

IV CONGRESSO NAZIONALE



Marco Paoletta

Year in Pain: best of scientific reports on musculoskeletal pain in 2022

Fisiopatologia

Centro Congressi Unione Industriali

TORINO 11-13 MAGGIO 2023



PAIN[®]

Autoantibodies from patients with complex regional pain syndrome induce pro-inflammatory effects and functional disturbances on endothelial cells in vitro

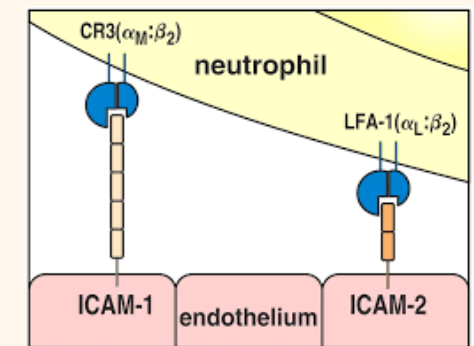
Backialakshmi Dharmalingam^{a,b}, Pratibha Singh^{a,c}, Patrick Schramm^a, Frank Birklein^d, Manfred Kaps^a, Katrin Susanne Lips^e, Gabor Szalay^f, Franz Blaes^{a,g}, Marlene Tschernatsch^{a,*}

- La CRPS si caratterizza di sintomi che includono oltre al dolore, la disfunzione sensomotoria, modifiche autonome e trofiche, come edema e compromissione della termoregolazione e del flusso sanguigno
- Sono stati già identificati autoanticorpi diretti contro i recettori del sistema nervoso autonomo: recettore muscarinico M2 (M2R), recettore adrenergico β 2 (h β 2AR) e recettore alfa noradrenergico.
- Obiettivo dello studio è di studiare gli effetti degli autoanticorpi di pazienti con CRPS diretti contro h β 2AR e M2R sulle cellule endoteliali in vitro



MATERIALI E METODI

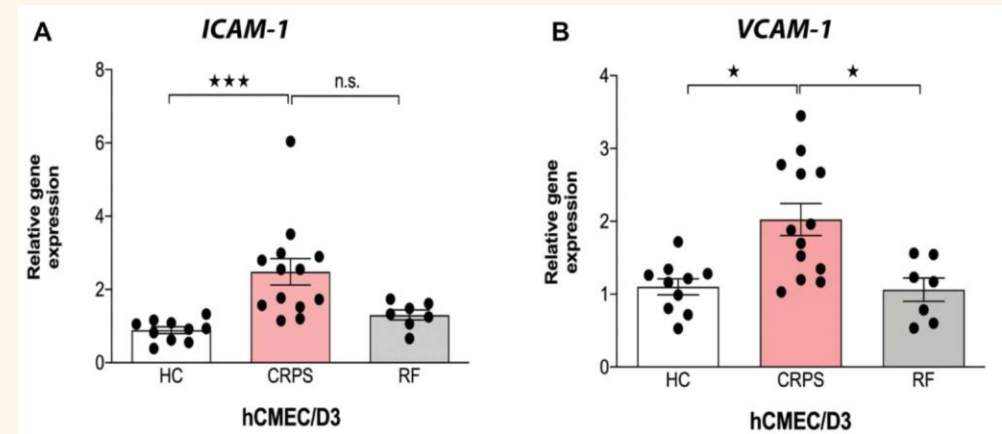
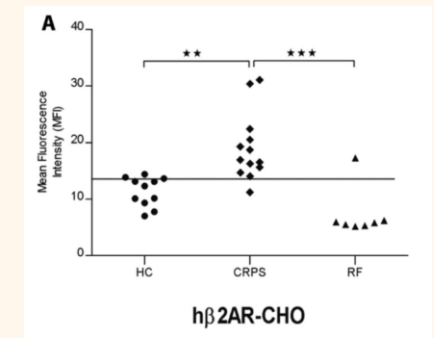
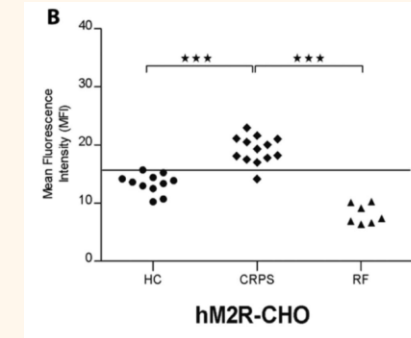
- Il siero è stato ottenuto da 13 pazienti con CRPS (7 donne e 6 uomini, età media $49,0 \pm 16,1$ anni) secondo i criteri IASP
- I controlli erano sierici di 11 soggetti sani (6 donne e 5 uomini, età media $51,5 \pm 7,7$ anni), 7 pazienti con frattura del radio (4 donne e 3 uomini, età media $50,5 \pm 9,9$ anni) e 10 pazienti con arteriopatia periferica (5 uomini e 5 donne, $53,3 \pm 5,9$ anni)
- Cellule ovariche di criceto cinese (CHO) trasfettate con i recettori sono state usate per valutare la specificità di legame delle frazioni di IgG
- Sono stati eseguiti saggi di proliferazione e citotossicità valutando se gli autoanticorpi prelevati erano in grado di influenzare la vitalità delle cellule endoteliali.
- Successivamente, sono stati valutati gli effetti degli autoanticorpi sulle diverse vie intracellulari, in particolare la via MAPK, e l'espressione delle proteine di superficie ICAM-1 e VCAM-1, che sono espresse sulle cellule endoteliali attivate dopo disfunzione o infiammazione con effetti citotossici





RISULTATI

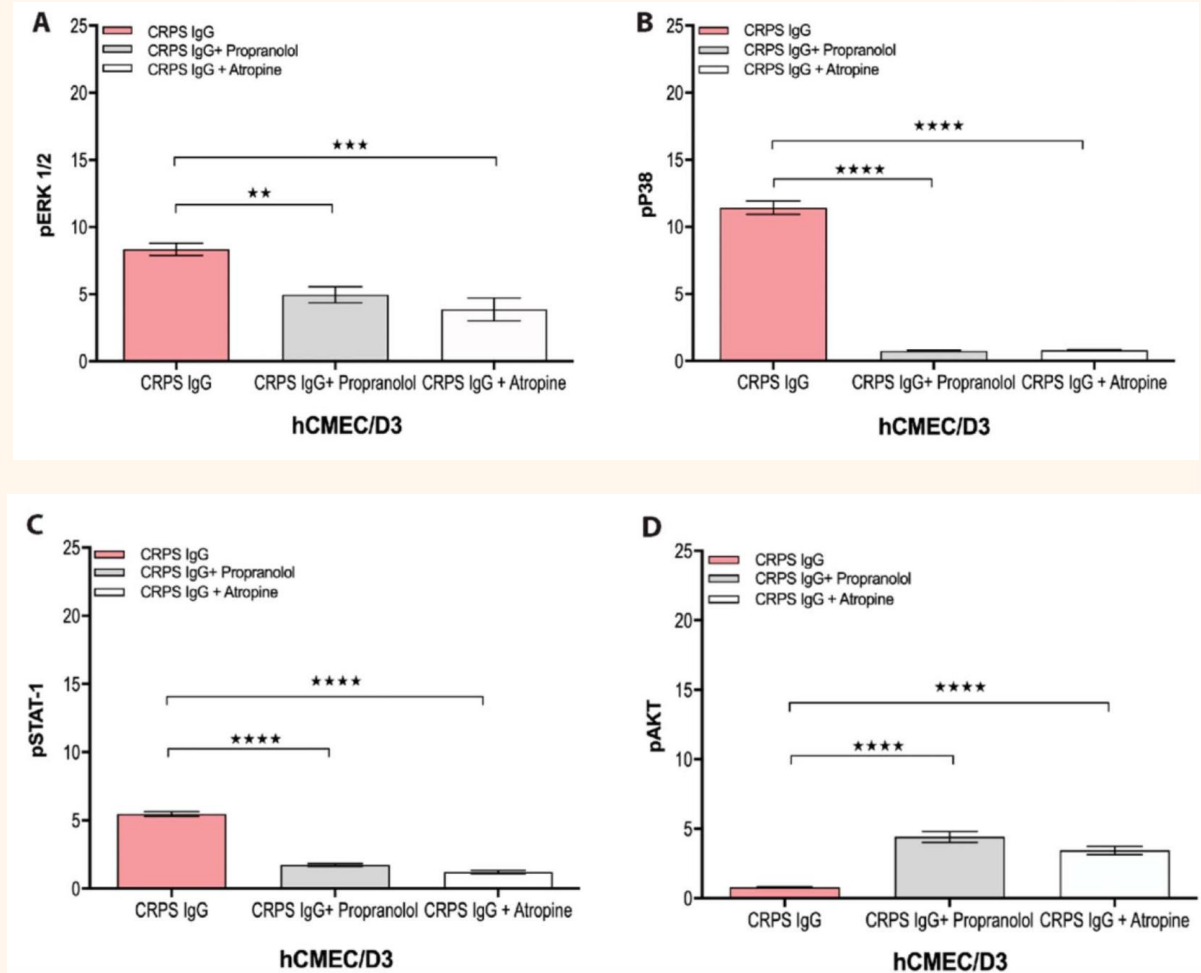
- Le CRPS-IgG, ma non le IgG dei pazienti con RF o HC, hanno mostrato un legame specifico con hβ2AR e hM2R
- L'incubazione di cellule hCMEC/D3 con CRPS-IgG ha indotto un effetto citotossico significativamente più elevato rispetto a HC-IgG e RF-IgG (CRPS $14,9 \pm 5,64$ vs HC $1,49 \pm 3,87$ vs RF $-12,81 \pm 2,71$, $P < 0,001$)
- Le cellule hCMEC/D3 stimulate da CRPS-IgG hanno mostrato una sovraregolazione di ICAM-1 ($P < 0,001$) e VCAM-1 a livello di mRNA ($P < 0,05$) rispetto ai controlli
- Le cellule hCMEC/D3 stimulate da CRPS-IgG hanno promosso un marcato aumento da 3 a 4 volte della fosforilazione di ERK1/2 rispetto alle cellule stimulate con HC-IgG ($P < 0,001$,)





RISULTATI

- Inoltre, sono stati analizzati se questi effetti sui marcatori infiammatori possono essere invertiti utilizzando i rispettivi antagonisti.
- Il trattamento di hCMEC/D3 con β 2AR antagonisti (1 μ M propranololo cloridrato) o M2R antagonista (1 μ M atropina) ha ridotto l'effetto della fosforilazione di pERK1/2 ($P < 0,001$), fosfo-p38 ($P < 0,0001$), pSTAT-1 ($P < 0,0001$) e pAKT ($P < 0,0001$).
- I pazienti con CRPS sviluppano autoanticorpi IgG diretti che non sono rilevabili nei sieri di HC o pazienti con fratture radiali o malattie vascolari.
- Tali riscontri potrebbero porre le basi per nuovi approcci di management dei pazienti con CRPS





Satellite glial cells drive the transition from acute to chronic pain in a rat model of hyperalgesic priming

Junying Du[†], Min Yi[†], Danning Xi[†], Sisi Wang, Boyi Liu, Xiaomei Shao, Yi Liang, Xiaofen He, Jianqiao Fang* and Junfan Fang*

- La proteina chinasi C epsilon (PKC ϵ) è stata identificata come la molecola chiave coinvolta nel fenomeno della cronicizzazione del dolore e la sua attivazione nei neuroni del ganglio della radice dorsale (DRG) induce la transizione dal dolore acuto al dolore cronico
- L'attivazione delle cellule satelliti durante o dopo un danno ai nervi o un'inflammatione periferica contribuisce al dolore con rilascio di sostanze bioattive, tra cui ATP, glutammato, citochine e chemochine come il fattore di necrosi tumorale (TNF), IL-1 β e CCL2
- Tuttavia, non è ancora chiaro se le cellule non neuronali nel SNP siano coinvolte nella transizione del dolore e nell'attivazione di PKC ϵ .



MATERIALI E METODI

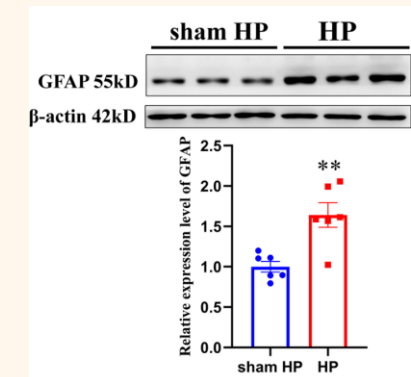
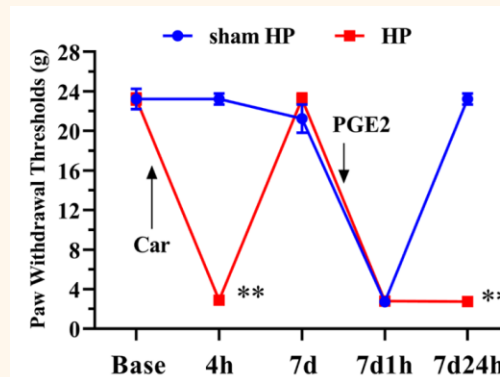
- I ratti sono stati trattati con sostanze iperalgiche (l'Hyperalgesic priming, HP) mediante l'iniezione intraplantare di 100 μ l di Car seguita dall'iniezione di 25 μ l di PGE2 a 7 giorni di distanza
- Nel gruppo sham HP, invece di Car, è stato somministrato lo stesso volume di soluzione fisiologica normale (NS, 0,9% NaCl).
- La soglia nocicettiva è stata quantificata prima della prima iniezione, 4 ore e 7 giorni dopo la prima iniezione e 1 e 24 ore dopo la seconda iniezione.
- Le soglie di ritiro della zampa (PWT) sono state testate utilizzando filamenti di von Frey



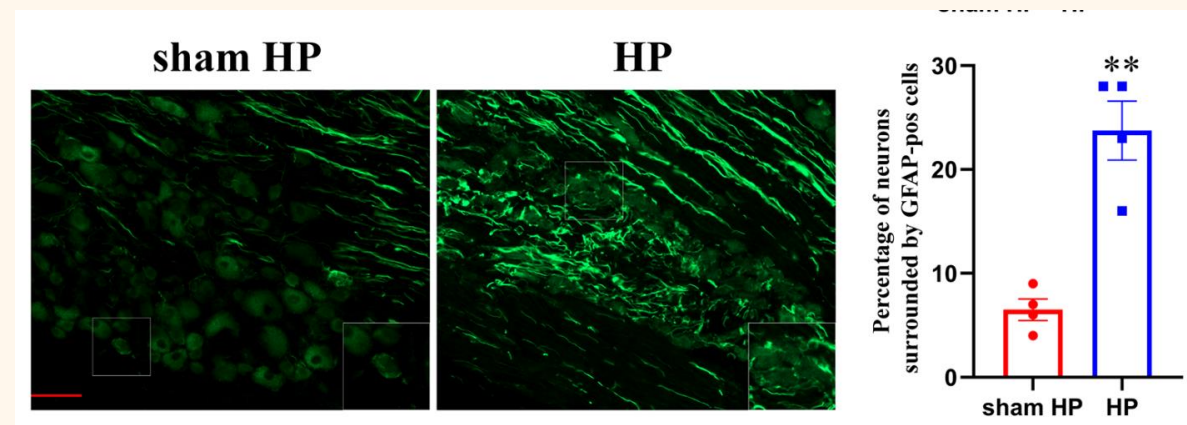
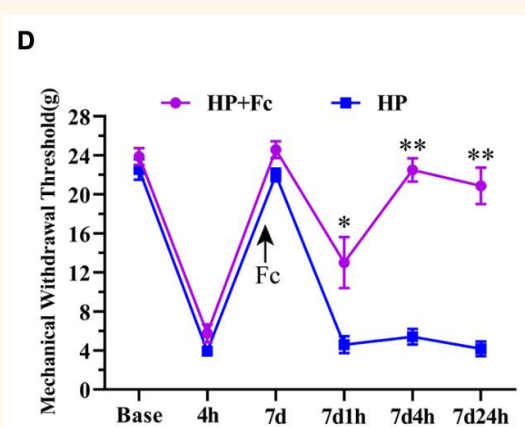
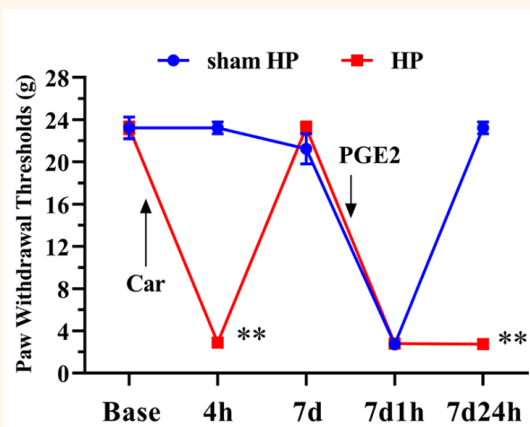


RISULTATI

- L'iniezione intraplantare di Car/PGE2 ha provocato un'iperalgisia meccanica di lunga durata e una iperespressione GFAP nel DRG
- Per determinare il ruolo delle SCG è stata valutata la loro attivazione dopo il trattamento con fluorocitrato (Fc) sui ratti modello HP.
- L'iniezione di Fc (2 nmol, tre volte) nel DRG L5 omolaterale prima dell'iniezione di PGE2 ha attenuato significativamente l'iperalgisia di lunga durata indotta da Car/PGE2



Western blot dopo l'iniezione di PGE2

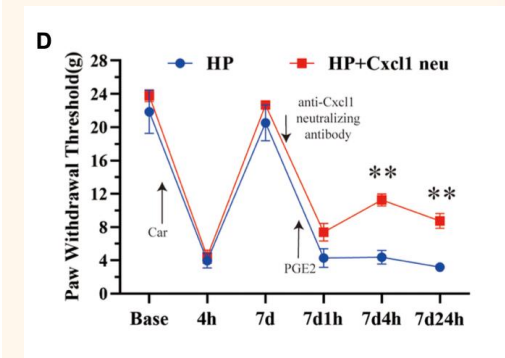
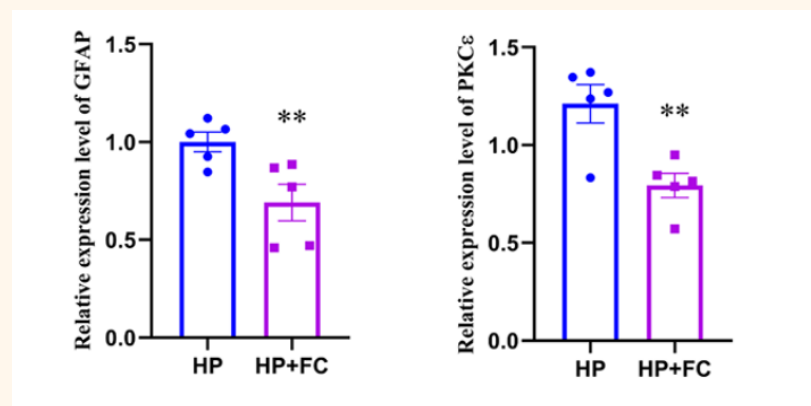
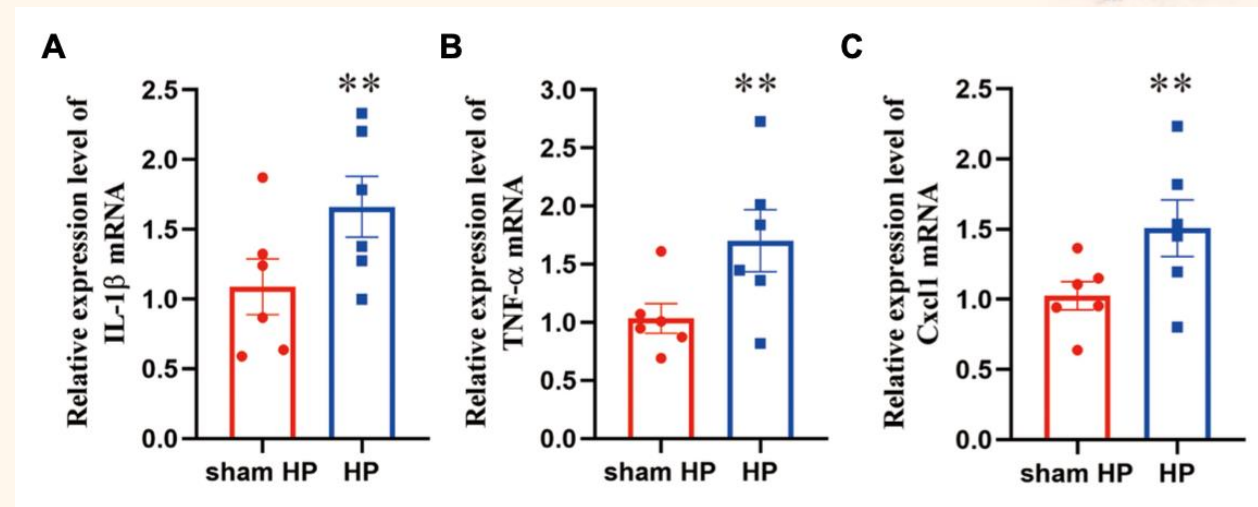


Neuroni circondati da SGC positivi per GFAP nel DRG L4-L5



RISULTATI

- L'iniezione di Fc nel DRG prima dell'iniezione intraplantare di PGE2 ha ridotto significativamente l'espressione di GFAP e dell'attivazione di PKCε
- Si evidenzia una sovraregolazione di IL-1β (A), TNF-α (B) e CXCL1 (C)
- L'iniezione di anticorpi anti-CXCL1 nel DRG L5 prima dell'iniezione di PGE2 ha aumentato le soglie del dolore dei ratti a 4 e 24 ore ma non 1 ora dopo l'iniezione di PGE2
- La chemochina CXCL1 pertanto sembra dare un contributo fondamentale alla transizione al dolore cronico fornendo un nuovo possibile target terapeutico per prevenire la cronicizzazione del dolore.





BRAIN
ORIGINAL ARTICLE



Genome-wide analysis identifies impaired axonogenesis in chronic overlapping pain conditions

- Almeno un terzo dei pazienti con dolore cronico presentato spesso altri sintomi dolorosi configurando la cosiddetta *chronic overlapping pain conditions* (COPC),
- Tale condizione suggerisce che la presenza di dolore *multisite* potrebbero avere da un'un'eziologia comune
- L'alterato network cerebrale sembra contribuire alla sensibilizzazione centrale e i sintomi concomitanti includendo affaticamento, disturbi dell'umore e disturbi cognitivi, disturbi del sonno e ipersensibilità.
- In questo studio, è stata effettuata una genome-wide analysis per comprendere le possibili basi genetiche della manifestazione del dolore cronico *one-site* rispetto al *multisite*



MATERIALI E METODI

- I partecipanti avevano un'età compresa tra 40 e 69 anni
- Le condizioni di dolore cronico sono state valutate in 502599 individui
- I partecipanti dovevano riferire la presenza di dolore nelle diverse regioni corporee e l'eventuale uso di farmaci
- Per ogni sito di dolore selezionato, ai partecipanti è stato chiesto se quel dolore era presenta da più di 3 mesi
- 404381 partecipanti sono stati sottoposti a genotipizzazione e sono stati presi in considerazione per l'analisi
340.547 partecipanti

	Controls	One-site	Multisite	P-value
Number of participants (n)	163771	93964	82812	
Females (%)	52.4%	54.2%	60.7%	<0.0001
Age (mean)	56.78	56.67	56.98	<0.0001
BMI (mean)	26.70	27.67	28.66	<0.0001
Current smoking status (%)	8.8%	10.8%	13.6%	<0.0001
Townsend deprivation index (mean)	-1.60	-1.32	-0.80	<0.0001
Number of self-reported cancers (mean)	0.09	0.09	0.1	<0.0001
Number of self-reported non-cancer illnesses (mean)	1.44	1.94	2.83	<0.0001
Medication for pain relief (%)				
Paracetamol	12.7%	30.6%	49.5%	<0.0001
Ibuprofen	8.8%	22.5%	29.5%	<0.0001
Aspirin	14.3%	17.3%	21.3%	<0.0001
Depressed mood last 2 weeks (%)				
Severe days	12.9%	18.9%	25.6%	<0.0001
More than half the days	1.6%	3.0%	5.5%	<0.0001
Nearly every day	0.9%	1.7%	4.4%	<0.0001
Number of depression episodes (mean)	2.44	2.78	3.21	<0.0001
Neuroticism score (mean)	3.35	4.32	5.41	<0.0001



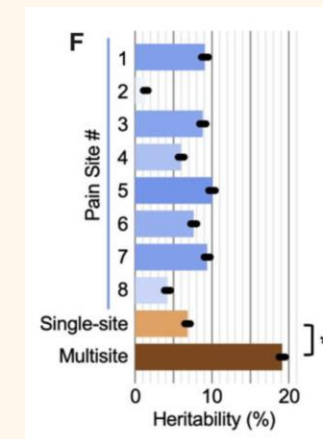
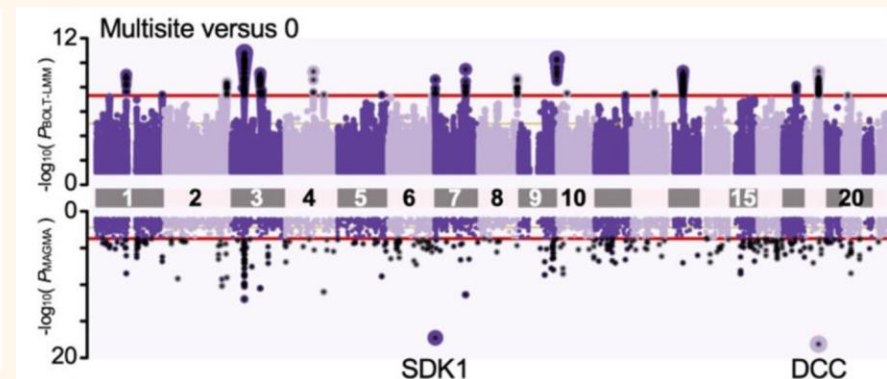
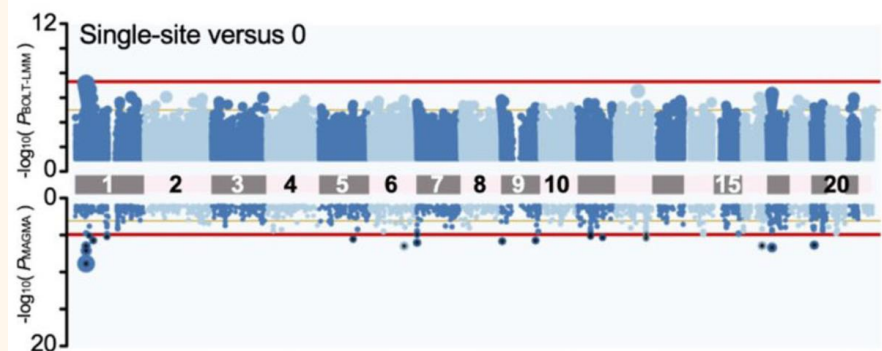
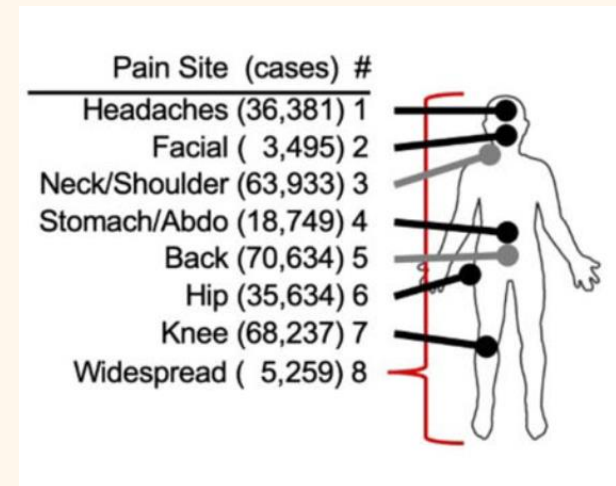
RISULTATI

La prevalenza più alta riportata è stata per dolori alla schiena (26%) e al collo/spalle (23%).

Sono stati individuati 896 SNP che coprivano 23 loci che superavano la soglia dell'intero genoma

Le due principali associazioni erano con i geni coinvolti nella connettività neuronale:

- DCC che codifica il recettore DCC per netrina1 ($P = 7,4 \cdot 10^{-19}$)
- SDK1 che codifica per la molecola di adesione cellulare sidekick 1 ($P = 5,4 \cdot 10^{-18}$;

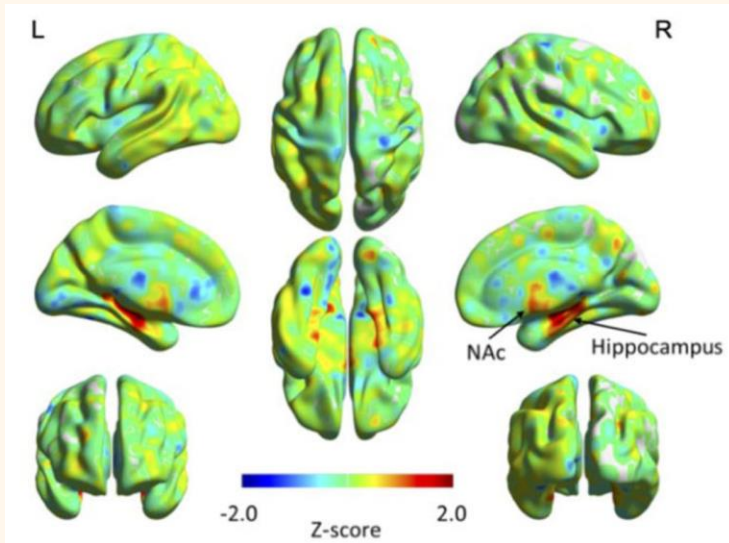




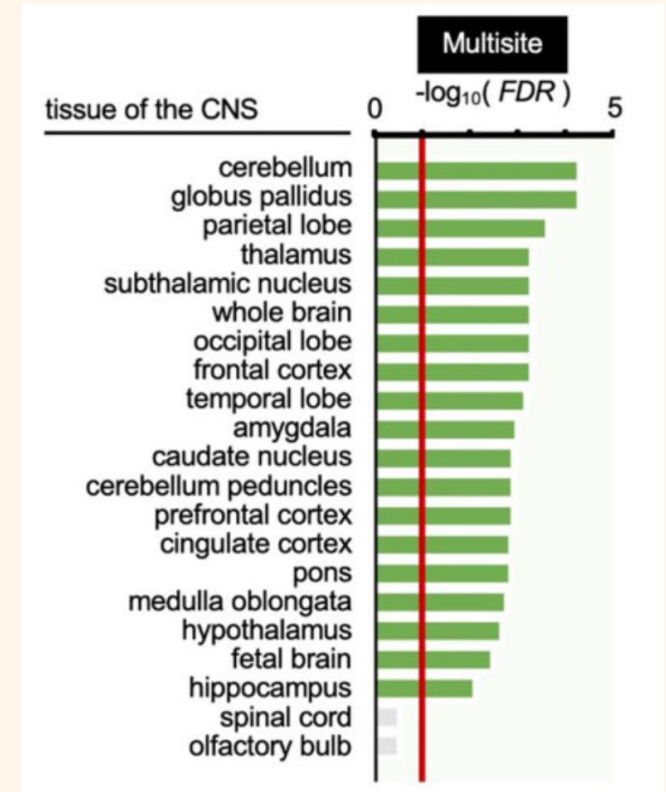
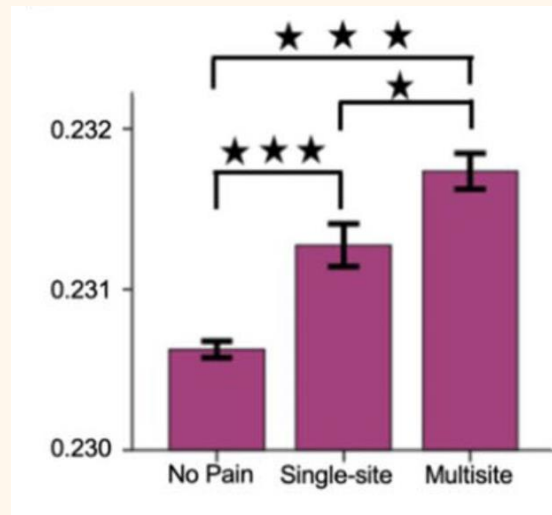
RISULTATI

L'analisi genetica ha evidenziato un ruolo significativo del gene DCC, gene che interviene nell'assonogenesi, nello sviluppo del dolore cronico multisite

L'analisi di imaging cerebrale ha mostrato che il DCC è più fortemente espresso nelle regioni limbiche subcorticali ed è associato ad alterazioni nella microstruttura del fascicolo uncinato, suggerendo che l'assonogenesi dipendente dal DCC può contribuire a condizioni di dolore cronico tramite circuiti corticolimbici.



Espressione cerebrale di DCC calcolata dall'Allen Brain Atlas





PAIN[®]

Unbiased immune profiling reveals a natural killer cell-peripheral nerve axis in fibromyalgia

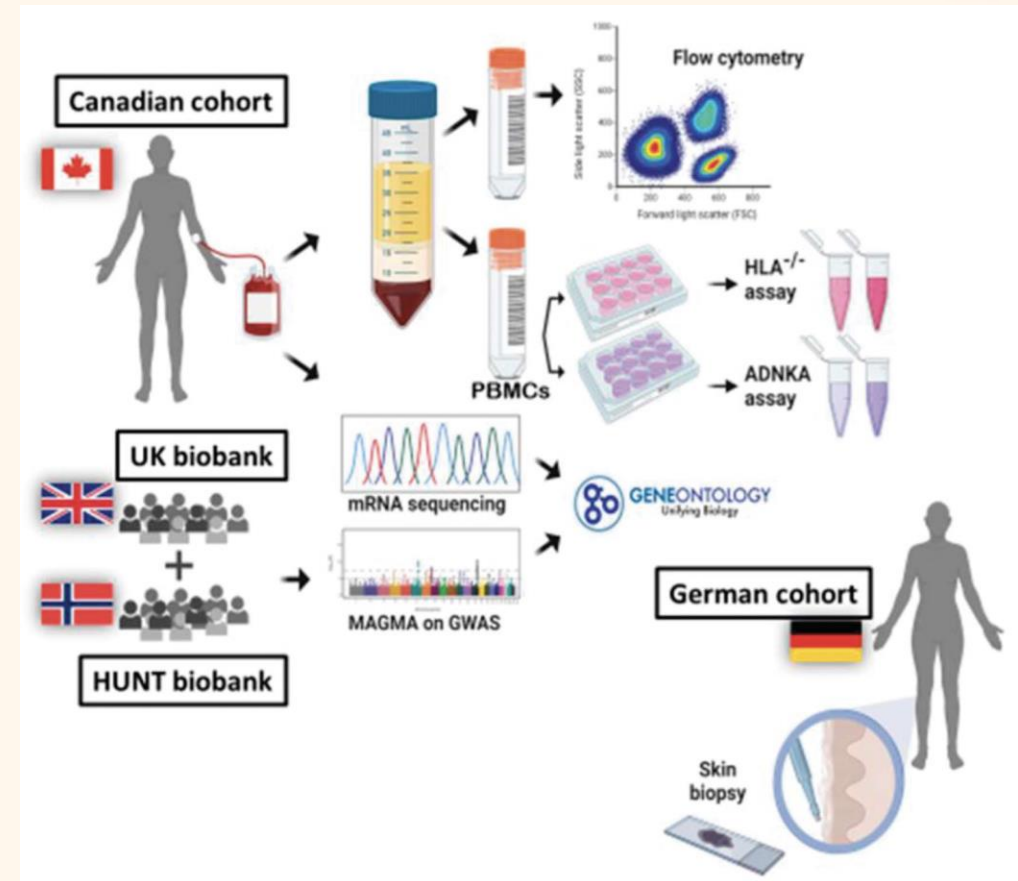
Vivek Verma^{a,b}, Gillian L. Drury^a, Marc Parisien^a, Ayşe N. Özdağ Acarli^{c,d}, Tho-Alfakar Al-Aubodah^{e,f}, Anastasia Nijnik^{g,h}, Xia wen^a, Nicol Tugarinov^a, Maria Vernerⁱ, Richie Klares III^a, Alexander Linton^a, Emerson Krock^j, Carlos E. Morado Urbina^l, Bendik Winsvold^{k,l,m}, Lars G. Fritscheⁿ, Egil A. Fors^o, HUNT-All In Pain, Ciriaco Piccirillo^{e,f}, Arkady Khoutorsky^{a,i,p}, Camilla I. Svensson^j, Mary A. Fitzcharles^{a,q}, Pablo M. Ingelmo^{a,p}, Nicole F. Bernard^{f,r}, Franck P. Dupuy^f, Nurcan Üçeyler^d, Claudia Sommer^d, Irah L. King^{e,s}, Carolina B. Meloto^{a,i}, Luda Diatchenko^{a,i,p,*}

- La sindrome fibromialgica (FMS) è una comune condizione di dolore cronico primario caratterizzata dalla presenza di affaticamento, disturbi del sonno, depressione e difficoltà cognitive
- La incompleta conoscenza dell'eziologia e della patogenesi della FMS limita il trattamento eziologico
- Modifiche sia al sistema nervoso centrale, con alterata modulazione delle vie del dolore discendente, che quello periferico, con aumento della demielinizzazione dei nervi periferici, la diminuzione delle fibre nervose dermiche e intraepidermiche sono caratteristiche di questa sindrome
- Scopo dello studio è stato di identificare le differenze immunofenotipiche tra individui con e senza FMS



MATERIALI E METODI

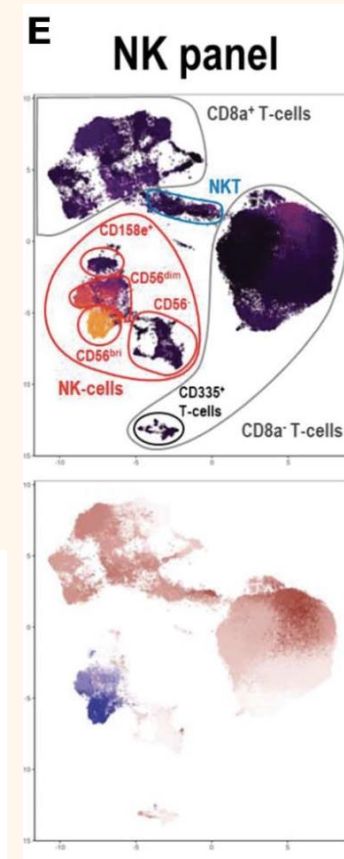
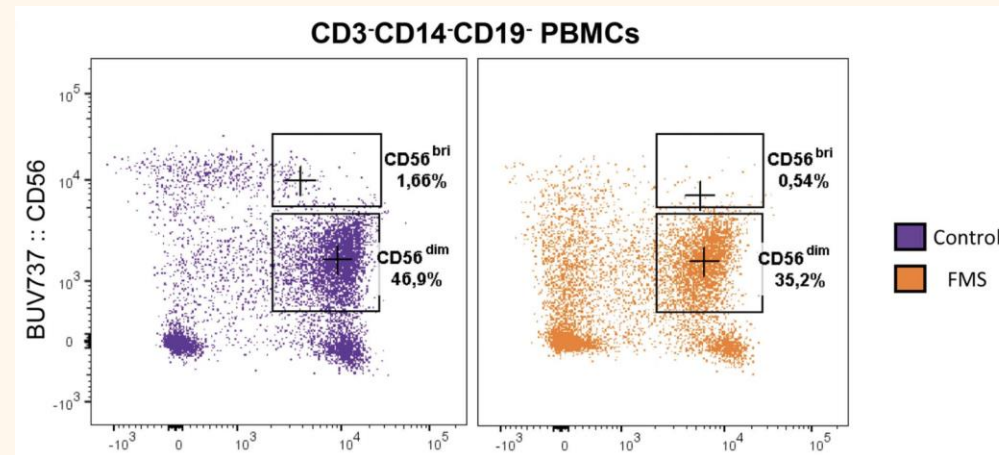
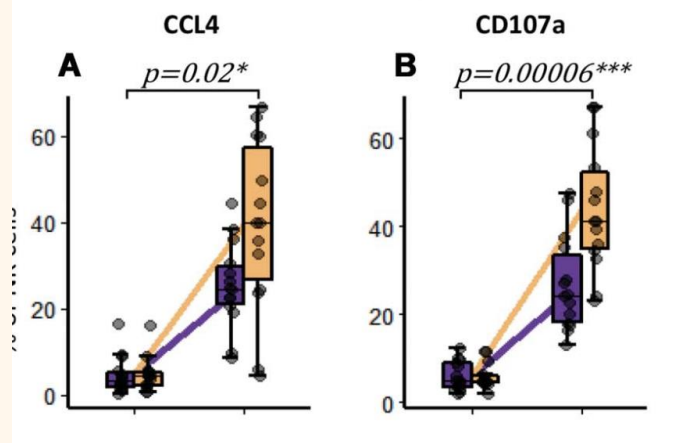
- 44 pazienti con FMS e 46 controlli sono stati arruolati nello studio
- Diagnosi di FMS basata sui criteri diagnostici 2010 dell'ACR
- Un campione di PBMC crioconservata è stata suddivisa in 3 per valutare la produzione di citochine ("cyto panel"), l'espressione del recettore delle chemochine ("chemo panel") e le cellule T regolatorie o Treg ("Pannello Treg").
- Un'altro campione è stata diviso in 2 per la colorazione di cellule B, monociti e cellule dendritiche o DC ("pannello BMD") e cellule NK ("pannello NK")
- Le biopsie della pelle (6 mm) sono state ottenute dalla parte inferiore della gamba laterale destra e dalla parte superiore della coscia dei partecipanti alla coorte tedesca.





RISULTATI

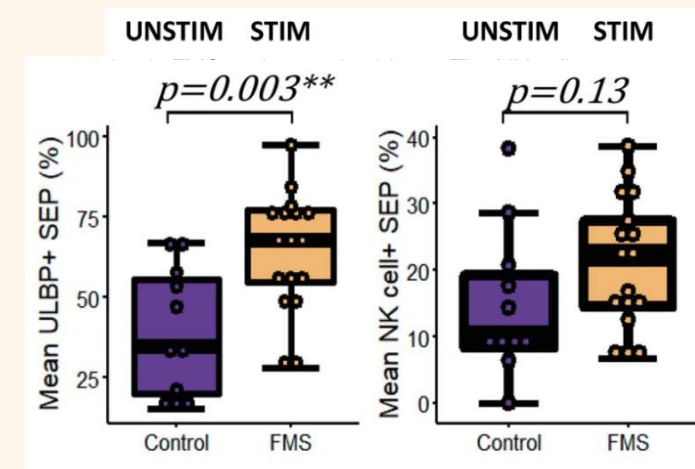
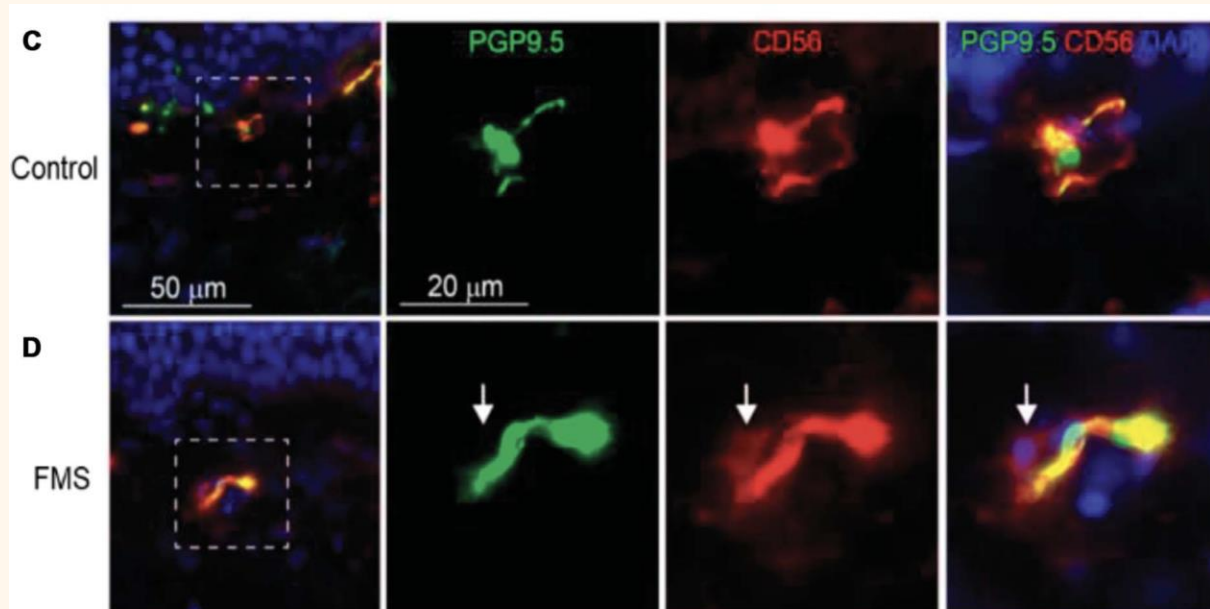
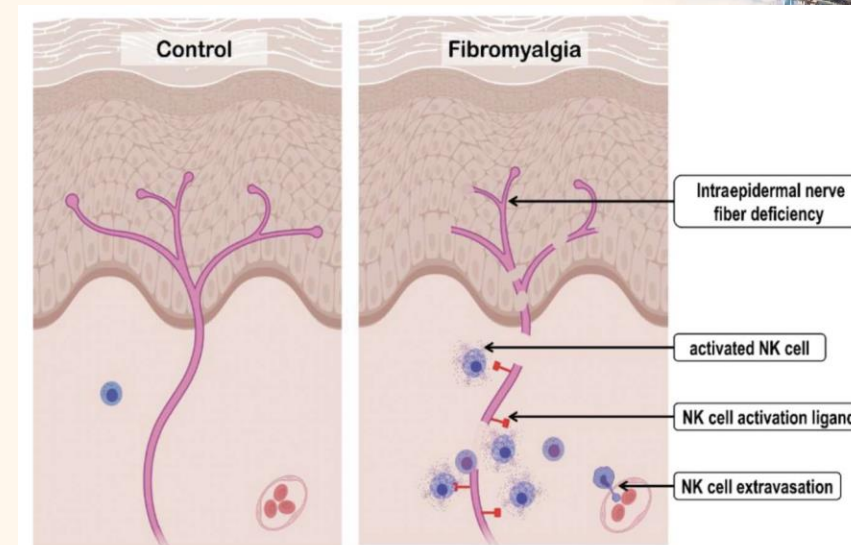
- I pazienti con FMS avevano punteggi del dolore significativamente più alti con una probabilità 2,9 volte maggiore di soffrire di mal di testa (valore P: 0,023), 4,5 volte maggiore di soffrire di crampi addominali (valore P: 0,0008) e 5,3 volte maggiore di soffrire di depressione (valore P: 0,0005).
- Tra tutti i PBMC studiati, le cellule NK erano maggiormente in grado di differenziare casi e controlli FMS (valore P < 10⁻²⁴). Nello specifico, c'erano significativamente meno cellule NK CD56^{bri} circolanti nei pazienti con FMS, suggerendo una maggiore distribuzione tissutale
- Le cellule NK presentavano un aumento significativo di CCL41 (b 5 13,98, valore P 5 0,02) e CD107a1 (b 5 17,04, valore P 5 0,0006), rispetto ai controlli.





RISULTATI

- Significativa attivazione in più segmenti SEP ULBP1 nei pazienti con FMS (P-value 5 0.003).
- Tale maggiore attivazione delle cellule NK sui nervi periferici nei pazienti con FMS potrebbe promuovere lo stravasamento sierico-ematico, il reclutamento e l'attivazione delle cellule NK circolanti con conseguente degenerazione cronica del nervo periferico e persistenza del dolore



Espressione dei marcatori di attivazione NK, CCL4 (A e D), CD107a

IV CONGRESSO NAZIONALE



Marco Paoletta

Year in Pain: best of scientific reports on musculoskeletal pain in 2022

Fisiopatologia

Grazie per l'attenzione

Centro Congressi Unione Industriali

TORINO 11-13 MAGGIO 2023