

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Dolore pelvico cronico: mastociti e fisiopatologia delle comorbilità

Prof.ssa Alessandra Graziottin
Direttore del Centro di Ginecologia
H. San Raffaele Resnati, Milano

Introduzione

La comunità scientifica internazionale definisce “dolore pelvico” il dolore avvertito a livello della pelvi che può manifestarsi episodicamente, essere persistente o ricorrente, e che è associato a sintomi e disfunzioni del basso tratto urinario, genitali e sessuali, intestinali e ano-rettali senza alcuna evidenza di infezioni né di altre patologie organiche. Il dolore pelvico è definito cronico nel caso che perduri da almeno sei mesi, con andamento costante od intermittente (Fall et al., 2010). Ma cosa o chi può essere responsabile del dolore in assenza di infezione e palese infiammazione e/o di danno tissutale?

Il dolore cronico che non sia di natura oncologica o infiammatoria viene definito neuropatico e/o disfunzionale; tuttavia, crescenti evidenze suggeriscono come ci possa essere una base infiammatoria nel viraggio tra dolore acuto e dolore cronico. Se il termine neuropatico è sovente associato ad un dolore conseguente ad una lesione del nervo, il termine disfunzionale ci fa capire che il dolore può anche essere conseguente ad un'alterazione della funzione neuronale. Il **dolore pelvico cronico (CPP)** è, dunque, un dolore **neuropatico**, verosimilmente di tipo **disfunzionale**. La natura di dolore neuropatico e/o disfunzionale nel CPP è clinicamente confermata dalla presenza di **allodinia** (Jarrell et al., 2009; Murina et al., 2010) ed **iperalgisia** (Tu et al., 2007; Tu et al., 2008; Tu et al., 2009). Tuttavia le basi fisiopatologiche del CPP e della sua progressione così come l'elevata comorbilità delle sindromi con CPP non sono del tutto chiarite. Negli ultimi anni sono sempre di più gli studiosi che suggeriscono una disfunzione neuroimmunitaria alla base di questi eventi. In particolare, emerge con chiarezza che il mastocita (MC) esercita un ruolo essenziale nello sviluppo del CPP e nelle comorbilità che lo sottendono e lo alimentano. Questa cellula immunitaria, infatti, gioca un ruolo chiave nell'infiammazione acuta e cronica, di cui il dolore è il sintomo principale. Il MC è presente in maniera ubiquitaria in tutti gli organi e tessuti vascolarizzati, dove lavora come sentinella immunitaria e organizza la risposta infiammatoria. Il MC contiene molteplici sostanze vasoattive, proinfiammatorie e neurotrofiche, stipate in granuli preformati che, in modo differenziato, vengono immediatamente liberate nei tessuti circostanti in risposta all'azione di diverse noxae patogene coordinando le diverse fasi della risposta infiammatoria fisiologica e patologica (Kinet, 2007). I mediatori mastocitari modulano nel tempo la risposta infiammatoria e algica dell'organismo ad eterogenei fattori nocivi esogeni ed endogeni.

E' obiettivo di questa presentazione aggiornare le conoscenze relative alla presenza di disfunzioni neuroimmunitarie alla base del CPP, ponendo particolare attenzione al ruolo predominante del mastocita nel viraggio dell'infiammazione e del dolore dallo stato acuto a quello cronico neuropatico.

Metodo

E' stata effettuata una ricerca in Pubmed utilizzando le seguenti parole chiave: nocicezione, dolore pelvico cronico, dolore nocicettivo, dolore neuropatico, comorbilità, mastocita, infiammazione cronica, cistiti, vestiboliti vulvari, endometriosi, sindrome del colon irritabile. Per esigenze di sintesi, sono stati selezionati i lavori più significativi che consentissero di rileggere in una prospettiva unitaria, ancorché multisistemica, le diverse patologie che contribuiscono al CPP.

I mastociti sono più numerosi e sono attivati nei tessuti di pazienti con CPP

Aumentano in maniera progressiva le evidenze a sostegno del ruolo fondamentale del mastocita iperattivato nel viraggio da infiammazione acuta a cronica, con un ruolo specifico nell'evoluzione del dolore da “nocicettivo”, tipico dell'infiammazione acuta, a “neuropatico”, tipico non solo dell'infiammazione cronica ma anche della perdita della regolazione del sistema del dolore. In queste

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

condizioni, il dolore si trasforma e, da segnale di pericolo per l'organismo, diviene una vera e propria malattia, elemento fondamentale delle condizioni associate al CPP.

Tabella 1. Studi che dimostrano la presenza e l'attivazione dei mastociti nella sindrome della vescica dolorosa (fino a cistite interstiziale), nella sindrome del colon irritabile, nell'endometriosi e nella vestibolite vulvare.

| | <i>Valutazione</i> | <i>Risultato</i> | <i>Riferimenti bibliografici</i> |
|---|---|--|--|
| Sindrome della vescica dolorosa (Cistite interstiziale) | morfologica e/o immunoistochimica di tessuti biotipici | Aumento della densità delle cellule mastocitarie nel muscolo detrusore, nella tunica sottomucosa e nell'epitelio vescicale. | Kastrup et al., 1983, Aldenborg et al., 1986; Feltis et al., 1987; Christmas et al., 1991; Theoharides et al., 1995; Pang et al., 1996; Okragly et al., 1999, Yamada et al., 2000; Pecker et al., 2000, Larsen et al., 2008. |
| | dei marker mastocitari nei tessuti biotipici di vescica umana: <ul style="list-style-type: none"> • istamina | 60 % aumento del contenuto tissutale di istamina vs i tessuti controllo. | Kastrup J et al., 1983; Aldenborg et al., 1986; |
| | dell'attivazione mastocitaria evidenziata con microscopia elettronica | Attivazione dell'80% delle cellule mastocitarie. | Theoharides et al., 1995 |
| | dei mediatori mastocitari urinari: <ul style="list-style-type: none"> • istamina • metilistamina • triptasi • NGF • IL-6 • IL-8 | Aumento dei livelli dei mediatori mastocitari. | el-Mansoury et al., 1994; Lotz et al., 1994; Boucher et al., 1995; Pang et al., 1996; Okragly et al., 1999; Erickson et al., 2008; Li et al. 2009 |
| Sindrome del colon irritabile | morfologica e/o immunoistochimica di tessuti biotipici | Aumento della densità delle cellule in biopsie intestinali. | Weston et al., 1993; Pang et al., 1996; O'Sullivan et al., 2000; Park et al., 2003; Barbara et al., 2004; Lee et al., 2008; Cremon et al., 2009; Klooker et al., 2010 |
| | dei marker mastocitari in tessuti biotipici di vescica umana: <ul style="list-style-type: none"> • istamina • triptasi | Aumento dei livelli dei mediatori mastocitari. | Barbara et al., 2004; Bian et al., 2009; Klooker et al., 2010 |
| | dell'attivazione mastocitaria evidenziata con microscopia elettronica | Attivazione delle cellule mastocitarie nell'intestino cieco (60%) e retto (70%). | Park et al., 2003; |
| | mediatori mastocitari urinari: <ul style="list-style-type: none"> • istamina • metilistamina • Triptasi | Aumento dei livelli dei mediatori mastocitari. | Pang et al., 1996; |
| Endometriosi | morfologica e/o immunoistochimica di tessuti biotipici | Presenza di mastociti integri o attivati in prossimità di vasi sanguigni ed al tessuto interstiziale fibrotico nei tessuti endometriosisici. | Matsuzaki et al., 1998; Konno et al., 2003; Fujiwara et al., 2004; Kempuraj et al., 2004 Sugamata et al., 2005; Anaf et al., 2006 |
| | dei marker mastocitari in tessuti biotipici di vescica umana: <ul style="list-style-type: none"> • NGF • triptasi • chimasi | Aumento dei livelli di mediatori mastocitari nei tessuti endometriosisici. | Anaf et al., 2002; Wang et al., 2009 Kempuraj et al. 2004; Anaf et al., 2006 |
| Vestibolite vulvare | morfologica e/o immunoistochimica di tessuti biotipici | Aumento della densità mastocitaria e/o di mediatori mastocitari in tessuti vulvari. | Chaim et al., 1996; Nyirjesy et al., 2001; Bornstein et al., 2004 ; Bornstein et al., 2008; Goetsch et al., 2010 |

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Dal punto di vista istologico, tre criteri diagnostici confermano il mastocita come cellula critica del sistema infiammazione-dolore nei tessuti pelvici dei pazienti con CPP rispetto a quelli dei tessuti di controllo:

1. il numero dei mastociti aumenta significativamente, suggerendo che nuovi precursori di queste cellule sono richiamati *in situ* in queste condizioni;
2. i mastociti presenti sono attivati, infatti sono completamente o parzialmente degranulati ed i granuli citoplasmatici rilasciati sono distribuiti nei tessuti circostanti;
3. i mastociti attivati sono per lo più associati a fibre nervose nocicettive.

L'aumento del numero dei mastociti nel colon di pazienti affetti da sindrome del colon irritabile (IBS), nella vescica di chi soffre di cistite interstiziale (CI), nei tessuti endometriocici o nella mucosa del vestibolo vulvare dei pazienti con vestibolodinia è confermato dall'analisi biochimica o immunohistochimica dell'incremento dei mediatori mastocitari nei tessuti interessati dalla patologia e/o nelle urine (Tabella 1).

Interazioni neuroimmunitarie dei mastociti nei tessuti di pazienti con CPP

Nelle malattie associate al CPP i mastociti attivati sono localizzati prevalentemente in prossimità delle fibre del sistema somatosensoriale. E' noto che le fibre responsabili della percezione del dolore esprimono numerosi recettori in grado di interagire con i mediatori mastocitari: le interazioni tra mediatori con i propri recettori è in grado di influenzare l'attività neuronale. Infatti, mediatori mastocitari come ad esempio la bradichinina, la triptasi e il PGE₂, sono in grado di aumentare l'eccitabilità delle fibre somatosensoriali e di amplificare i meccanismi del dolore facilitando la fosforilazione del recettore TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid 1*; Nicol e Vasko, 2007). Tra i vari mediatori mastocitari, il fattore di crescita neuronale (NGF) ha un ruolo fondamentale nella fisiopatologia del dolore e nella trasformazione del dolore nocicettivo in dolore cronico: il legame dell'NGF con il suo recettore ad alta affinità trkA (*tropomyosin-related kinase A*) porta alla formazione di un complesso TrkA-NGF che viene trasportato retrogradamente al corpo cellulare dove determina un aumento della sintesi dei neurotrasmettitori SP (*substance P*) e CGRP (*calcitonin gene related peptide*) e dei recettori TrkA e TRPV1. Inoltre, il legame dell'NGF con il suo recettore a bassa affinità p75 facilita il rilascio dei neurotrasmettitori SP e CGRP favorendo la depolarizzazione neuronale (Nicol e Vasko, 2007). In questo modo l'NGF influenza l'attivazione dei nocicettori, innesca la trasmissione del segnale doloroso e favorisce l'instaurarsi dell'infiammazione neurogenica: la conseguenza di tutti questi eventi è che dal neurone non si origina un singolo "spike" a cui segue una fase di refrattarietà, ma una serie di spike corrispondenti a depolarizzazioni continue del neurone. Si sviluppa in questo modo la sensitizzazione periferica caratterizzata dalla liberazione di enormi quantitativi di neurotrasmettitori. I neuropeptidi rilasciati vanno a stimolare i mastociti che si attivano e rilasciano nuovi mediatori proinfiammatori e proalgogeni in grado di amplificare il processo di infiammazione locale e di sensibilizzazione neuronale. In queste condizioni la soglia del dolore si abbassa per cui si sente dolore anche in caso di stimolazioni normalmente non dolorose (allodinia). Grazie a questi effetti, l'NGF è oggi riconosciuto come uno dei principali mediatori del dolore, sintomo che può influenzare anche facilitando lo *sprouting* neuronale: in presenza di alti livelli di NGF le terminazioni nervose accrescono la loro arborizzazione e amplificano il sistema di percezione del dolore e lo sviluppo di risposte esagerate agli stimoli dolorosi (iperalgisia). I livelli di NGF, così come l'espressione del recettore TRPV1, sono alterati localmente in molte condizioni con dolore pelvico cronico (Lowe et al., 1997; Miller et al., 2002; Anaf et al., 2002; Steers et al., 2006; Chaban, 2008; Poli-Neto et al., 2009). In situazioni come la sindrome della vescica dolorosa (fino alla cistite interstiziale) l'aumento tissutale della neurotrofina si riflette in un incremento dei livelli urinari di NGF che è direttamente proporzionale alla gravità della patologia (Liu et al., 2009).

Il sistema somatosensoriale è alterato nei pazienti con CPP

L'alterazione più evidente del sistema somatosensoriale nei pazienti con CPP è la presenza del dolore. Inoltre, le alterazioni del sistema di percezione dei segnali dolorosi sono state dimostrate in modo oggettivo misurando e verificando l'abbassamento della soglia del dolore (Tu et al., 2007; Tu et al., 2008; Tu et al., 2009; Fenton et al., 2009; Murina et al., 2010). Fenomeni di

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

sensitizzazione periferica e centrale sono state descritti in caso di dismenorrea primaria e secondaria e, nella dismenorrea secondaria, questi eventi sono associati ad un alterato metabolismo cerebrale (Bajaj et al., 2003; Tu et al., 2009). Un'alterata sensibilità neuronale è anche alla base delle sindromi relative al CPP maschile (Yang et al., 2003; Pontari et al., 2004).

Queste evidenze sono confermate dai numerosi studi che hanno dimostrato un aumento della densità delle fibre nervose peptidergiche o un incremento della espressione dei recettori TRPV1 espressi dai neuroni sensoriali nei tessuti di organi pelvici di pazienti con CPP (Tabella 2).

Numerosi studi sulle alterazioni della densità delle fibre sensoriali e la loro diretta relazione con i mastociti nelle sindromi con CPP hanno coinvolto pazienti con endometriosi. In particolare, è stato dimostrato che la densità delle fibre nervose sensoriali aumenta nei noduli adenomiosici e nelle lesioni di endometriosi profonda ovariche e peritoneali (Wang et al., 2009). L'iperinnervazione è più pronunciata in caso di endometriosi infiltrante ed è correlata ad un aumento dei livelli tissutali di NGF, aumento che a sua volta è direttamente correlato all'incremento della densità mastocitaria.

Tabella 2. Evidenze che dimostrano la presenza di alterazioni delle fibre nocicettive nella sindrome della vescica dolorosa (cistite interstiziale), nella sindrome del colon irritabile, nell'endometriosi e nella vestibolite vulvare.

| | Evidenze | Riferimenti bibliografici |
|---|---|--|
| Sindrome della vescica dolorosa (Cistite interstiziale) | Aumento della densità fibre sensoriali esprimenti SP e dell'espressione del mRNA che codifica per il recettore NK1 della SP. | Pang et al., 1995; Marchand et al.,1998; Bauer e Razin, 2000; Nazif et al., 2007 |
| Sindrome del colon irritabile | Aumento della densità delle fibre sensoriali esprimenti SP e dell'espressione del recettore TRPV1; | Akbar et al., 2008; Akbar et al., 2010; Pang et al.1996 |
| Endometriosi | Iperinnervazione dei tessuti endometriocici rispetto all'endometrio eutopico. | Anaf et al., 2002, Anaf et al.,2006; Tokushige et al., 2006a; Tokushige et al., 2006b; Tokushige et al., 2007; D'Cruz et al., 2007; Zhang et al., 2007; Quinn, 2008; Zhang et al., 2009; Bokor et al., 2009; Wang et al., 2009 |
| Vestibolite vulvare | Aumento dell'espressione del recettore TRPV1 e della densità delle fibre nocicettive nei <i>tender point</i> ; alterazione della soglia di percezione del dolore. | Tympanidis et al., 2004; Murina et al., 2010; Goetsch et al.,2010 |

I mastociti hanno un ruolo importante nello sviluppo delle comorbidità pelviche ed extrapelviche

Le sindromi associate a CPP presentano un'elevata comorbidità. Il 40-60% delle pazienti con diagnosi di IBS manifesta anche sintomi che soddisfano i criteri diagnostici della IC, così come il 50 % di quelli con diagnosi di IC soddisfa i criteri diagnostici dell'IBS. Similmente, il 26% delle pazienti con IC manifesta dolore vulvare tipico della vulvodinia e il 45% dei pazienti affetti da prostatite cronica presenta i sintomi tipici della IC (Ustinova et al., 2007). Il "cross-talk" neuronale nella pelvi è necessario per la regolazione delle fisiologiche funzioni sessuali, urinarie ed intestinali ed è mediata dalla convergenza delle vie sensoriali nel midollo spinale (Malykhina, 2007). Gli organi pelvici sono innervati da circuiti condivisi e la percezione del dolore pelvico origina quando la somma di singoli input pelvici supera il valore soglia. Proprio la condivisione dei circuiti neuronali è responsabile della propagazione dello stimolo nocivo da un organo pelvico danneggiato ad uno adiacente: la presenza di neuroni afferenti dicotomizzati che innervano contemporaneamente più organi pelvici, mediante il meccanismo denominato "*axon-reflex*" permettono il passaggio dell'infiammazione neurogenica da un organo all'altro. Per esempio, una irritazione cronica del colon può causare un rilascio di neuropeptidi anche dalle afferenze degli stessi neuroni presenti nella vescica. L'abnorme rilascio dei neuropeptidi induce negli organi coinvolti il richiamo e l'attivazione dei mastociti che mediante l'*upregulation* dei fattori neurotrofici, come l'NGF, "alimentano" i neuroni dei gangli delle radici dorsali (DRG) che ricevono input convergenti. I mastociti attivati sono le cellule responsabili della sensibilizzazione delle fibre neuronali e dell'amplificazione e del mantenimento della cross-organ sensitization (Ustinova et al., 2007).

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Una disregolazione dell'attività mastocitaria è alla base della sensibilizzazione periferica e in assenza di un segnale inibitorio la progressione dello stato patologico favorisce l'insorgenza di sensitizzazione centrale come dimostrato dalla evidenza che l'ipersensibilità viscerale e l'attivazione dei neuroni *c-fos* sono correlati ad un'attivazione microgliale (Saab et al., 2007).

I pazienti con le sindromi associate a CPP tendono a sviluppare anche sintomi di altre patologie ad esempio dell'asma, dell'eczema, di malattie autoimmunitarie, di disordini temporomandibolari, della fibromialgia e della sindrome della fatica cronica (Rodríguez et al., 2009). Quindi, in aggiunta all'elevata comorbidità tra le varie sindromi pelviche esiste anche una discreta comorbidità con malattie extrapelviche. In particolare, Waylonis (1992) riporta la presenza di dolore pelvico nel 68.4% dei pazienti maschi con fibromialgia (vs 0% dei controlli) e nel 65.8% nelle donne con fibromialgia (vs 33.3% dei controlli). Anche i pazienti con sindromi vescicali manifestano comorbidità con i pazienti con fibromialgia, infatti il 12 % di pazienti con IC soddisfa i criteri diagnostici della fibromialgia; inoltre, il 23% dei pazienti con fibromialgia (vs il 3% dei controlli) ha sintomi vescicali, il 27 % (vs il 2% dei controlli) ha dolore pelvico (Clauw et al., 1997).

E' importante sottolineare che anche le sindromi extrapelviche che manifestano comorbidità con quelle pelviche, oltre alla presenza del dolore cronico come elemento comune, presentano disfunzioni neuroimmunitarie identiche a quest'ultime. I pazienti con fibromialgia, ad esempio, manifestano iperalgesia ed allodinia diffuse, sintomi che suggeriscono un'alterazione di base relativa ai processi di percezione ed elaborazione dei segnali del dolore piuttosto che un'alterazione delimitata alle regioni del corpo dove il dolore è avvertito. I pazienti con fibromialgia presentano elevati livelli serici di citochine prodotte anche dai mastociti come IL-8, IL-10, TNF- α (Wallace, 2006); inoltre, i livelli ematici di IL-8 sono direttamente correlati alla intensità del dolore (Wang et al., 2009). Il coinvolgimento dei mastociti nella patogenesi della fibromialgia è stato suggerito dalla aumentata densità di queste cellule nella cute dei pazienti con fibromialgia (Enestrom et al., 1997; Lucas et al., 2006). Questo aumento è stato recentemente riconfermato nello studio di Blanco et al. (2010) che in biopsie cutanee di pazienti con fibromialgia riporta la presenza di 5-14 cellule/campo (vs 0 presenti in biopsie di controllo; obiettivo x400). Infine, in analogia a quanto osservato nelle sindromi con CPP, un aumento della densità delle fibre peptidergiche è stato descritto a livello muscolare nei pazienti con fibromialgia (De Stefano et al., 2000).

Conclusioni

Le sindromi con CPP possono manifestarsi in modi differenti e coinvolgere specificatamente uno o più organi della pelvi. Sintomi di altre patologie extrapelviche caratterizzate dalla presenza di dolore cronico spesso si manifestano nei pazienti con CPP. Le sindromi con CPP così come quelle extrapelviche presenti in comorbidità con le prime, sono riconducibili sempre ad alterazioni che coinvolgano sia le strutture classicamente specializzate nella genesi dei segnali dolorosi, i neuroni afferenti somatosensoriali, ma anche a cambiamenti dell'attività di componenti del sistema immunitario, in particolare dei mastociti, la cui disregolazione è responsabile del mantenimento e della progressione delle alterazioni somatosensoriali. Queste evidenze suggeriscono che il controllo dell'attività di queste cellule non neuronali può rappresentare un sistema innovativo per modulare l'attività dei neuroni e controllare il CPP.

Bibliografia

- Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Brydon WG, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. *Gut*. 2010;59(6):767-74.
- Akbar A, Yiangou Y, Facer P, Walters JR, Anand P, Ghosh S. Increased capsaicin receptor TRPV1-expressing sensory fibres in irritable bowel syndrome and their correlation with abdominal pain. *Gut*. 2008;57(7):923-9.
- Aldenborg F, Fall M, Enerback L. Proliferation and transepithelial migration of mucosal mast cells in interstitial cystitis. *Immunology*. 1986;58(3):411-6.
- Al-Jefout M, Dezarnaulds G, Cooper M, Tokushige N, Luscombe GM, Markham R, Fraser IS. Diagnosis of endometriosis by detection of nerve fibres in an endometrial biopsy: a double blind study. *Hum Reprod*. 2009;24(12):3019-24

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

- Anaf V, Chapron C, El Nakadi I, De Moor V, Simonart T, Noël JC. Pain, mast cells, and nerves in peritoneal, ovarian, and deep infiltrating endometriosis. *Fertil Steril*. 2006; 86(5):1336-43.
- Anaf V, Simon P, El Nakadi I, Fayt I, Simonart T, Buxant F, Noel JC. Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis. *Hum Reprod*. 2002; 17(7):1895-900.
- Bajaj P, Bajaj P, Madsen H, Arendt-Nielsen L. Endometriosis is associated with central sensitization: a psychophysical controlled study. *J Pain*. 2003;4(7):372-80.
- Barbara G, Stanghellini V, De Giorgio R, Cremon C, Cottrell GS, Santini D, Pasquinelli G, Morselli-Labate AM, Grady EF, Bunnett NW, Collins SM, Corinaldesi R. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2004;126(3):693-702.
- Blanco I, Bérizte N, Argüelles M, Cárcaba V, Fernández F, Janciauskiene S, Oikonomopoulou K, de Serres FJ, Fernández-Bustillo E, Hollenberg MD. Abnormal overexpression of mastocytes in skin biopsies of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol*. 2010. *In press*.
- Bauer O, Razin E. Mast Cell-Nerve Interactions. *News Physiol Sci*. 2000;15:213-218
- Bian ZX, Li Z, Huang ZX, Zhang M, Chen HL, Xu HX, Sung JJ. Unbalanced expression of protease-activated receptors-1 and -2 in the colon of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome patients. *J Gastroenterol*. 2009;44(7):666-74.
- Bokor A, Kyama CM, Vercruyse L, Fassbender A, Gevaert O, Vodolazkaia A, De Moor B, Fülöp V, D'Hooghe T. Density of small diameter sensory nerve fibres in endometrium: a semi-invasive diagnostic test for minimal to mild endometriosis. *Hum Reprod*. 2009;24(12):3025-32.
- Bornstein J, Cohen Y, Zarfati D, Sela S, Ophir E. Involvement of heparanase in the pathogenesis of localized vulvodynia. *Int J Gynecol Pathol*. 2008;27(1):136-41
- Bornstein J, Goldschmid N, Sabo E. Hyperinnervation and mast cell activation may be used as histopathologic diagnostic criteria for vulvar vestibulitis. *Gynecol Obstet Invest*. 2004;58(3):171-8.
- Boucher W, el-Mansoury M, Pang X, Sant GR, Theoharides TC. Elevated mast cell tryptase in the urine of patients with interstitial cystitis. *Br J Urol*. 1995; 76(1):94-100.
- Chaban VV. Visceral sensory neurons that innervate both uterus and colon express nociceptive TRPV1 and P2X3 receptors in rats. *Ethn Dis*. 2008 Spring;18(2 Suppl 2):S2-20-4.
- Chaim W, Meriwether C, Gonik B, Qureshi F, Sobel JD. Vulvar vestibulitis subjects undergoing surgical intervention: a descriptive analysis and histopathological correlates. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1996;68(1-2):165-8.
- Christmas TJ, Rode J. Characteristics of mast cells in normal bladder, bacterial cystitis and interstitial cystitis. *Br J Urol*. 1991;68(5):473-8.
- Clauw DJ, Schmidt M, Radulovic D et al: The relationship between fibromyalgia and interstitial cystitis. *J Psychiatr Res* 1997; 31: 125.
- Cremon C, Gargano L, Morselli-Labate AM, Santini D, Cogliandro RF, De Giorgio R, Stanghellini V, Corinaldesi R, Barbara G. Mucosal immune activation in irritable bowel syndrome: gender-dependence and association with digestive symptoms. *Am J Gastroenterol*. 2009 ;104(2):392-400.
- De Stefano R, Selvi E, Villanova M, Frati E, Manganelli S, Franceschini E, Biasi G, Marcolongo R. Image analysis quantification of substance P immunoreactivity in the trapezius muscle of patients with fibromyalgia and myofascial pain syndrome. *J Rheumatol*. 2000;27(12):2906-10.

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

- el-Mansoury M, Boucher W, Sant GR, Theoharides TC. Increased urine histamine and methylhistamine in interstitial cystitis. *J Urol.* 1994 Aug;152(2 Pt 1):350-3.
- Eneström S, Bengtsson A, Frödin T. Dermal IgG deposits and increase of mast cells in patients with fibromyalgia--relevant findings or epiphenomena? *Scand J Rheumatol.* 1997;26(4):308-13.
- Erickson DR, Tomaszewski JE, Kunselman AR, Stetter CM, Peters KM, Rovner ES, Demers LM, Wheeler MA, Keay SK. Urine markers do not predict biopsy findings or presence of bladder ulcers in interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *J Urol.* 2008;179(5):1850-6.
- Fall M, Baranowski AP, Elneil S, Engeler D, Hughes J, Messelink EJ, Oberpenning F, de C Williams AC. EAU Guidelines on Chronic Pelvic Pain. *Eur Urol.* 2010 ; 57(1):35-48.
- Feltis JT, Perez-Marrero R, Emerson LE. Increased mast cells of the bladder in suspected cases of interstitial cystitis: a possible disease marker. *J Urol.* 1987;138(1):42-3.
- Fenton BW, Palmieri PA, Durner C, Fanning J. Quantification of abdominal wall pain using pain pressure threshold algometry in patients with chronic pelvic pain. *Clin J Pain.* 2009;25(6):500-5.
- Fujiwara H, Konno R, Netsu S, Sugamata M, Shibahara H, Ohwada M, Suzuki M. Localization of mast cells in endometrial cysts. *Am J Reprod Immunol.* 2004; 51(5):341-4.
- Goetsch MF, Morgan TK, Korcheva VB, Li H, Peters D, Leclair CM. Histologic and receptor analysis of primary and secondary vestibulodynia and controls: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(6):614.e1-8.
- Goetsch MF, Morgan TK, Korcheva VB, Li H, Peters D, Leclair CM. Histologic and receptor analysis of primary and secondary vestibulodynia and controls: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(6):614.e1-8.
- Jarrell J. Demonstration of cutaneous allodynia in association with chronic pelvic pain. *J Vis Exp.* 2009;(28). pii: 1232. doi: 10.3791/1232
- Kastrup J, Hald T, Larsen S, Nielsen VG. Histamine content and mast cell count of detrusor muscle in patients with interstitial cystitis and other types of chronic cystitis. *Br J Urol.* 1983;55(5):495-500.
- Kempuraj D, Papadopoulou N, Stanford EJ, Christodoulou S, Madhappan B, Sant GR, Solage K, Adams T, Theoharides TC. Increased numbers of activated mast cells in endometriosis lesions positive for corticotropin-releasing hormone and urocortin. *Am J Reprod Immunol.* 2004 ; 52(4):267-75.
- Kinet JP. The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. *Immunol Rev.* 2007 ;217:5-7.
- Klooker TK, Braak B, Koopman KE, Welting O, Wouters MM, van der Heide S, Schemann M, Bischoff SC, van den Wijngaard RM, Boeckxstaens GE. The mast cell stabiliser ketotifen decreases visceral hypersensitivity and improves intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *Gut.* 2010;59(9):1213-21.
- Konno R, Yamada-Okabe H, Fujiwara H, Uchiide I, Shibahara H, Ohwada M, Ihara T, Sugamata M, Suzuki M. Role of immunoreactions and mast cells in pathogenesis of human endometriosis--morphologic study and gene expression analysis. *Hum Cell.* 2003;16(3):141-9.
- Larsen MS, Mortensen S, Nordling J, Horn T. Quantifying mast cells in bladder pain syndrome by immunohistochemical analysis. *BJU Int.* 2008;102(2):204-7;

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

- Lee KJ, Kim YB, Kim JH, Kwon HC, Kim DK, Cho SW. The alteration of enterochromaffin cell, mast cell, and lamina propria T lymphocyte numbers in irritable bowel syndrome and its relationship with psychological factors. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008;23(11):1689-94.
- Liu HT, Tyagi P, Chancellor MB, Kuo HC. Urinary nerve growth factor level is increased in patients with interstitial cystitis/bladder pain syndrome and decreased in responders to treatment. *BJU Int.* 2009. In press.
- Lotz M, Villiger P, Hugli T, Koziol J, Zuraw BL. Interleukin-6 and interstitial cystitis. *J Urol.* 1994;152(3):869-73.
- Lowe EM, Anand P, Terenghi G, Williams-Chestnut RE, Sinicropi DV, Osborne JL. Increased nerve growth factor levels in the urinary bladder of women with idiopathic sensory urgency and interstitial cystitis. *Br J Urol.* 1997;79(4):572-7.
- Lucas HJ, Brauch CM, Settas L, Theoharides TC. Fibromyalgia--new concepts of pathogenesis and treatment. *Int J Immunopathol Pharmacol.* 2006;19(1):5-10
- Malykhina AP. Neural mechanisms of pelvic organ cross-sensitization. *Neuroscience.* 2007;149(3):660-72.
- Marchand JE, Sant GR, Kream RM. Increased expression of substance P receptor-encoding mRNA in bladder biopsies from patients with interstitial cystitis. *Br J Urol.* 1998;81(2):224-8.
- Matsuzaki S, Canis M, Darcha C, Fukaya T, Yajima A, Bruhat MA. Increased mast cell density in peritoneal endometriosis compared with eutopic endometrium with endometriosis. *Am J Reprod Immunol.* 1998;40(4):291-4.
- Miller LJ, Fischer KA, Goralnick SJ, Litt M, Bursleson JA, Albertsen P, Kreutzer DL. Nerve growth factor and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Urology.* 2002;59(4):603-8
- Nazif O, Teichman JM, Gebhart GF. Neural upregulation in interstitial cystitis. *Urology.* 2007; 69(4 Suppl):24-33
- Nicol GD, Vasko MR. Unraveling the story of NGF-mediated sensitization of nociceptive sensory neurons: ON or OFF the Trks? *Mol Interv.* 2007;7(1):26-41.
- Nyirjesy P, Sobel JD, Weitz MV, Leaman DJ, Small MJ, Gelone SP. Cromolyn cream for recalcitrant idiopathic vulvar vestibulitis: results of a placebo controlled study. *Sex Transm Infect.* 2001;77(1):53-7.
- Okragly AJ, Niles AL, Saban R, Schmidt D, Hoffman RL, Warner TF, Moon TD, Uehling DT, Haak-Frendscho M. Elevated tryptase, nerve growth factor, neurotrophin-3 and glial cell line-derived neurotrophic factor levels in the urine of interstitial cystitis and bladder cancer patients. *J Urol.* 1999; 161(2):438-42.
- O'Sullivan M, Clayton N, Breslin NP, Harman I, Bountra C, McLaren A, O'Morain CA. Increased mast cells in the irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2000;12(5):449-57.
- Pang X, Boucher W, Triadafilopoulos G, Sant GR, Theoharides TC. Mast cell and substance P-positive nerve involvement in a patient with both irritable bowel syndrome and interstitial cystitis. *Urology.* 1996;47(3):436-8.
- Park CH, Joo YE, Choi SK, Rew JS, Kim SJ, Lee MC. Activated mast cells infiltrate in close proximity to enteric nerves in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *J Korean Med Sci.* 2003;18(2):204-10.
- Peeker R, Enerbäck L, Fall M, Aldenborg F. Recruitment, distribution and phenotypes of mast cells in interstitial cystitis. *J Urol.* 2000;163(3):1009-15.
- Piche T, Saint-Paul MC, Dainese R, Marine-Barjoan E, Iannelli A, Montoya ML, Peyron JF, Czerucka D, Cherikh F, Filippi J, Tran A, Hébuterne X. Mast cells and cellularity of the colonic mucosa correlated with fatigue and depression in irritable bowel syndrome. *Gut.* 2008; 57(4):468-73.

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

- Poli-Neto OB, Filho AA, Rosa e Silva JC, Barbosa Hde F, Candido Dos Reis FJ, Nogueira AA. Increased capsaicin receptor TRPV1 in the peritoneum of women with chronic pelvic pain. *Clin J Pain*. 2009;25(3):218-22.
- Pontari MA, Ruggieri MR. Mechanisms in prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *J Urol*. 2004;172(3):839-45.
- Rodríguez MA, Afari N, Buchwald DS; National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on Urological Chronic Pelvic Pain Evidence for overlap between urological and nonurological unexplained clinical conditions. *J Urol*. 2009;182(5):2123-31.
- Saab CY, Wang J, Gu C, Garner KN, Al-Chaer ED. Microglia: a newly discovered role in visceral hypersensitivity. *Neuron Glia Biol*. 2007;2(4):271-277.
- Steers WD, Tuttle JB. Mechanisms of Disease: the role of nerve growth factor in the pathophysiology of bladder disorders. *Nat Clin Pract Urol*. 2006;3(2):101-10.
- Sugamata M, Ihara T, Uchiide I. Increase of activated mast cells in human endometriosis. *Am J Reprod Immunol*. 2005; 53(3):120-5.
- Theoharides TC, Sant GR, el-Mansoury M, Letourneau R, Ucci AA Jr, Meares EM Jr. Activation of bladder mast cells in interstitial cystitis: a light and electron microscopic study. *J Urol*. 1995;153(3 Pt 1):629-36.
- Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. Different types of small nerve fibers in eutopic endometrium and myometrium in women with endometriosis. *Fertil Steril*. 2007; 88(4):795-803.
- Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. High density of small nerve fibres in the functional layer of the endometrium in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2006 a;21(3):782-7
- Tokushige N, Markham R, Russell P, Fraser IS. Nerve fibres in peritoneal endometriosis. *Hum Reprod*. 2006b; 21(11):3001-7.
- Tu CH, Niddam DM, Chao HT, Liu RS, Hwang RJ, Yeh TC, Hsieh JC. Abnormal cerebral metabolism during menstrual pain in primary dysmenorrheal. *Neuroimage*. 2009;47(1):28-35.
- Tu FF, Fitzgerald CM, Kuiken T, Farrell T, Harden RN. Comparative measurement of pelvic floor pain sensitivity in chronic pelvic pain. *Obstet Gynecol*. 2007;110(6):1244-8.
- Tu FF, Fitzgerald CM, Kuiken T, Farrell T, Norman Harden R. Vaginal pressure-pain thresholds: initial validation and reliability assessment in healthy women. *Clin J Pain*. 2008;24(1):45-50.
- Tympanidis P, Casula MA, Yiangou Y, Terenghi G, Dowd P, Anand P. Increased vanilloid receptor VR1 innervation in vulvodynia. *Eur J Pain*. 2004;8(2):129-33.
- Ustinova EE, Gutkin DW, Pezzone MA. Sensitization of pelvic nerve afferents and mast cell infiltration in the urinary bladder following chronic colonic irritation is mediated by neuropeptides. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;292(1):F123-30.
- Wallace DJ. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia. *Curr Pharm Des*. 2006
- Wang G, Tokushige N, Markham R, Fraser IS. Rich innervation of deep infiltrating endometriosis. *Hum Reprod*. 2009; 24(4):827-34.
- Waylonis GW and Heck W: Fibromyalgia syndrome. New associations. *Am J Phys Med Rehabil*. 1992; 71: 343.
- Weston AP, Biddle WL, Bhatia PS, Miner PB Jr. Terminal ileal mucosal mast cells in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci*. 1993;38(9):1590-5.
- Yamada T, Murayama T, Mita H, Akiyama K. Subtypes of bladder mast cells in interstitial cystitis. *Int J Urol*. 2000;7(8):292-7.

Graziottin A.

Dolore pelvico cronico: mastociti e fisiopatologia delle comorbidità

Corso SIGO su "Dolore pelvico cronico (CPP): semeiotica, comorbidità, diagnosi e terapia"

86° Congresso nazionale della Società Italiana di Ginecologia ed Ostetricia (SIGO) su "Donna oggi: essere e benessere - La medicina al servizio della donna", Milano, 14-17 novembre 2010

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Yang CC, Lee JC, Kromm BG, Ciol MA, Berger RE. Pain sensitization in male chronic pelvic pain syndrome: why are symptoms so difficult to treat? J Urol. 2003;170(3):823-6; discussion 826-7

Zhang X, Lu B, Huang X, Xu H, Zhou C, Lin J. Endometrial nerve fibers in women with endometriosis, adenomyosis, and uterine fibroids. Fertil Steril. 2009;92(5):1799-801