

Szwed Jakub, Szwed Monika, Szwed Weronika, Miga Nadia. The use of botulinum toxin (BoNT) in urology - review. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022;12(8):1026-1036. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.08.087> <https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/JEHS.2022.12.08.087> <https://zenodo.org/record/7019832>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of December 21, 2021. No. 32343. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences).

Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 21 grudnia 2021 r. Lp. 32343. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159.

Przypisane dyscypliny naukowe: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).

© The Authors 2022;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike.

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.08.2022. Revised: 07.08.2022. Accepted: 24.08.2022.

The use of botulinum toxin (BoNT) in urology - review

Jakub Szwed¹, Monika Szwed², Weronika Szwed³, Nadia Miga⁴

¹ Department of Urology, Independent Public Healthcare Center in Lubartów, Cicha 14, 21-100 Lubartów

² Provincial Specialist Hospital of the name Stefan Cardinal Wyszyński, Aleja Kraśnicka 100, 20-718 Lublin

³ School of Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Aleja Warszawska 30, 11-082 Olsztyn

⁴ Medical University of Lublin, Aleje Raclawickie 1, 20-059 Lublin

Jakub Szwed

<https://orcid.org/0000-0003-4480-4265> jszwed128@wp.pl

Department of Urology, Independent Public Healthcare Center in Lubartów, Cicha 14, 21-100 Lubartów

Monika Szwed

<https://orcid.org/0000-0002-5711-2172> monika.pi3karska@gmail.com

Provincial Specialist Hospital of the name Stefan Cardinal Wyszyński, Aleja Kraśnicka 100, 20-718 Lublin

Weronika Szwed

<https://orcid.org/0000-0001-9546-7970> weronikaszwed1997@gmail.com

School of Medicine, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Aleja Warszawska 30, 11-082 Olsztyn

Nadia Miga

<https://orcid.org/0000-0002-0551-6159> nadiamiga@icloud.com

Medical University of Lublin, Aleje Raclawickie 1, 20-059 Lublin

Abstract

Introduction and purpose

Botulinum neurotoxin (BoNT) prevents the release of acetylcholine into the synaptic cleft of the neuromuscular junction, which causes flaccid muscle paralysis. A non-obvious specialization that uses botulinum toxin is urology. The aim of this article is to present a literature review regarding the use of botulinum toxin in the treatment of urological diseases.

Description of the state of knowledge

In the overactive bladder syndrome, with resistance to oral medications, an alternative is botox injections into the bladder wall, which reduce the intensity of urgency and pollakiuria.

Treatment of BPH with botulinum toxin injection may be an alternative to surgical and pharmacological treatment. Intra-articular botox injection causes smooth muscle relaxation and gland atrophy through prostate tissue apoptosis.

Clinical studies show promising therapeutic effects of using Botox injections in the treatment of intramural cystitis. It reduces the feeling of bladder pain and the worsening of other symptoms.

Panunzio et al. Presented a meta-analysis of prospective studies that showed a statistically significant improvement in pain perception after injection of botulinum toxin into the pelvic structures, compared with baseline values for CPPS, in all cohorts evaluated.

Summary

Urology uses the entire spectrum of botox possibilities, from myorelaxation in the bladder hyperresponsiveness syndrome, through neuromodulation and apoptosis induction in benign prostatic hyperplasia, ending with anti-inflammatory and analgesic properties in bladder pain syndrome and chronic pelvic pain syndrome.

Key-words: Botox, Urology, Overactive Bladder, BPH, Bladder Pain Syndrom

1. Wstęp i cel pracy

Neurotoksyna botulinowa (BoNT) jest jedną z najsilniejszych neurotoksyn, produkowaną przez Gram-dodatnią, beztlenową bakterię *Clostridium botulinum*.

BoNT jest proteazą cynkową, która zapobiega uwalnianiu neuroprzekaźnika acetylocholino do szczeliny synaptycznej połączenia nerwowo-mięśniowego, czego efektem jest porażenie wiotkie mięśni oraz dysfunkcja autonomiczna do momentu wytworzenia nowych połączeń synaptycznych [1]. Znanych jest kilka różnych serotypów BoNT, w medycynie najczęściej stosowane są A i B. Serotypy różnią się między sobą mechanizmem oraz siłą działania. BoNT typu A działa silniej, przez fragmentację białka SNAP25 niezbędnego do uwalniania acetylocholino z błony presynaptycznej, podczas gdy serotyp B działa na białko błonowe synaptobrewinę [1].

Toksyna botulinowa znajduje zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny. Najczęściej kojarzona jest z medycyną estetyczną, a także neurologią. Ciekawą i nieoczywistą dziedziną medycyny, która wykorzystuje zasadnicze, ale także dodatkowe mechanizmy działania toksyny botulinowej jest urologia. W niniejszym artykule zostanie przedstawiony przegląd piśmiennictwa pod kątem zastosowania toksyny botulinowej w leczeniu schorzeń urologicznych.

2. Opis stanu wiedzy

2a. Zespół nadreaktywności pęcherza moczowego

Zespół nadreaktywności pęcherza moczowego (Overactive Bladder - OAB) jest powszechną dolegliwością urologiczną, która ma wpływ na jakość życia pacjenta. Objawia się między innymi w postaci parcia naglącego czy też częstomocz. Leczenie farmakologiczne OAB obejmuje leki cholinolityczne oraz agonistów receptorów beta-3 adrenergicznych [2]. U pacjentów opornych na leczenie preparatami doustnymi udokumentowano, że iniekcje z toksyną botulinową pęcherza moczowego znajdują zastosowanie jako kolejna linia leczenia, zgodna z wytycznymi Amerykańskiego Towarzystwa Urologicznego (AUA) i Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU) [3,4].

Działanie neurotoksyny botulinowej, podawanej w obszarze wypieracza w przypadku OAB, implikuje zahamowanie nieprawidłowego uwalniania acetylocholino do przestrzeni synaptycznej, co powoduje rozluźnienie wypieracza oraz niweluje uczucie parcia naglącego. Dodatkowo Botox hamuje wydzielanie innych neuroprzekaźników jak ATP czy substancja P, które również są związane z mediuowaniem czucia pęcherza, stanu zapalnego i modulacji skurczu wypieracza w OAB [5,6]. Plejotropowe działanie toksyny botulinowej obejmuje także redukcję w pęcherzu stężenia czynników wzrostu nerwów [7] oraz prawdopodobne osłabienie

centralnego mechanizmu sensytyzacji [8]. Dlatego leczenie toksyną botulinową może zmniejszyć czucie bólu i parcia naglącego [9].

Jednym z preparatów stosowanych do leczenia zespołu pęcherza nadreaktywnego jest onabotulinumoksynA - BoNT serotyp A. Początkowo dawka tego preparatu dla pacjentów z idiopatyczną postacią zespołu pęcherza nadreaktywnego (IDO) wynosiła 200 U [10]. Taka ilość preparatu powodowała znaczny spadek częstości mikcji, parcia naglącego oraz nietrzymania moczu z parcia w ciągu doby co ostatecznie wpłynęło na poprawę jakości życia. Parametrem, który uległ pogorszeniu była objętość zalegającego moczu po mikcji (PVR), co wymagało okresowego cewnikowania metoda przerywaną (CIC) [10].

Porównując wyniki leczenia różnymi dawkami botoksu, stwierdzono że 100 jednostek onabotulinumtoxinA miało 73,3% wskaźnik powodzenia w przypadku IDO, rzadsze były również działania niepożądane w stosunku do prób z dawkami 150 U lub 200 U [11]. Zgodnie z wynikami licznych badań klinicznych 100 U onabotulinumoksynA stało się standardową dawką do leczenia postaci idiopatycznej zespołu nadreaktywności pęcherza moczowego, przy której osiągnięto optimum w zakresie poprawy odczuwanych dolegliwości oraz występowania działań niepożądanych [12].

Stosowanie toksyny botulinowej w OAB wpływa na znaczną poprawę w zakresie takich dolegliwości jak częstość oddawania moczu, uczucie parcia naglącego oraz towarzyszącemu mu nietrzymania moczu, co ostatecznie wpływa na wzrost jakości życia. Niestety jest to okupione wzrostem ryzyka występowania działań niepożądanych takich jak nawrotowe infekcje dróg moczowych oraz zatrzymanie moczu wymagające CIC [13].

2b. Łagodny rozrost gruczołu krokowego

Dla pacjentów z BPH, u których leczenie farmakologiczne okazało się nieskuteczne, nie są odpowiednimi kandydatami do operacji przezcewkowego usunięcia gruczołka prostaty lub nie wyrażają chęci poddania się takiemu zabiegowi, alternatywę może stanowić zastosowanie toksyny botulinowej w iniekcjach.

BoNT-A jest podawana przez wstrzyknięcie do strefy przejściowej prostaty pod kontrolą ultrasonografii transrektalnej lub bezpośrednio w trakcie cystoskopii. Zabieg ten można wykonać w warunkach ambulatoryjnych, gdyż jest małoinwazyjny i towarzyszy mu mała liczba powikłań. Iniekcja dosterczowa BoNT-A powoduje rozluźnienie mięśni gładkich oraz atrofię gruczołu poprzez apoptozę tkanki prostaty

[14]. Teymoortash i współpracownicy wykazali wyraźne oznaki atrofii prostaty po zastosowaniu BoNT-A w komórkach gruczołowych [15].

Tkanka prostaty jest bogata w receptory adrenergiczne i muskarynowe, przez co funkcjonowanie prostaty jest pod znacznym wpływem autonomicznego układu nerwowego. Unerwienie cholinergiczne przez włókna przywspółczulne odgrywa ważną rolę we wzroście i wydzielaniu nabłonka prostaty, podczas gdy unerwienie współczulne kontroluje skurcz mięśni gładkich, co jest składową trudności w odpływie moczu w BPH [16,17]. Ponadto, stymulacja współczulna indukuje naskórkowy czynnik wzrostu, który pełni funkcję troficzną we wzroście prostaty [18]. BoNT-A może blokować negatywne działanie układu autonomicznego na prostatę, a przez to działać terapeutycznie na pacjentów z BPH [18].

Mimo obiecujących wyników badań na zwierzętach badania kliniczne nie dostarczyły optymistycznych wiadomości. Shim i wsp. przeprowadzili systematyczny przegląd i metaanalizę literatury opublikowanej w PubMed, Cochrane Library i Embase, które dotyczyły stosowania BoNT-A w LUTS/BPH [19]. Całkowita wielkość grupy badawczej wyniosła 522 osób (260 osób w grupie eksperymentalnej z 200 U onabotulinumtoxinA i 262 osoby w grupie kontrolnej). Czas trwania badania wahał się od 8 do 24 tygodni. Wyniki tego badania nie dostarczyły dowodów na kliniczne korzyści stosowania onabotulinumtoxinA w leczeniu LUTS/BPH [19].

Dosterczowe wstrzyknięcie BoNT-A, jako minimalnie inwazyjna terapia LUTS związanych z BPH, może stanowić alternatywę dla zabiegów bardziej inwazyjnych. Jak dotąd jednak brakuje wyników badań klinicznych o wysokim poziomie dowodów, które jednoznacznie wskazywałyby na skuteczność tej terapii.

2c. Śródścienne zapalenie pęcherza moczowego

Prawdziwa patogenezą IC/BPS (interstitial cystitis/bladder pain syndrome) nie została dobrze wyjaśniona. W obrazie histopatologicznym IC/BPS możemy odnaleźć złuszczone komórki nabłonka, owrzodzenie błony śluzowej, stan zapalny błony podśluzowej oraz nacieki okołonnerwowe. Obraz taki sugeruje toczący się proces zapalny w pęcherzu moczowym [20]. Ostatnie badania wykazały nasiloną apoptozę komórek urotelium, mediowaną przez proces zapalny w warstwie podnabłonkowej [21,22]. Jednym z mechanizmów działania botoksu jest neuromodulacja oraz hamowanie procesu zapalnego, w związku z tym jego zastosowanie w postaci iniekcji do ściany pęcherza moczowego może pomóc pacjentom [23], tym bardziej że wyniki ostatnich badań sugerują znaczną rolę

pośrednictwa neuronalnego w patofizjologii IC/BPS [24]. Odkrycie zwiększonej liczby receptorów P2X3 oraz ekspresji mRNA TRPV1 u pacjentów z IC/BPS wskazują na wpływ stanu zapalnego na ekspresję neuropeptydów oraz wzrost pobudliwości pęcherza moczowego, co przekłada się na dolegliwości bólowe w trakcie jego wypełniania [25,26,27].

Smith i wsp. stwierdzili znaczną poprawę w zakresie odczuwanych dolegliwości ze strony pęcherza moczowego po serii wstrzyknięć 100 U lub 200 U onabotulinumtoxinA w 20 do 30 miejsc u podstawy pęcherza [28]. Giannantoni i wsp. podawali 200 U toksyny botulinowej w iniekcjach podśluzówkowych w trójkąt oraz dno pęcherza moczowego. Odnotowali subiektywną poprawę u 80% pacjentów z IC/BPS [29]. Kuo i wsp. w prospektywnym, randomizowanym, kontrolowanym badaniu obejmującym pacjentów z opornym IC/BPS wykazali, że podnabłonkowe iniekcje z botoksu (200 U lub 100 U) w połączeniu z cystoskopową hydrodystentacją powodują znaczną poprawę w zakresie odczuwania dolegliwości bólowych mierzonych przy użyciu skali analogowej w porównaniu z pacjentami, u których zastosowano samą hydrodystentację [23].

Badania kliniczne wykazują obiecujące efekty terapeutyczne stosowania iniekcji z botoksu w leczeniu IC/BPS. Wpływa on na zmniejszenie odczuwanego bólu pęcherza oraz innych objawów śródściennego zapalenia pęcherza moczowego [30].

2d. Przewlekły zespół bólowy miednicy mniejszej

Przewlekły ból miednicy (Chronic Pelvic Pain - CPP) definiuje się jako przewlekły lub uporczywy ból odczuwany w strukturach związanych z miednicą u mężczyzn lub kobiet, który trwa co najmniej sześć miesięcy. Ból ten często wiąże się z negatywnymi konsekwencjami behawioralnymi, seksualnymi oraz emocjonalnymi. Często bólowi towarzyszą objawy, które sugerują dysfunkcję dolnych dróg moczowych, seksualną, jelitową, dna miednicy czy ginekologiczną. Wśród potencjalnych przyczyn CPP możemy wyróżnić: infekcję, nowotwór złośliwy, pierwotne zaburzenia anatomiczne, funkcjonalne lub neurogenne choroba narządów miednicy. W przypadku braku choroby podstawowej, która miałaby powodować ból, mówimy o zespole przewlekłego bólu miednicy (CPPS) [31]. Etiologia CPP jest trudna do ustalenia, ponieważ fizjopatologia jest złożona i może się różnić w zależności od populacji pacjentów i podtypu choroby [32].

W leczeniu CPPS przy użyciu botoksu wykorzystywany jest cały wachlarz mechanizmów tej proteazy, zwłaszcza neuromodulujący oraz przeciwbólowy. Użycie BTX-A w leczeniu CPPS jest nadal poza wskazaniami - *off label*. W wytycznych Europejskiego Towarzystwa Urologicznego (EAU), BTX-A znajduje swoje miejsce jako opcja terapeutyczna dla CP (Chronic Prostatitis), bólu dna miednicy i zespołu przewlekłego pierwotnego bólu odbytu [31].

Panunzio i wsp. przedstawili metaanalizę prospektywnych badań, która wykazała statystycznie istotną poprawę w odczuwaniu bólu po wstrzyknięciu toksyny botulinowej w struktury miednicy, w porównaniu z wartościami wyjściowymi dla CPPS, we wszystkich ocenianych kohortach. W badaniu na spektrum CPPS składały się: 1. Bladder Pain Syndrome/Interstitial Cystitis, Prostate Pain Syndrome/Chronic Prostatitis, Chronic Scrotal Pain, Gynecological Pelvic Pain, Myofascial Pelvic Pain [33].

Leczenie pacjentów z CPPS jest trudne ze względu na cały wachlarz przyczyn oraz struktur, które potencjalnie mogą odpowiadać za dolegliwości bólowe umiejscowione w miednicy mniejszej. Mimo, że wiele badań wskazuje na znaczną poprawę w zakresie odczuwanych dolegliwości bólowych, seksualnych oraz ze strony układu moczowego po zastosowaniu iniekcji z BTX-A podawanych w struktury miednicy przy niskim odsetku powikłań, to ich jakość i siła jest zbyt niska i niejednoznaczna, aby przedstawić konkretne zalecenia [33].

3. Podsumowanie

Jak się okazuje, toksyna botulinowa nie tylko powoduje porażenie mięśni, ale poprzez liczne dodatkowe mechanizmy ma działanie neuromodulujące, przeciwbólowe oraz przeciwzapalne. Urologia wykorzystuje całe spektrum możliwości jakie daje BoNT od miokrelaksacji w zespole nadreaktywności pęcherza moczowego, przez neuromodulację i wywoływanie apoptozy w łagodnym przeroście gruczołu krokowego, kończąc na właściwościach przeciwzapalnych i przeciwbólowych w zespole bólowym pęcherza moczowego oraz przewlekłym zespole bólowym miednicy mniejszej. Na fakt, że wykorzystanie toksyny botulinowej w urologii pojawiło się niedawno, wskazuje mała liczba badań wysokiej jakości, które ugruntowałyby pozycję BoNT w świecie urologii i umieściły ją w wytycznych dla kolejnych schorzeń. Należy mieć nadzieję, że w najbliższym czasie się to zmieni.

Contribution of authors:

J. Szwed - study concept and design; critical revision of the manuscript for important intellectual content; study supervision;

M. Szwed - acquisition of data; analysis and interpretation of data; technical support;

W. Szwed - acquisition of data; analysis and interpretation of data; technical support;

N. Miga - acquisition of data; analysis and interpretation of data; technical support.

Disclosures:

Financial support: No financial support was received.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

List of references

1. Aoki KR, Guyer B. Botulinum toxin type A and other botulinum toxin serotypes: a comparative review of biochemical and pharmacological actions. *Eur J Neurol* 2001;8:21-9
2. Kuo HC. Individualizing medical treatment of overactive bladder. *Ci Ji Yi Xue Za Zhi* 2018;30:195-9.
3. Gormley EA, Lightner DJ, Faraday M, Vasavada SP; American Urological Association; Society of Urodynamics, Female Pelvic Medicine. Diagnosis and treatment of overactive bladder (nonneurogenic) in adults: AUA/SUFU guideline amendment. *J Urol* 2015;193:1572-80.
4. Nambiar AK, Bosch R, Cruz F, Lemack GE, Thiruchelvam N, Tubaro A, et al. EAU Guidelines on assessment and nonsurgical management of urinary incontinence. *Eur Urol* 2018;73: 596-609.
5. Yoshida M, Miyamae K, Iwashita H, Otani M, Inadome A. Management of detrusor dysfunction in the elderly: changes in acetylcholine and adenosine triphosphate release during aging. *Urology* 2004;63(3 Suppl 1):17-23.
6. Avelino A, Cruz C, Nagy I, Cruz F. Vanilloid receptor 1 expression in the rat urinary tract. *Neuroscience* 2002;109:787-98.
7. Liu HT, Chancellor MB, Kuo HC. Urinary growth factor levels are elevated in patients with detrusor overactivity and decreased in responders to detrusor botulinum toxin-A injection. *Eur Urol* 2009;56:700-6

8. Apostolidis A, Gasgupta P, Fowler CJ. Proposed mechanism for the efficacy of injected botulinum toxin in the treatment of human detrusor overactivity. *Eur Urol* 2006;49:664-50
9. Lawrence GW, Aoki KR, Dolly JO. Excitatory cholinergic and purinergic signaling in bladder are equally susceptible to botulinum neurotoxin a consistent with co-release of transmitters from efferent fibers. *J Pharmacol Exp Ther* 2010;334:1080-6.
10. Sahai A, Khan MS, Dasgupta P. Efficacy of botulinum toxinA for treating idiopathic detrusor overactivity: results from a single center, randomized, double-blind, placebo controlled trial. *J Urol* 2007;177:2231-6.
11. Kuo HC. Will suburothelial injection of small dose of botulinum A toxin have similar therapeutic effects and less adverse events for refractory detrusor overactivity? *Urology* 2006;S40 68:993-7; discussion 997-8.
12. Werner M, Schmid DM, Schüssler B. Efficacy of botulinum-A toxin in the treatment of detrusor overactivity incontinence: a prospective nonrandomized study. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:1735-40.
13. Mangera A, Apostolidis A, Andersson KE, Dasgupta P, Giannantoni A, Roehrborn C, et al. An updated systematic review and statistical comparison of standardised mean out comes for the use of botulinum toxin in the management of lower urinary tract disorders. *Eur Urol* 2014;65:981-90.
14. Hsu YC, Wang HJ, Chuang YC. Intraprostatic Botulinum Neurotoxin Type A Injection for Benign Prostatic Hyperplasia-A Spotlight in Reality. *Toxins (Basel)*. 2016 Apr 26;8(5):126. doi: 10.3390/toxins8050126.
15. Teymoortash, A.; Sommer, F.; Mandic, R.; Schulz, S.; Bette, M.; Aumuller, G. Intraglandular application of botulinum toxin leads to structural and functional changes in rat acinar cells. *Br. J. Pharmacol.* 2007, *152*, 161–167.
16. Lepor, H. The pathophysiology of lower urinary tract symptoms in the ageing male population. *Br. J. Urol.* 1998, *81*, 29–33.
17. Pennefather, J.N.; Lau, W.A.; Mitchelson, F.; Ventura, S. The autonomic and sensory innervation of the smooth muscle of the prostate gland: A review of pharmacological and histological studies. *J. Auton Pharmacol.* 2000, *20*, 193–206.
18. Marinese, D.; Patel, R.; Walden, P.D. Mechanistic investigation of the adrenergic induction of ventral prostate hyperplasia in mice. *Prostate* 2003, *54*, 230–237.

19. Shim, S.R.; Cho, Y.J.; Shin, I.S.; Kim, J.H. Efficacy and safety of botulinum toxin injection for benign prostatic hyperplasia: A systematic review and meta-analysis. *Int. Urol. Nephrol.* 2015, *48*, 19–30.
20. Ke QS, Kuo HC. Pathophysiology of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Tzu Chi Med J* 2015;27:139-44.
21. Shie JH, Liu HT, Kuo HC. Increased cell apoptosis of urothelium mediated by inflammation in interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Urology* 2012;79:484.e7-13.
22. Shie JH, Kuo HC. Higher levels of cell apoptosis and abnormal E-cadherin expression in the urothelium are associated with inflammation in patients with interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *BJU Int* 2011;108(2 Pt 2):E136-41.
23. Kuo HC, Chancellor MB. Comparison of intravesical botulinum toxin type A injections plus hydrodistention with hydrodistention alone for the treatment of refractory interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *BJU Int* 2009;104:657-61.
24. Li WW, Guo TZ, Liang DY, Sun Y, Kingery WS, Clark JD. Substance P signaling controls mast cell activation, degranulation, and nociceptive sensitization in a rat fracture model of complex regional pain syndrome. *Anesthesiology* 2012;116:882-95.
25. Rong W, Spyer KM, Burnstock G. Activation and sensitisation of low and high threshold afferent fibres mediated by P2X receptors in the mouse urinary bladder. *J Physiol* 2002;541(Pt 2):591-600.
26. Homma Y, Nomiya A, Tagaya M, Oyama T, Takagaki K, Nishimatsu H, et al. Increased mRNA expression of genes involved in pronociceptive inflammatory reactions in bladder tissue of interstitial cystitis. *J Urol* 2013;190:1925-31.
27. Shea VK, Cai R, Crepps B, Mason JL, Perl ER. Sensory fibers of the pelvic nerve innervating the Rat's urinary bladder. *J Neurophysiol* 2000;84:1924-33.
28. Smith CP, Radziszewski P, Borkowski A, Somogyi GT, Boone TB, Chancellor MB. Botulinum toxin a has antinociceptive effects in treating interstitial cystitis. *Urology* 2004;64:871-5; discussion 875.
29. Giannantoni A, Costantini E, Di Stasi SM, Tascini MC, Bini V, Porena M. Botulinum A toxin intravesical injections in the treatment of painful bladder syndrome: a pilot study. *Eur Urol* 2006;49:704-9.
30. Kuo HC, Jiang YH, Tsai YC, Kuo YC. Intravesical botulinum toxin-A injections reduce bladder pain of interstitial cystitis/bladder pain syndrome refractory to

conventional treatment - a prospective, multicenter, randomized, double-blind, placebocontrolled clinical trial. *Neurourol Urodyn* 2016;35:609-14.

31.Engeler, D.S.; Baranowski, A.P.; Dinis-Oliveira, P.; Elneil, S.; Hughes, J.; Messelink, E.J.; van Ophoven, A.; Williams, A. EAU guidelines on chronic pelvic pain. *Eur. Urol.* 2018, *18*, 1–82.

32.Belanger, G.V.; VerLee, G.T. Diagnosis and surgical management of male pelvic, inguinal, and testicular pain. *Surg. Clin. N. Am.* 2016, *96*, 593–613.

33.Panunzio A, Tafuri A, Mazzucato G, Cerrato C, Orlando R, Pagliarulo V, Antonelli A, Cerruto MA. Botulinum Toxin-A Injection in Chronic Pelvic Pain Syndrome Treatment: A Systematic Review and Pooled Meta-Analysis. *Toxins (Basel)*. 2022 Jan 1;14(1):25. doi: 10.3390/toxins14010025.