

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Endometriosi: mastociti e comorbidità

Prof.ssa Alessandra Graziottin

Direttore del Centro di Ginecologia e Sessuologia Medica

H. San Raffaele Resnati, Milano

Introduzione

L'**endometriosi** è una malattia grave, ad evoluzione progressiva. Se non precocemente diagnosticata e trattata, può avere esiti complessi per la salute procreativa, sessuale e relazionale della donna. Costituisce uno dei fattori etiologici più potenti del **dolore pelvico**, il dolore avvertito a livello del piccolo bacino, 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 (1).

L'endometriosi e le patologie associate (**comorbidità**) sono sottese da un quadro **infiammatorio**, che vede nel **mastocita** il grande direttore dell'orchestra biochimica, responsabile non solo dell'infiammazione acuta ma anche della sua cronicizzazione, con il **parallelo evolversi del dolore da acuto a cronico**. Crescenti evidenze suggeriscono come ci possa essere infatti una base infiammatoria nel viraggio tra dolore acuto e dolore cronico. Se il termine neuropatico è sovente associato a un dolore conseguente ad una lesione del nervo, il termine disfunzionale ci fa capire che il dolore può anche essere conseguente a un'alterazione della funzione neuronale.

Il **dolore pelvico cronico** (CPP) associato all'endometriosi ha le caratteristiche di un dolore **neuropatico**, verosimilmente di tipo **disfunzionale**. La natura di dolore neuropatico e/o disfunzionale nel CPP è clinicamente confermata dalla presenza di **allodinia** (2) e **iperalgisia** (3).

Il **mastocita** (MC) esercita un ruolo essenziale nello sviluppo del CPP e nelle comorbidità che lo sottendono e lo alimentano. 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 (4). I mediatori mastocitari modulano nel tempo la risposta infiammatoria e algica dell'organismo ad eterogenei fattori nocivi esogeni ed endogeni.

L'obiettivo di questa presentazione è aggiornare le conoscenze relative alla presenza di disfunzioni neuroimmunitarie alla base dell'endometriosi e 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: endometriosi, nocicezione, dolore pelvico cronico, dolore nocicettivo, dolore neuropatico, comorbidità, mastocita, infiammazione cronica, cistiti, vestiboliti vulvari, sindrome del colon irritabile, fibromialgia. 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.

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Endometriosi, mastociti e infiammazione

I mastociti sono più numerosi e sono attivati nei tessuti di pazienti con endometriosi profonda e CPP. Nell'endometriosi 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 condizioni, il dolore si trasforma e, da segnale di pericolo per l'organismo, diviene una vera e propria **malattia**, protagonista fondamentale e disturbante delle condizioni associate al CPP, endometriosi in primis.

Tabella 1. Studi che dimostrano la presenza e l'attivazione dei mastociti nell'endometriosi

	<i>Valutazione</i>	<i>Risultato</i>	<i>Riferimenti bibliografici</i>
Endometriosi	morfologica e/o immunoistochimica di tessuti bioptici	Presenza di mastociti integri o attivati in prossimità di vasi sanguigni ed al tessuto interstiziale fibrotico nei tessuti endometriosisici	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
	dei marker mastocitari in tessuti bioptici di endometriosi: <ul style="list-style-type: none"> • NGF • triptasi • chimasi 	Aumento dei livelli di mediatori mastocitari nei tessuti endometriosisici	5, 7, 8, 12

Dal punto di vista **istologico**, **tre criteri diagnostici** confermano il mastocita come cellula critica del sistema infiammazione-dolore nei tessuti pelvici dei pazienti con **endometriosi e 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. **aumenta significativamente** il numero di **mastociti attivati**: infatti sono completamente o parzialmente degranulati ed i granuli citoplasmatici rilasciati sono distribuiti nei tessuti circostanti, attivando sia la risposta infiammatoria, sia la proliferazione delle fibre nervose del dolore. Questa proliferazione costituisce il correlato morfofunzionale dell'iperalgia evidenziabile sul piano clinico;
3. i **mastociti attivati sono per lo più associati a fibre nervose nocicettive**.

L'aumento del numero dei mastociti nei tessuti endometriosisici e nei tessuti delle comorbilità associate (quali il colon di pazienti affetti da sindrome del colon irritabile (IBS), la vescica di chi soffre di cistite interstiziale (CI), o nella mucosa del vestibolo vulvare delle pazienti con vestibolodinia, e perfino nel tessuto muscolare di pazienti affette da fibromialgia) è confermato dall'analisi biochimica o immunoistochimica dell'incremento dei mediatori mastocitari nei tessuti interessati dalla patologia e/o nelle urine (4-20).

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

Interazioni neuroimmunitarie dei mastociti nei tessuti di pazienti con endometriosi e CPP

Nell'endometriosi e nelle malattie associate al CPP i mastociti attivati sono localizzati prevalentemente in prossimità delle fibre del sistema somatosensoriale. 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*) (21). 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 (21). 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 proalogeni 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 (iperalgia). I livelli di NGF, così come l'espressione del recettore TRPV1, sono alterati localmente in molte condizioni con dolore pelvico cronico (8,22,23,24,25) In situazioni come la sindrome della vescica dolorosa (fino alla cistite interstiziale), spesso associata all'endometriosi, l'aumento tissutale della neurotrofina si riflette in un incremento dei livelli urinari di NGF che è direttamente proporzionale alla gravità della patologia (26).

Il sistema somatosensoriale è alterato nei pazienti con endometriosi e CPP

L'alterazione più evidente del sistema somatosensoriale nei pazienti con endometriosi e 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. Fenomeni di **sensitizzazione periferica e centrale** sono state descritti in caso di endometriosi, con dismenorrea primaria e secondaria. Nella dismenorrea secondaria, questi eventi sono associati ad un alterato metabolismo cerebrale (27, 28). Numerosi studi 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 endometriosi e CPP (8,13). In particolare, è stato dimostrato che la densità delle fibre nervose sensoriali aumenta nei noduli adenomiosici e nelle lesioni di endometriosi profonda ovariche e

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

peritoneali (12). 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.

I mastociti hanno un ruolo critico 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 (29). 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 (30). 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 (29).

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 (31).

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 (32). Quindi, in aggiunta all'elevata **comorbidità tra le varie sindromi pelviche** esiste anche una **discreta comorbidità con malattie extrapelviche**. In particolare, Waylonis (33) 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 (34).

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 **iperalgisia 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 (35); inoltre, i livelli ematici di IL-8 sono direttamente correlati

DRAFT COPY – SOLO PER USO PERSONALE

alla intensità del dolore (12). Il coinvolgimento dei mastociti nella patogenesi della fibromialgia è stato suggerito dalla aumentata densità di queste cellule nella cute dei pazienti con fibromialgia (36).

Conclusioni

L'endometriosi e le sindromi associate in comorbidità, 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 endometriosi e CPP. Le sindromi con CPP così come quelle extrapelviche presenti in comorbidità con le prime, sono riconducibili sempre ad alterazioni che coinvolgono 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 contribuire a controllare la progressione dell'endometriosi verso il CPP, in associazione con altre terapia (quali gli estroprogestinici o i progestinici).

Bibliografia

1. Fall M et Al. EAU Guidelines on Chronic Pelvic Pain. Eur Urol. 2010; 57 (1): 35-48
2. Jarrell J. Demonstration of cutaneous allodynia in association with chronic pelvic pain. J Vis Exp. 2009; (28), 12-22
3. Tu FF et Al. Comparative measurement of pelvic floor pain sensitivity in chronic pelvic pain. Obstet Gynecol. 2007; 110 (6): 1244-8
4. Kinet JP. The essential role of mast cells in orchestrating inflammation. Immunol Rev. 2007; 217: 5-7
5. Kempuraj D et Al. 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
6. Konno R et Al. Role of immunoreactions and mast cells in pathogenesis of human endometriosis--morphologic study and gene expression analysis. Hum Cell. 2003; 16 (3): 141-9
7. Anaf VS et Al. Pain, mast cells, and nerves in peritoneal, ovarian, and deep infiltrating endometriosis. Fertil Steril. 2006; 86 (5): 1336-43
8. Anaf VS et Al. Hyperalgesia, nerve infiltration and nerve growth factor expression in deep adenomyotic nodules, peritoneal and ovarian endometriosis. Hum Reprod. 2002; 17 (7): 1895-900
9. Fujiwara H et Al. Localization of mast cells in endometrial cysts. Am J Reprod Immunol. 2004; 51 (5): 341-4
10. Matsuzaki S et Al. Increased mast cell density in peritoneal endometriosis compared with eutopic endometrium with endometriosis. Am J Reprod Immunol. 1998; 40 (4): 291-4
11. Sugamata M et Al. Increase of activated mast cells in human endometriosis. Am J Reprod Immunol. 2005; 53 (3): 120-5
12. Wang G et Al. Rich innervation of deep infiltrating endometriosis. Hum Reprod. 2009; 24 (4): 827-34
13. Akbar A et Al. Expression of the TRPV1 receptor differs in quiescent inflammatory bowel disease with or without abdominal pain. Gut. 2010; 59 (6): 767-74
14. Aldenborg F. Proliferation and transepithelial migration of mucosal mast cells in interstitial cystitis. Immunology. 1986; 58 (3): 411-6
15. Al-Jefout M et Al. 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

16. Barbara G et AL. Activated mast cells in proximity to colonic nerves correlate with abdominal pain in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2004; 126 (3): 693-702
17. Blanco I et AL. Abnormal overexpression of mastocytes in skin biopsies of fibromyalgia patients. *Clin Rheumatol*. 2010; 29 (12): 1403-1410
18. Bornstein J et AL. Involvement of heparanase in the pathogenesis of localized vulvodynia. *Int J Gynecol Pathol*. 2008; 27 (1): 136-41
19. Bornstein J et AL. Hyperinnervation and mast cell activation may be used as histopathologic diagnostic criteria for vulvar vestibulitis. *Gynecol Obstet Invest*. 2004; 58 (3): 171-8
20. Boucher W et AL. Elevated mast cell tryptase in the urine of patients with interstitial cystitis. *Br J Urol*. 1995; 76 (1): 94-100
21. Nicol GD et AL. Unraveling the story of NGF-mediated sensitization of nociceptive sensory neurons: ON or OFF the Trks? *Mol Interv*. 2007; 7 (1): 26-41
22. Lowe EM et AL. 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
23. 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
24. Steers WD et AL. Mechanisms of Disease: the role of nerve growth factor in the pathophysiology of bladder disorders. *Nat Clin Pract Urol*. 2006; 3 (2): 101-10
25. Poli-Neto OB et AL. Increased capsaicin receptor TRPV1 in the peritoneum of women with chronic pelvic pain. *Clin J Pain*. 2009; 25 (3): 218-22
26. Liu HT et AL. Urinary nerve growth factor level is increased in patients with interstitial cystitis/bladder pain syndrome and decreased in responders to treatment. *BJU Int*. 2009; 15, 24-27
27. Bajaj P et AL. Endometriosis is associated with central sensitization: a psychophysical controlled study. *J Pain*. 2003; 4 (7): 372-80
28. Tu CH et AL. Abnormal cerebral metabolism during menstrual pain in primary dysmenorrhea. *Neuroimage*. 2009; 47 (1): 28-35
29. Ustinova EE, ET AL. 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
30. Malykhina AP. Neural mechanisms of pelvic organ cross-sensitization. *Neuroscience*. 2007; 149 (3): 660-72
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
32. Rodríguez MA et AL. 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
33. Waylonis GW and Heck W. Fibromyalgia syndrome. New associations. *Am J Phys Med Rehabil*. 1992; 71: 343
34. Clauw DJ, Schmidt M, Radulovic D et AL. The relationship between fibromyalgia and interstitial cystitis. *J Psychiatr Res*. 1997; 31: 125
35. Wallace DJ. Is there a role for cytokine based therapies in fibromyalgia. *Curr Pharm Des*. 2006; 12 (1): 17-22
36. Lucas HJ et AL. Fibromyalgia-new concepts of pathogenesis and treatment. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2006; 19 (1): 5-10