: 310-313
57. K.G.Naber, Y.H.Cho, T.Matsumoto, A.J.Schaeffer. Immunoactive prophylaxis of recurrent urinary tract infectious: a meta-analysis. J Antimicrob Agents 2009; 33(2): 111-119
58. I.Ofek, D.L.Hasty, N.Sharon. Anti-adhesion therapy of bacterial diseases: prospects and problems. FEMS Immunol Medical Microbiol 2003; 38: 181-191
59. B.L.Bishop, M.J.Duncan, J.Song, G.Li, D.Zaas, S.N.Abraham. Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. Nat Med 2007; 13: 625-630
60. T.Oelschlager, R.Funfstuck. Reccurrent urinary infections in women. Virulence of pathogens and host reaction. Urologe A 2006; 45(4): 412-420
61. R.Kucheria, P.Dasgupta, S.H.Sacks, M.S.Khan, N.S.Sheerin. Urinary tract infections: new insights into a common problem. Postgrad Med J 2005; 81(952): 83-86
62. S.Andrašević, A.T.Andrašević. Rezistencija uzročnika urogenitalnih infekcija na antibiotike. Medicus 2006; 15(2): 245-250
63. S.Fuchs, Z.Simon, M.Brezis. Fatal hepatic failure associated with ciprofloxsacin. Lancet 1994; 242: 738-739
64. J.A.Karlowsky, L.J.Kelly, C.Thornsberry, M.E.Jones, D.F.Sahn: Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. Antimicrob Agents Ch 2002; 46(8): 2540-2545
65. Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u RH u 2009.god Akademija medicinskih znanosti Hrvatske, Zagreb, 2009: 1-88
66. G.Reid. Potential preventive strategies and therapies in urinary tract infection. World J Urol 1993; 17: 359–363

67. S.H.Pine. Organska kemija. 3. izd., Školska knjiga, Zagreb 1994: 758-781
68. Biblija, Stari zavjet, Knjiga izlaska, Putovanje pustinjom. Kršćanska sadašnjost, Zagreb 2001: 16,13-17,10
69. M.Jones. Organic Chemistry. WW Norton Company, New York-London 1997: 1233-1277
70. R.A.Stevart. Physicochemical stereospecificity in taste perception od α-D-mannose and β-D-mannose. Nature 1971; 234(5326): 220-223
71. A.Herold, D.H.Lewis. Mannose and green plants: occurence, physiology and metabolism, and use as a tool to study the role of orthophosphate. New Physol 1977; 79: 1-40
72. S.J.Angyal. The Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein: transformation and related reactions. Top Curr Chem, Springer Berlin 2001; 215: 1-14
73. A.Köckritz, M.Kant, M.Walter, A.Martin. Rearrangement of glucose to mannose catalysed by polymer-supported MO catalyst in the liquid phase. Appl Catala Gen 2008; 224: 112-118
74. J.Hirose, Y.Kinoshita, S.Fukuyama, S.Hayashi, H.Yokoi, Y.Takasaki. Continuous isomerization of D-fructose to D-mannose by immobilized *Agrobacterium radiobacter* cells. Biotechnol Lett 2003; 25(4): 349-352
75. C.S.Park, H.J.Kwon, S.J.Yeom, D.K.Oh. Mannose production from fructose by free and immobilized D:-lyxose isomerases from *Providencia stuartii*. Biotechnol Lett 2010; 32(9): 1305-1309
76. J.M.Stoop, D.M.Pharr. Partial purification and characterization of mannitol: mannose 1 oxidoreductase from celery (*Apium graveolens* var. *rapaceum*) roots. Arch Biochem Biophys 1992; 298(2): 612-619
77. G.Zong, N.Yu, Y.Xu, J.Zhang, D.Wang, X.Liang**.** Synthesis of a mannose hexasaccharide related to the cell wall mannan of *Candida dubliniensis* and *Trychophyton mentagrophytes*. Stem Cell Therapy 2010; 10: 1666-1673
78. T.Fujita, T.Sato. A simple method for the preparation of chrystalline D-mannose. B Chem Soc Jpn 1960; 33(3): 353-335
79. K.Balasubramaniam. Polysaccarides of the kernel of maturing and matured coconuts. J Food Sci 1976; 41: 1370-1373
80. H.Kanatani, F.Yokomizo. Mannooligosaccharide-containing food compositions. Patent number 20090311411, Washington DC, US
81. T.Zhang, Z.Pan, Ch.Qian, X.Chen. Isolation and purification of D-mannose from palm kernel. Carbohydr Res 2009; 344: 1687-1689

82. S.Vlahopoulos, A.D.Gritzapis, S.A.Perez, N.Cocoullos, M.Papamichail, C.N.Baxevanis: Mannose addition by yeast *Pichia Pastoris* on recombinant HER-2 protein inhibits recognation by the monoclonal antibody herceptin. Vaccine 2009; 27: 4704-4708
83. S.S.King, D.A.Young, L.G.Nequin, E.M.Carnevale. Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro. Am J Vet Res 2000; 61: 446-449
84. B.L.Dale. D-mannose contraceptives. USA Patent Application 20050020510
85. A.Y.Chan, C.S.Ho, T.Y.Chan, R.Swaminathan. D-mannose as a preservative of glucose in blood samples. Clin Chem 1992; 38(3): 411-413
86. G.Alton, S.Kjaergaard, J.R.Etchinson. Oral ingestion of mannose elevates blood mannose levels. A first step toward a potential therapy for carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. Biochem Mol Med 1997; 60: 127-133
87. A.Kobata. A retrospective and prospective view of glycopathology. Glycoconj J 1996; 15: 323-331
88. H.M.I.Osborn, P.G.Avans, K.Bezonska. Biomedicine of monosacchariedes. Glycoscience 2008; 12: 2399-2444
89. D.Čvorišćec, I.Čepelak. Štrausova medicinska biokemija. Medicinska naklada, Zagreb 2009: 99-123
90. J.M.Berg. Biochemistry. 5th ed. W.H.Free mandand Co 2002: 295-318
91. R.H.Herman. Mannose metabolism I. Am J Clin Nutr 1971; 24 : 488-498
92. R.H.Herman. Mannose metabolism II. Am J Clin Nutr 1971; 24: 556-561
93. H.H.Freeze. Disorders in protein glycosylation and potential therapy: Tip of an iceberg? J Pediatr 1998; 133(5): 593-600
94. T.Tagauchi, E.Yamashita, T.Mizutani, H.Nakafima, M.Yabuuchi, N.Asano et al. Hepatic glycogen breakdown is implicated in the maintenance of plasma mannose concentration. Am J Physiol Endocrinol Metab 2005; 288: E534-E540
95. G.Alton, M.Hasilik, R.Niehues, K.Panneerselvam, J.R.Etchison, F.Fana et al. Direct utilization of mannose for mammalian glycoprotein biosynthesis. Glycobiology 1998; 8(3): 285-295
96. J.A.Davis, H.H.Freeze. Studies of mannose metabolism and effects of long-term mannose ingestion in the mouse. Biochim Biophys Acta 2001; 1528(2-3): 116-126
97. A.Kleinzeller, I.Tam., R.K.Kanter, E.M.McAvoy. The structural requirement for C_1-OH for the active transport of D-mannose and 2-deoxy-D-hexoses by renal tubular cells. Biochim Biophys Acta 1974; 373(3): 397-403
98. J.E.G.Barnett, A.Ralph, K.A.Munday. The mechanism of active intestinal transport of

sugars. Biochem J 1970; 116: 537-538

99. H.Saito, T.Ohtomo, K.Inui. Na(+)-dependent uptake of 1,5-anhydro-D-glucitol via the transport system for D-glucose and D-mannose in the kidney epithelial cell line, LLC-PK1.Nippon Jinzo Gakkai Shi 1996; 38(10): 435-440

100.D.C.Mendelssohn, M.Silverman. A D-mannose transport system in renal brush-border membranes. Am J Physiol 1989; 257(6 Pt 2): F 1100-1107

101.M.Cano, M.L.Calonge, M.J.Peral, A.A.Ilundáin. A Na^+-dependent D-mannose transporter in the apical membrane of chicken small intestine epithelial cells. Pfhegers Arch 2001; 441(5): 686-691

102.S.Tazawa, T.Yamato, H.Fujikura, M.Hiratochi, F.Itoh, M.Tomae et al. SLC5A9/SGLT4, a new Na^+-dependent glucose transporter, is an essential transporter for mannose, 1,5-anhydro-D-glucitol, and fructose. Life Sci 2005; 76(9): 1039-1050

103.F.C.Wood, G.F.Cahill. Mannose utilization in man. J Clin Invest 1963; 42(8): 1300-1312

104.T. Blasco, J.J.Aramayona, A.I.Alcalde, N.Halaihel, M.Sarasa, V.Sorribas. Expression and molecular characterization of rat renal D-mannose transport in *Xenopus oocytes*. J Membr Biol 2000; 178(2): 127-135

105.T.Yamanouchi, T.Shinohara, N.Ogata, Y.Tachibana, I.Akaoka, H.Miyashita. Common reabsorption system of 1,5-anhydro-D-glucitol, fructose, and mannose in rat renal tubul. Biochim Biophys Acta 1996; 1291(1): 89-95

106.E.Pitkänen, O.M.Pitkänen. Renal tubular reabsorption of 1,5-anhydro-D-glucitol and D-mannose in vivo in the rat. Pflugers Arch 1992; 420(3-4): 367-375

107.J.B.Pritchard, G.W.Booz, A.Kleinzeller. Renal sugar transport in the winter flounder. VI . Reabsorption of D-mannose. Am J Physiol 1982; 242(4): F 415-422

108.H.Arnold, V.Seitz, G.W.Lohr. Die hexokinase und die mannose-toxicität der bienne. Hoppe-Seyler's Z.Physiol Chem 1974; 355: 266-277

109.T.Buchanan, N.Freinkel, N.J.Lewis, B.E:Metzger, S.Akazava. Fuelmediated teratogenesis. Use of D-mannose to modify organogenesis in the rat embryo in vivo. Clin Invest 1985; 75(6): 1927-1934

110.J.F.Morgan, C.P.Engl. Nutrition os mouse ascites tumor cells in primary culture II. Specific requirement for glucose. J Wate Cancer Inst 1970; 45: 869-875

111.M.de la Fuente, A.Hernanz: Enzymes of mannose metabolism in murine and human lymphocytic leukaemia. Br J Cancer 1988; 58: 567-569

112.M.de la Fuente, P.F.Penas, A.Sols. Mechanism of mannose toxicity. Biochim Biophis Res Commun 1986; 140(1): 51-55

113.B.A.Parkar, P.J.W.Midgley, G.D.Holman Interaction of hydrophobic bis (D-mannose) derivatives with adipocyte and erythrocyte sugar transport systems Biochem Biophis Acta 1985; 814(1): 103-110

114.F.C.Battaglia. Placental transport: a function of permeability and perfusion. Am J Clin Nutr 2007; 85(2): 591S-597S

115.F.C.Wood, G.F.Cahill. Mannose utilization in man. J Clin Invest 1963; 42(8): 1300-1312

116.K.Panneerselvam, H.H.Freeze. Mannose enters mammalian cells using a specific transporter that is insensitive to glucose. J Biol Chem 1996; 271(16): 9417-9421

117.K.Panneerselvam, J.R.Etchinson, H.H.Freeze. Human fibroblast prefer mannose over glucose as a source of mannose for N-glycosylation. J Biol Chem 1997; 272(37): 23123 - 23129

118.M.Duran, M.Cano, M.J.Peral, A.A.Ilundáin: D-mannose transport and metabolism in isolated enterocytes. Glycobiology 2004; 14(6): 495-500

119.V.Brusati, M.Jozwik, C.Teng, C.Paolini, A.M.Marconi, F.C.Battaglia. Fetal and maternal non-glucose carbohydrates and polyols concentrations in normal human pregnancies at term. Pediatr Res 2005; 58: 700-704

120.G.V.Coppa, P.Pierani, L.Zampini, S.Bruni, I.Carloni, O.Gabrielli. Characterization of oligosaccharides in milk and feces of breast-fed infants by high-performance anion-exchange chromatography. Adv Exp Med Biol 2001; 501: 307-314

121.K.Soyama. Enzymatic determination of D-mannose in serum. Clin Chem 1984; 30: 293-294

122.S.Akazawa, B.E.Metzger, N.Freinkel. Relationships between glucose and mannose during late gestation in normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus: concurrent concentrations in maternal plasma and amniotic fluid. J Clin Endocrinal Metab 1986; 62: 984-989

123.E.Pitkänen, O.Pitkänen, L.Ootila. Enzymatic determination of unbound D-mannose in serum. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35: 761-776

124.J.R.Etchison, H.H.Freeze. Enzymatic assay od D-mannose in serum. Clin Chem 1997; 43: 533-538

125.E.Pitkänen. Mannose, mannitol, fructose and 1,5-anhydroglucitol concentrations measured by gas chromatography/mass spectrometry in blood plasma of diabetic patients. Clin Chem Acta 1996; 251: 91-103

126.H.A.Carchon, J.Jaeken. Determination of D-mannose in serum by capillary electrophoresis. Clin Chem 2001; 47: 1319-1321

127.T.Tagnchi, I.Miwa, T.Mizutani, H.Nakajima, Y.Fukumura, I. Kobayashi et al. Determination of D-mannose in plasma by HPLC. Clin Chem 2003;49(1): 181-183

128.S.Toyota, Y.Fukushi, S. Katoh, S.Orikasa, Y.Suzuki. Anti-bacterial defense mechanism of the urinary bladder. Role of mannose in urine. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi 1989; 80 (12) : 1816-1823

129.O.M.Pitkänen, H.Vanhanen, E.Pitkänen. Metabolic syndrome is associated with changes in D-mannose metabolism. Scand J Clin Lab Invest 1988; 59: 607-612

130.E.Pitkänen. Proteinuria and plasma hexosugars in early-stage glomerulonephritis. Clin Nephrol 1996; 45: 226-229

131.J.F.Aloia. Monosaccharides and polyols in diabetes mellitus and uremia. J Lab Clin Med 1973; 82, 809-817

132.T.P.Monson, K.P.Wilkinson. Mannose in body fluids as an indicator of invasive candidiasis. J Clin Microbio 1981; 14(5): 557-562

133.E.Mayatepek, D.Kohlmüller. Mannose supplementation in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I and phosphomannosmutase deficiency. Eur J Pediatr 1998; 157: 605-612

134.R.Niehues, M.Hailik, G.Alton, Ch.Körner, M.Schiebe-Sukumar, H.G.Koch et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib. Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. J Clin Invest 1998; 101(7): 1414-1420

135.K.Panneerselvam, J.R.Etchinson, F.Skovby, H.H.Freeze: Abnormal metabolism of mannose in families with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. Biochem Mol Med 1997; 61: 161-167

136.E.V.Schaftingen, J.Jaeken. Phosphomannosemutase deficiency is a couse of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. FEBS Lett 1995; 377: 318-320

137.I.Miwa. Low level of fasting plasma mannose in a child with glycogen storage disease type 0 (liver glycogen synthase deficiency). Clin Chim Acta 2010; 411(13): 998-1000

138.L.Repentigny, R.J.Kuykendall, E.Reiss: Simultaneous determination of arabitol and mannose by gas-liquid chromatography in experimental candidiasis. J Clin Microbiol 1983; 17: 116-119

139.T.P.Monson, K.P.Wilkinson. Measurment of D-mannose in human serum as the aldonitrile acetate derivate. Clin Chem 1979; 255: 1384-1387

140.R.L.Jolley, K.S.Warren, C.D.Scott, J.L.Jainchill, M.L.Freeman. Carbohydrates in normal urine and blood serum as determines by high-resolution column chromatography. Am J Clin Path 1970; 53: 793-802

141.J.Bošković, J.N.Arnold, R.Stilion, S.Gordon, R.B.Sim, A.Rivera-Calzada. Structural model for the mannose receptor family uncovered by electron microscopy of Endo 180 and the mannose receptor. J Biol Chem 2006; 281(13): 8780-8787

142.K.M.Chavele, L.Martinez-Pomares, J.Domin, S.Pemberton, S.M.Haslam, A.Dell et al. Mannose receptor interacts with Fc receptors and its critical for the development of crescentic glomerulonephritis in mice. J Clin Invest 2010; 120(5): 1469-1478

143.L.Eeast, C.M.Isacke. The mannose receptor family. Biochim Biophysci Acta 2002; 1572: 364 -386

144.M.E.Taylor, J.T.Conary, M.R.Lennartz, P.D.Stahl, K.Drickamer. Primary structure of the mannose receptor contains multiple motifs resembling carbohydrate-recognation domains. J Biol Chem 1990; 265(21): 12156-12162

145.P.R.Taylor, S.Gordon, L.Martinez-Pomares. The mannose receptor: linking homeostasis and immunity through sugar recognation. Trends Immunol 2005; 26(2): 104-110

146.E.J.McKenzie, P.R.Taylor, R.J.Stillion, A.D.Lucas, J.Harris, S.Gordon et al. Mannose receptor expression and function define a new population of murine dendritic cells. J Immunol 2007; 178: 4975-4983

147.I.Ofek, D.Mirelman, N.Sharon. Adherence of *Escherichia coli* to human mucosal cells mediated by mannose receptors. Nature 1977; 265: 623-625

148.S.G.Turville, K.Vermeire, J.Balzarini, D.Schols. Sugar-binding proteins potently inhibit dendritic cell human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection and dendritic-cell-directed HIV-1 transfer. J Virol 2005; 79(21): 13519-13527

149.J.Balzarini, D.Schols, J.Neyts, E.van Damme, W.Peumans, E.DeClercq. Alpha-(1,3)- and alpha-(1,6)-D-mannose specific plant lectins are markedly inhibitory to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus infections in vitro. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35(3): 410-416

150.A.V.Muchmore, J.M.Decker, R.M.Blaese, B.Nilsson. Purification and characterization of a mannose-containig disacharide obtained from human pregnancy urine. J Exp Med 1984; 160: 1672 1685

151.D.Hernandez, M.de la Fuente. Mannose toxicity in Erldich ascites tumor cells. Biochem Cell Biol 1989; 67(6): 311-314

152.L.D.Brown, A.Cheung, J.E.Harwood, F.C.Battaglia. Inositol and mannose utilization rates in term and late-preterm infants exceed nutritional intakes. J Nutr 2009; 139(9): 1648-1652

153.J.Kössi, J.Peltonen, T.Ekfors, J.Niinikoski, M.Laato. Effects of hexose sugars: glucose, fructose, galactose and mannose on wound healing in the rat. Eur Surg Res 1999; 31: 74-82

154.H.H.Freeze, V.Sharma. Metabolic manipulation of glycosylation disorders in human and animal models Semin. Cell Dev Biol 2010; 2(6): 655-662

155.H.H.Freeze. Genetic defects in the human glycome. Nat Rev Genet 2006; 7: 537–551

156.J.B.Lowe, J.D.Marth. A genetic approach to mammalian glycan function. Annu Rev Biochem 2003; 72: 643–691

157.S.Wopereis, D.Lefeber, E.Morava, R.Wevers. Mechanisms in protein O-glycan biosynthesis and clinical and molecular aspects of protein O-glycan biosynthesis defects: a review. Clin Chem 2006; 52: 574–600

158.T.Marquardt, J.Denecke. Congenital disorders of glycosylation: review of their molecular bases, clinical presentations and specific therapy. Eur J Pediatr 2003; 162: 359–379

159.J.Jaeken. Congenital disorders of glycosylation (CDG): It's all in it. J Inherit Metab Dis 2003; 26: 99–118

160.H.H.Freeze, M.Aebi. Altered glycan structures: the molecular basis of congenital disorders of glycosylation. Curr Opin Struct Biol 2005; 15: 490–498

161.J.Jaeken, H.Carchon. The carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes: an overview. J Inher Metab Dis 1993; 16: 813–820

162.S.Kjaergaard. Congenital disorders of glycosylation type Ia and Ib. Dan Med Bull 2004; 51: 350–363

163.E.Mayatepek, D.Kohlmüller. Mannose suplementation in carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type I and phosphomannomutase deficiency. Eur J Pediatr 1998; 157: 605–606

164.S.Kjaergaard, B.Kristiansson, H.Stibler et al. Failure of short-term mannose therapy of patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1A. Acta Pediatr 1998; 87: 884–888

165.K.Panneerselvam, H.H.Freeze. Mannose corrects altered N-glycosylation in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome fibroblasts. J Clin Invest 1996; 7: 1478-1487

166.E.Mayatepek, M.Schröder, D.Kohlmüller, W.P.Bieger, W.Nützenadel. Continuous mannose infusion in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. Acta Paediatr 1997; 86: 1138-1140

167.S.Grünewald, G.Matthijs, J.Jaeken. Congenital disorders of glycosylation: a review. Pediatr Research 2002; 52(5): 618-624

168.I.Ofek, N.Sharon. Lectinophagocytosis: a molecular mechanism of reconition between cell surface sugars and lectins in the phagocytosis of bacteria. Infect Immun 1988; 56(3): 539-547

169.B.K.Dhakal, R.D.Kulesus, M.A.Mulvey. Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli.* Eur J Clin Invest 2008; 38(52): 2-11

170.I.J.Goldstain, C.E.Hayes. The lectins: carbohydrate-binding proteins of plants and animals. Adv Carbohydr Biochem 1978; 35: 127-140

171.G.Reid, J.D.Sobel. Bacterial adherence in the pathogenesis of urinary tract infection: a review. Rev Infect Dis 1987; 9(3): 470-487

172.A.E.Wold, J.Mestecky, M.Tomana, A.Kobata, H.Ohbayashi, T.Endo, C.S.Eden. Secretory immunoglobulin A carries oligosaccharide receptors for *Escherichia coli* type 1 fimbrial lectin. Infect Immun 1990; 58(9): 3073-3077

173.M.A.Mulvey, J.D.Achilling, J.J.Martinez, S.J.Hultgren. Bad bugs and beleaguared bladders: interplay between uropathogenic *Escherichia coli* and innate host defenses. PNAS 2000; 97(16): 8829-8835

174.F.Baeckhed, M.Soederhat, P.Ekman, S.Normark, A.Richter-Dahlfors. Induction of innate immune response by CC and purifies lipopolysaccharide correlate with organ- and cell-specific expression of Toll-like receptors within human urinary tract. Cell Microbiol 2001; 3(3): 153-158

175.F.Serafini-Cessi, A.Monti, D.Cavallone. N-glycans carried by Tamm-Horsfall glycoprotein have a crucial role in the defense against urinary tract diseases. Glycoconj J 2005; 22(7-9): 383-394

176.D.Cavellone, N.Malagolini, A.Monti, X.-R.Wu, F.Serafini-Cessi. Variation of high mannose chains of Tamm-Harfall glycoprotein confers differential binding to type 1-fimbriates *Escherichia coli.* J Biol Chem 2004; 279(1): 216-232

177.W.J..Hopkins, A.Gendron-Fitzpatrick, E.Balish, D.Tehling, Time course and host responses to *Escherichia coli* urinary tract infection in genetically distinct mouse strains Infect Immun 1998 66(6): 2798-2802

178.G.Apodaca: The uroepithelium. Not just a passive barrier. Traffic 2004; 5: 117-125

179.S.A.Lewis. Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. Am J Physiol Renal Physiol 2000; 278: E867-E876

180.P.Khandelwal, S.N.Abraham, G.Apodaca. Cell biology and physiology of the uroepithelium. Am J Physiol Renal Physiol 2009; 297: F1477-F1501

181.P.Hu, S.Meyers, F.-X.Liang, F.-M-Deng, B.Kachar, M.L.Zeidel. Role of membrane proteins in permeability barrier function: Uroplakin ablation elevats urothelial permeability. Am J Physiol Renal Physiol 2002; 283: F1200-F1207

182.B.Xie, G.Zhon, S.-Y.Chan, E.Shapiro, X.-P.Kong, X.-R.Win et al. Distinct glycan structures of Uroplakin Ia and Ib. J Biol Chem 2006; 281(21): 14644-14653

183.X.-R.Wu, X.-P.Kong, A.Pellicer, G.Kreibich, T.-T.Sun. Uroplakins in urothelial biology, function and disease. Kidney Int 2009; 75: 1153-1165

184.G.Bergsten, B.Wullt, C.Svanborg. *Escherichia coli*, fimbriae, bacterial persistence and host response induction in the human urinary tract. Int J Med Microbiol 2005; 295(6-7): 487-502

185.C.Svanborg Eden, R.Freter, L.Hagberg, R.Hull, S.Hull, H.Leffler, G.Schoolnik: Inhibition of experimental ascending urinary tract infection by an epithelial cell-surface receptor analouge. Nature 1982; 298: 560-562

186.S.Kalinić, E.Mlinarić-Missoni i sur.: Medicinska bakteriologija i mikologija, Merkur A.B.D. Zagreb, 2005; 255-275

187.M.Mercon, A.H.Regua-Mangia, L.M.Teixeira, K.Irino, S.H.Tuboi, R.T.Goncalves et al. Urinary tract infections in renal transplant recipients: virulence traits of uropathogenic *Escherichia coli*. Transplant Proc 2010; 42(2): 483-485

188.G.Min, M.Stolz, G.Zhon, F.Liang, P. Sebbel, D.Stoffler et al. Localization of uroplakin Ia, the urothelial receptor for bacterial adhesin FimH, on the six inner domains of the 16 nm urothelial plaque particle. J Mol Biol 2002; 317(5): 697-706

189.H.Connel, M.Hedlund, W.Agace, C.Avanborg: Bacterial attachment to uro-epithelial cells: mechanisms and consequences. Adv Dent Res 1997; 11(1): 50-58

190.C.S.Giampapa, S.N.Abraham, T.M.Chiang, E.H.Beachey. Isolation and characteriaztion of a receptor for type 1 fimbriae of *Escherichia coli* from guinea pig erythrocytes. J Biol Chem 1988; 263(11): 5362-5367

191.J.Bouckaert, J.Berglund, M.Schembri, E.DeGenst, L.Cools, M.Wuhrer et al. Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the *Escherichia coli* FimH adhesin. Mol Microbiol 2005; 55(2): 441-455

192.A.Wellens, C.Garofalo, H.Niguyen, N.wom Gerven, R.Seättegard, J.P.Hernalsteens et al. Intervenning with urinary tract infection using antiadhesives based on the crystal structure of the FimH-Oligomannose-3 complex. PLOSONE 2008; 3(4): 2040-2053

193.E.C.Hagan, H.C.T.Mobley. Uropthogenic *Escherichia coli* membrane antigens expressed durig urinary tract infectious. Infect Immun 2007; 75(8): 3941-3949

194.J.Bouckaert, J.Mackenzie, J.L.de Paz, B.Chipwaza, D.Choudhury, A.Zavialov, K.Mannerstedt et al. The affinity of the FimH fimbrial adhezin is receptor-driven and quasi-independent of *Escherichia coli* pathotypes. Mol Microbiol 2006; 61(6): 1556-1568

195.N.Sharon. Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. FEBS Letters 1987; 217(2): 145-157

196.S.L.Chen, C.S.Hung, J.S.Pinkner, J.N.Walker, C.K.Cudumano, Z.Li et al. Positive selection indentifies as in vivo role for FimH chering urinary tract reinfection in addition to mannose binding. Proc Watl Acad Sci USA 2009; 106(52): 22439-22444

197.C.S.Hung, J.Bouckaert, D.Hung, J.Pinkner, Ch.Widberg, A.DeFusco et al. Structural basis of topism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection. Mol Microbiol 2002; 44(4): 903-915

198.P.Aprikian, V.Tchesnokova, B.Kiss, O.Yakovenko, V.Yarov-Yarova, E.Trinchina et al: Interdomian interaction int he FimH adhesion of *Escherichia coli* regulates the affinity to mannose. J Biol Chem 2007; 282(32): 23437-23446

199.I.Ofek, N.Sharon. A bright future for anti-adhesion therapy of infectious diseases. Cell Mol L Sc 2002; 59(10): 1666-1667

200.D.S.Eto, M.A.Malvey. Flushing bacteria out of the bladder. Nat Med 2007; 13(5): 531-532

201.E.V.Sokurenko, V.Chesnokova, D.E.Dykhnizen, I.Ofek, X.R.Wu, K.A.Krogfelt et al. Pathogenic adaptation of *Escherichia coli* by natural variation of the FimH adhesin. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95: 8922-8926

202.N.Sharon. Carbohydrates as future anti-adhesion drugs for infectious diseases. Biochim Biophys Acta 2006; 1760 (4): 527-537

203.Z.Han, J. S. Pinkner, B. Ford, R. Obermann, W. Nolan, S.A.Wildman et al. Structure-based drug design and optimization of mannoside bacterial FimH antagonists. J Med Chem 2010; 53(12): 4779-4792

204.J.V.Mysore, T.Wigginton, P.M.Simon, D.Zopf, L.M.Herman-Ackah, A.Dubois. Treatment of *Helicobacter pylori* infection in rhesusu monkeys using a novel antiadhesion compound. Gastroenterology 1999; 117(6): 1316-1325

205.R.Thomas, T.Brooks. Common oligosaccharide moieties inhibit the adherence of typical and atypical respiratory pathogens. J Med Microbiol 2004; 53(9): 833-840

206.D.Zopf, S.Roth. Oligosaccharide anti-infective agents. The Lancet 1996; 347(9.007): 1017- 1021

207.B.Ernest, J.L.Magnani. From carbohydrate leads to glycomimetric drugs Nature rewiews Drug Discovery 2009; 8: 661-677

208.C.G.Kelly, J.S.Younson. Anti-adhesive strategies in the prevention of infectious disease at mucosal surfaces. Expert Opin Investig Drugs 2000; 9(8): 1711-1721

209.I.Ofek, E.H.Beachey. Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherichia coli*. Infect Immun. 1978; 22(1): 247-254

210.N.Sharon, Y.Eshdat, F.J.Silverblatt, I.Ofek. Bacterial adherence to cell surface sugars. Ciba Found Symp. 1981; 80: 119-141

211.I.Ofek, N.Sharon. A bright future for anti-adhesion therapy of infectious diseases. Cell Mol Life Sci 2002; 59: 1666-1667

212.A.J.Schaeffer, S.K.Amundsen, J.M.Jones. Effect of carbohydrates on adherence of *Escherichia coli* to human urinary tract epithelial cells. Infect Immun 1980; 30(2), 531-537

213.M.Aronson, O.Medalia, L.Schori, D.Mirelman, N.Sharon, I.Ofek. Prevention of colonization of the urinary tract of mice with *Escherichia coli* by blocking of bacteria adherence with methly alpha-D-mannopyranoside. J Infect Dis 1979; 139(3): 329-332

214.A.J.Schaeffer, J.S.Chmiel, J.L.Duncan, W.S.Falkowski. Mannose-sensitive adherence of *Escherichia coli* to epithelial cells from women with recurrent urinary tract infections J Urol 1984; 131(5): 906-910

215.M.R.Ruggieri, P.M.Hanno, R.M.Levin. Mannose inhibition of *Escherichia coli* adherence to urinary bladder epithelium: comparasion with yeast agglutination. Urol Res 1985; 13(2): 79-84.

216.E.K.Michaels, J.S.Chmiel, B.J.Plotkin, A.J.Schaeffer. Effect of D-mannose and D-glucose on *Escherichia col*i bacteriuria in rats Urol Res 1983; 11(2): 97-102

217.N.Sharon: Bacterial lectins, cell-cell recognitiom and infectious disease. FEBS Letters 1987; 217(2): 145-157

218.N.Firon, I.Ofek, N.Sharon. Carbohydrate specificity of the surface lectins of *Escherichie coli, Klebsiella pneumoniae* and *Salmonelle typhimurium.* Carbohydr Res 1983; 120: 235-249

219.J.Pak, Y.Pu, Z-T.Zhang, D.L.Hasty, X-R.Wu. Tamm-Horsfall protein binds to type 1 fimbriae *Escherichia coli* and prevents *E. coli* from binding to Uroplakin Ia and Ib receptors. J Biol Chem 2001; 276(13): 9924-9930

220.D.Abgottspon, G.Rölli, L.Hosch, A.Steinhuber, X.Jiang, O.Schwardt et al. Development of an aggregation assay to screen FinH antagonists. J Microbiol Methods 2010; 82(3): 249-255

221.S.G.Gouin, A.Wellens, J.Bouckaert, J.Kovensky: Synthetic multimeric heptyl mannosides as potent antiadhesives of uropathogenic *Escherichia coli*. Chem Med Chem 2009; 4 (5): 749-755

222.A.B.Howell. D-mannose consumption and bacterial anti-adhesion activity in human urine The FASEB Journal 2008; 22: 702.32

223.C.K.Cusumano, J.S.Pinkner, Z.Han, S.E.Greene, B.A.Ford, J.R.Crowley, J.P.Henderson, J.W.Janetka, S.J.Hultgren. Treatment and Prevention of Urinary Tract Infection with Orally Active FimH Inhibitors. Sci Transl Med 2011; 3(109): 109-115

224.K.Gawehr. D-mannose and D-mannose-6-phosphate. In: Methods of Enzymatic Analysis HUBergmeyer 3rd ed. VCH Publishers UKLtd Cambridgeu UK. 1988; 6: 262-267

225.M.Marušić. Uvod u znanstveni rad u medicini., Medicinska naklada, 4.izd., Zagreb, 2008, 27-135

226.J.C.Nickel. Practical management of recurrent urinary tract infections in premenopausal women. Rev Urology 2005; 7(1): 11-17

227.Osjetljivost i rezistencija bakterija na antibiotike u RH u 2010.god. Akademija medicinskih znanosti Republike Hrvatske, Zagreb, 2010: 1-105

228.R.J.Thomas. Receptor mimicry as novel therapeutic treatment for biothreat agents Bioeng Bugs 2010; 1(1):17-30

229.D.S.Newburg, G.M.Ruiz-Palacios, A.L.Morrow. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens Annu Rev Nutr 2005; 25: 37-58

230.M. S. Klempner, R. Noring, M. P. Epstein,B. McCloud, R A.Rogers. Binding of human urokinase type plasminogen activator and plasminogen to *Borrelia* species. J Infect Dis 1997; 176: 104-12

231.J.V.Mysore, T.Wigginton, P.M.Simon, D.Zopf, L.M.Heman-Ackah, A.Dubois Treatment of Helicobacter pylori infection in rhesus monkeys using a novel antiadhesion compound. Gastroenterology 1999; 117(6): 1316-1325

232.P.Ukkonen, K.Varis, M.Jernfors, E.Herva, J.Jokinen, E.Ruokokoski, D.Zopf, T.Kilpi. Treatment of acute otitis media with an antiadhesive oligosaccharide: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2000; 356: 1398-1402

233.J.Guibert, D.Destrée, C.Konopka, J.Acar. Ciprofloxacin in the treatment of urinary tract infection due to enterobacteria Eur J Clin Microbiol, 1986; 5(2): 247-248

234.H.M.Siefert, A.Domdey-Bette, K.Henninger, F.Hucke, C.Kohlsdorfer. Pharmacokinetics of the 8-methoxyquinolone, moxifloxacin: a comparison in humans and other mammalian species. J Antimicrob Chemother 1999; 43(S 2): 69-76

235.K.G.Naber. Treatment options for acute uncomplicated cystitis in adults. J Antimicrob Chemother 2000; 46(S 1): 23-27

236.T.Vogel, R.Verreault, M.Gourdeau, M.Morin, L.Grenier-Gosselin L.Rochette. Optimal duration of antibiotic therapy for uncomplicated urinary tract infection in older women: a double-blind randomized controlled trial. CMAJ 2004; 170(4): 469-473

237.A.Sen. Recurrent cystitis in non-pregnant women. BMJ Clinical evidence 2008; 1-10

238.R.Bailey. Prevention of urinary tract infection with low-dose nitrofurantoin The Lancet, 1971; 298 (7734): 1112-1114

239.W.Brumfitt, J.M.Hamilton-Miller. A comparative trial of low dose cefaclor and macrocrystalline nitrofurantoin in the prevention of recurrent urinary tract infection. Infection 1995; 23(2): 98-102.

240.H.P.Pang, M.M.Dale, J.M.Ritter, P.K.Moore. Farmakologija. Golden marketing-Tehnička knjiga, Zagreb 2006, 620-652

241.W.Brumfitt, J M Hamilton-Miller. Efficacy and safety profile of long-term nitrofurantoin in urinary infections: 18 years' experience. J Antimicrob Chemoth 1998; 42(3): 363-371

242.R.Raz, S.Boger. Long-term prophylaxis with norfloxacin versus nitrofurantoin in women with recurrent urinary tract infection. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35: 1241-1242

243.A.I.Lopez, A.Kumar, M.R.Planas, Y.Li, T.V.Nguyen, C.Cai. Biofunctionalization of silicone polymers using poly(amidoamine) dendrimers and a mannose derivative for prolonged interference against pathogen colonization. Biomaterials 2011; 32(19): 4336-4346

244.MZSSRH Izvješće o provedbi nacionalnog programa za kontrolu otpornosti bakterije na antibiotike za 2009. godinu. Zagreb, 2010; 1-17

245.Nacionalni program za kontrolu otpornosti bakterija na antibiotike za razdoblje od 2009. do 2014. godine MZSS Zagreb 2008; 1-15

7. Sažetak

Upale mokraćnog mjehura najčešće su bakterijske upale kod žena. Obično nastaju uzlaznim putem i najčešće su uzrokovane bakterijama koje su dio fiziološke crijevne flore. Bakterija *Escherichia coli* uzročnik je više od 80 % svih nekompliciranih upala mokraćnog sustava, a sposobnost ove bakterije da izazove upalu anatomski i funkcionalno neoštećenog mokraćnog sustava povezuje se s određenim čimbenicima virulencije. Jedan od najvažnijih čimbenika virulencije je sposobnost adhezije na uroepitel uslijed ekspresije odgovarajućih adhezina. Primjena antiadhezivnih tvari sve više dobiva na važnosti jer uslijed široke upotrebe antibiotika u liječenju tih upala, bakterije su razvile mehanizme otpornosti na antibiotike. U ovom radu istraživana je uloga D-manoze kao antiadhezivne tvari u terapiji nekompliciranih upala mokraćnog mjehura žena koje nisu trudne. Ukupno je bilo uključeno 308 žena koje su sve u anamnezi imale rekurentne upale mokraćnog mjehura. Bile su u dobi od 20 do 79 godina i sve su na početku ispitivanja imale akutnu upalu mokraćnog mjehura za koju su dobile odgovarajuću antibiotsku terapiju u trajanju od 7 dana. Nakon što je klinički i bakteriološki potvrđeno izlječenje, podijeljene su u tri skupine u kojoj je jedna skupina žena dobivala kao profilaksu D-manozu, druga skupina nitrofurantoin kao preporučeni profilaktički antibiotik, a treća skupina nije dobivala profilaksu. Praćene su kroz period od 2 mjeseca, a glavni klinički evaluacijski kriterij bio je ponovna pojava upale mokraćnog mjehura. Ponovna upala mokraćnog mjehura unutar 2 mjeseca u pokusnoj skupini koja je uzimala D-manozu, pojavila se kod 15/103 (14,6 %) ispitanica, u kontrolnoj skupini liječenoj nitrofurantoinom kod 21/103 (20,4 %) ispitanica, a u kontrolnoj skupini bez profilaktičke terapije kod 62/102 (60,7 %) ispitanica. Kod 8/103 (7,8 %) ispitanica koje su uzimale D-manozu zabilježene su popratne pojave, dok je u skupini ispitanica koje su uzimale antibiotik, popratnih pojava bilo kod 29/103 (27,2 %) ispitanice. Enzimskom metodom određena je najviša koncentracija manoze u serumu i mokraći 3 sata nakon uzimanja jednokratne oralne doze od 2 g D-manoze u 200 mL vode. Koncentracija manoze u serumu zdravih ženskih osoba iznosila je 57 µmol/L (21-92 µmol/L), a u mokraći 24 µmol/L (0-52 µmol/L). Vrijeme poluživota manoze u krvi iznosilo je 2,5 sata. Rezultati pokazuju da je doprinos D-manoze u profilaktičkoj primjeni kod nekompliciranih upala mokraćnog mjehura žena koje pripadaju u rizičnu skupinu za rekurentnu upalu, jednako djelotvorna u usporedbi s preporučenim antibiotikom, a značajno djelotvornija nego bez profilakse. D-manoza je prirodni proizvod, dobro podnošljiv i netoksičan, u odnosu na antibiotik izaziva manje popratnih pojava, a ne može izazvati rezistenciju bakterija.

Ključne riječi: D-manoza, upala mokraćnog sustava, *Escherichia coli*

8. Summary

Inflammation of the urinary bladder is the most common bacterial infection in women. It usually occurs via ascending pathway and in most cases caused by bacteria that are part of the physiological intestinal flora. *Escherichia coli* is the cause of more than 80 % of uncomplicated urinary tract inflammation, and the ability of these bacteria to cause inflammation of anatomically and functionally intact urinary tract is associated with specific virulence factors. One of the most important virulence factor is the ability of adhesion to uroepitel as a result of expression of relevant adhesins. Application of anti-adhesive substances is gaining in importance as a result of the widespread use of antibiotics in the treatment of inflammation, as bacteria have developed mechanisms of resistance to antibiotics. This research investigates the efficacy of such an agent, D-mannose as an anti-adhesive substance in the treatment of uncomplicated urinary bladder infections of women. Total number that has been included in this research is 308 female patients with a history of recurrent inflammation of the urinary bladder, aged 20-79, who had, at the start of the study, an acute inflammation of the bladder for which they received appropriate antibiotic therapy of 7 days. After being clinical and bacteriological confirmed that they were cured, they were divided into three groups. One group received D-mannose, the other group nitrofurantoin as the recommended prophylactic antibiotic, and the third group was not treated in any way. They were monitored them over a period of 2 months and the major clinical evaluation criterion was the relapse of the urinary bladder inflammation. Repeated inflammation of the urinary bladder within 2 months in the experimental group which was taking D-mannose appeared in 15/103 (14,6 %) participants, in the control group treated with nitrofurantoin in 21/103 (20,4 %) participants and in the control group without therapy in 62/102 (60,7 %) participants. Side effects while taking D-mannose occurred in 8/103 (7,8 %) participants, in the group of those who were taking an antibiotic there were side effects in 29/103 (27,2 %) participants. Using enzymatic method, the highest concentration of mannose in serum and urine was determined 3 hours after taking a single dose of 2 g D-mannose in 200 mL water. The concentration of mannose in the serum of healthy females was 57 μmol/L (21-92 μmol/L) and in urine 24 μmol/L (0-52 μmol/L). Mannose half-life in the blood was 2.5 hours. The results show that the contribution of D-mannose in the prophylactic use of uncomplicated inflammation of the urinary bladder in women who are in the risk group for recurrent infection is efficient when compared with recommended antibiotic and more efficient without anything. D-mannose is a natural product, well tolerated and nontoxic, in relation to the antibiotic it causes fewer side effects and it can't cause bacterial resistance.

Keywords: D-mannose, urinary tract infection, *Escherichia coli*

9. Životopis

Bojana Kranjčec (Hrdina) rođena je 1963. godine. Osnovnu i srednju školu završila je u Krapini. 1981. godine upisuje Farmaceutsko-biokemijski fakultet u Zagrebu, smjer medicinska-biokemija, koji završava u lipnju 1985. godine. Iste godine zapošljava se na Katedri za biokemiju - Preparativna biokemija, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu. Iste godine upisuje Postdiplomski studij iz medicinske biokemije koji završava 1986. godine. 1986. godine zapošljava se u Kliničkoj bolnici „Merkur“ u Zagrebu u Zavodu za kliničku kemiju i laboratorijsku medicinu gdje obavlja pripravnički staž i polaže državni ispit. 1993. godine brani magistarski rad koji je izradila u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice „Rebro“. Specijalistički staž iz medicinske biokemije obavlja u Zavodu za kliničku kemiju Kliničke bolnice „Merkur“ u Zagrebu i 2000. godine polaže specijalistički ispit. Od 1989. godine do danas radi u Odjelu za medicinsku biokemiju Opće bolnice Zabok, sada na mjestu voditeljice Odjela. Član je Povjerenstva za stručna pitanja Hrvatske komore medicinskih biokemičara. Živi u Krapini sa suprugom i troje djece.

Popis radova i aktivnog sudjelovanja na kongresima:

1. B.Hrdina, C.Kostrenčić, M.T.Časl. The purification of specific anti HPL antibody by affinity chromatography. Period Biologorum 1986; 88(1): 239-240
2. V.Kukura, I.Zaninović, B.Hrdina, M.Podobnik, V.Kašnar. Vrijednosti tumorskog markera CA-125 prije i poslije operacije karcinoma ovarija. XI kongres Ginekologa-opstetičara Jugoslavije, Novi Sad, 1988.
3. V.Kukura, I.Zaninović, B.Hrdina. Concentrations of CA-125 Tumor Marker on Endometrial Carcinoma. Gynecologia Oncology 1990; 37: 388-389
4. M.Trbojević-Čepe, A.Jušić, B.Kranjčec, D.Vuletić. Leukocyte Glutamate Dehydrogenase activity in patients with neurodegenerative psychiatric diseases. Neurol. Croat. 1995; 44(1-2): 33-44
5. B.Kranjčec, K.Priljević, Z.Flegar-Meštrić, Z.Šiftar, B.Šurina. Određivanje katalitičke koncentracije α-amilaze; usporedba metoda i analitička procjena modificirane IFCC preporučene metode. III Kongres med. biokemičara, Vukovar, 1999.
6. B.Kranjčec, K.Priljević, Z.Flegar-Meštrić, Z.Šiftar, B.Šurina. Određivanje katalitičke koncentracije α-amilaze; usporedba metoda i analitička procjena modificirane IFCC preporučene metode. Biochemia Medica 1999; 9(1): 80

7. Z.Flegar-Meštrić, B.Kranjčec. Age related changes for soluble transferrin receptor in serum of healthy population in Croatia, Euromedlab 15.IFCC-FESCC European Congress, Barcelona, 1-5 june 2003.
8. Z.Flegar-Meštrić, B.Kranjčec. Age related changes for soluble transferrin receptor in serum of healthy population in Croatia, CCLM; 2003; 41: 132.
9. B.Kranjčec, M.Kastelan, D.Varda-Brkić, S.Altarac. D-manoza kod upala mokraćnog mjehura 2. hrvatski kongres o urogenitalnim i spolno prenosivim infekcijama s međunarodnim sudjelovanjem, Opatija, 2010.
10. B.Kranjčec, S.Altarac: Utjecaj D-manoze na uspješnost liječenja akutne upale mokraćnog mjehura 3. hrvatski kongres o urogenitalnim i spolno prenosivim infekcijama s međunarodnim sudjelovanjem, Opatija, 2011.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet **Doktorski rad**

ULOGA D-MANOZE U PROFILAKSI AKUTNE UPALE MOKRAĆNOG MJEHURA

BOJANA KRANJČEC

OPĆA BOLNICA ZABOK

Sažetak

Istraživana je uloga D-manoze kao antiadhezivne tvari u terapiji nekompliciranih upala mokraćnog mjehura žena koje nisu trudne. Ukupno je bilo uključeno 308 žena koje su sve u anamnezi imale rekurentne upale mokraćnog mjehura. Na početku ispitivanja imale su akutnu upalu mokraćnog mjehura za koju su dobile odgovarajuću antibiotsku terapiju. Nakon što je klinički i bakteriološki potvrđeno izlječenje, podijeljene su u tri skupine u kojoj je jedna skupina žena dobivala kao profilaksu D-manozu, druga skupina nitrofurantoin kao preporučeni profilaktički antibiotik, a treća skupina nije dobivala profilaksu. Ponovna upala mokraćnog mjehura unutar 2 mjeseca u skupini koja je uzimala D-manozu, pojavila se kod 14,6 % ispitanica, u kontrolnoj skupini liječenoj nitrofurantoinom kod 20,4 % ispitanica, a u kontrolnoj skupini bez profilaktičke terapije kod 60,7 % ispitanica. Enzimskom metodom određena je koncentracija manoze u serumu i mokraći. Profilaktička primjena D-manoze kod nekompliciranih upala mokraćnog mjehura žena koje pripadaju u rizičnu skupinu za rekurentnu upalu, jednako je djelotvorna u usporedbi s preporučenim antibiotikom, a značajno djelotvornija nego bez profilakse. D-manoza je prirodni proizvod, dobro podnošljiv i netoksičan, a u odnosu na antibiotik izaziva manje popratnih pojava.

Rad je pohranjen u knjižnici Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, te Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici.
(132 stranice, 21 slika, 38 tablica, 245 literaturnih navoda, izvornik je na hrvatskom jeziku)

Ključne riječi: D-manoza, upala mokraćnog sustava, *Escherichia coli*

Voditelj: Prim. dr. sc. Silvio Altarac, dr. med., spec. urolog, znanstveni savjetnik

Ocjenjivači: prof. dr. sc. Jerka Dumić, Sveučilište u Zagrebu, FBF
prof. dr. sc. Tihana Žanić-Grubišić, Sveučilište u Zagrebu, FBF
izv. prof. dr. sc. Danica Ljubanović Galešić, Sveučilište u Zagrebu, MF

Datum prihvaćanja rada: 20. lipnja 2012.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Doctoral Thesis

THE ROLE OF D-MANNOSE IN PROPHYLAXIS OF ACUTE BLADDER INFLAMMATION

BOJANA KRANJČEC

GENERAL HOSPITAL ZABOK

Summary

This research investigates the efficacy of D-mannose as an anti-adhesive substance in the treatment of uncomplicated urinary bladder infections. Total number that has been included in this research is 308 female patients, who had, at the start of the study, an acute inflammation of the bladder for which they received appropriate antibiotic therapy. After being clinical and bacteriological confirmed that they were cured, they were divided into three groups. One group received D-mannose, the other nitrofurantoin as the recommended prophylactic antibiotic, and the third was not treated in any way. Repeated inflammation of the urinary bladder within 2 months in the group which was taking D-mannose appeared in 14,6 % participants, in the group treated with nitrofurantoin in 20,4 % participants and in the group without therapy in 60,7 % participants. Using enzymatic method, concentration of mannose in serum and urine was determined The results show that the contribution of D-mannose in the prophylactic use of uncomplicated inflammation of the urinary bladder in women who are in the risk group for recurrent infection is efficient when compared with recommended antibiotic and more efficient without anything. D-mannose is a natural product, well tolerated and nontoxic, in relation to the antibiotic it causes fewer side effects.

Thesis is deposited in the library of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry and University Library
(132 pages, 21 figures, 38 tables, 245 references, original in Croatian language)

Key words: D-mannose, urinary tract infection, *Escherichia coli*

Supervisor: Prim.dr.sc. Silvio Altarac, dr.med., urological surgeon, scientific adviser

Reviewers: prof. dr. sc. Jerka Dumić, University of Zagreb, FBF
prof. dr. sc. Tihana Žanić-Grubišić, University of Zagreb, FBF
izv. prof. dr.sc. Danica Ljubanović Galešić, University of Zagreb, MF

Thesis accepted: June 20, 2012