

PER SAPERNE DI PIÙ

Neuroinfiammazione e immunologia del dolore

Negli ultimi anni sono sempre di più gli studi che hanno evidenziato il coinvolgimento del sistema immunitario nello sviluppo del dolore, in particolare di quello cronico, in virtù di numerose interazioni esistenti tra tale sistema e il sistema nocicettivo: cellule immunitarie intrinseche (neutrofili, macrofagi e mastociti), cellule immunitarie adattative (linfociti B e T) e cellule gliali centrali sembrano, infatti, avere un ruolo determinante nello sviluppo e nel mantenimento dei fenomeni di sensibilizzazione e di cronicizzazione del dolore, come evidenziato nei paragrafi che seguono.

Cellule immunitarie e sensibilizzazione periferica

Neutrofili

Nella fase iniziale dell'infiammazione o della lesione, i neutrofili sono tra le prime cellule immunitarie reclutate nei tessuti localmente danneggiati. La loro migrazione e il rilascio di mediatori infiammatori giocano un ruolo di primo piano nei primi eventi dell'infiammazione: essi, infatti, liberano mediatori dell'infiammazione che sensibilizzano i nocicettori durante la fase acuta della lesione e reclutano altre cellule immunitarie (per esempio, macrofagi e cellule T) nel sito della lesione, inducendole a secernere grandi quantità di fattori proinfiammatori che contribuiscono a iniziare e perpetuare il dolore. Tra i mediatori rilasciati dai neutrofili si ricordano i seguenti.

- Chemochina MCP-1/CCL2 (*Monocyte Chemoattractant Protein 1/chemokine - C-C motif - Ligand 2*), che sensibilizza i nocicettori periferici.
- PGE₂, che stimola i neuroni dei gangli delle radici dorsali a rilasciare neuropeptidi correlati al dolore (per esempio, SP e CGRP) attraverso azione diretta o indiretta.
- IL-18 ha un ruolo centrale nel mantenimento del dolore cronico, dal momento che favorisce la migrazione dei neutrofili: di conseguenza, il numero di neutrofili nel sito della lesione continua a crescere, determinando l'instaurarsi di un circolo vizioso; IL-18, inoltre, controlla l'espressione di altri mediatori coinvolti nella neuroinfiammazione, comportando la sovraregolazione di MCP-1/CCL2 e IL-4 o la sottoregolazione di interferone γ (IFN- γ).
- *Neutrophil Extracellular Traps* (NETs), che inducono iperalgesia agendo sui *Toll-Like Receptors* (TLR4 e TLR9).
- Elastasi dei leucociti (LE), che ha un ruolo nel mantenimento del dolore cronico neuropatico.

Tuttavia i neutrofili svolgono anche un certo ruolo nel mitigare il dolore cronico, dal momento che possono secernere mediatori (per esempio, peptidi oppioidi) che alleviano il dolore e che sopprimono le risposte immunitarie, attraverso, per esempio, l'antigene-1 del macrofago (Mac-1) che inibisce le risposte delle cellule T.

Macrofagi

Nei tessuti periferici i macrofagi partecipano allo sviluppo e al mantenimento del dolore cronico, inducendo l'inizio della sensibilizzazione periferica: infatti, quando si verificano infezioni o

lesioni tissutali, i macrofagi sono indotti a produrre pattern molecolari associati al danno (*Damage-Associated Molecular Pattern*, DAMP) e pattern molecolari associati ai patogeni (*Pathogen-Associated Molecular Pattern*, PAMP). Questi attivano i TLR espressi nei neuroni nocicettivi e regolano l'espressione del fattore di differenziazione mieloide 88 (MyD88), che promuove la via di segnalazione della proteinchinasi, attivata dal mitogeno (*Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK) a livello dei terminali nervosi tramite il fattore nucleare κ B (NF- κ B); allo stesso tempo, MyD88 attiva anche i canali per il sodio nei neuroni sensoriali, aumentando così l'eccitabilità dei nocicettori. Inoltre, i macrofagi associati ai neuroni sensoriali (*sensory Neuron-Associated Macrophages*, sNAMs) inducono ipersensibilità dei neuroni nocicettivi rilasciando mediatori proinfiammatori e reclutando altri leucociti (per esempio, monociti). Dopo una lesione del nervo periferico, si verifica anche l'aggregazione e l'attivazione di sNAMs nei gangli delle radici dorsali. Infine, i macrofagi possono mediare lo sviluppo del dolore neuropatico liberando citochine (per esempio, IL-1 β) e specie reattive dell'ossigeno (*Reactive Oxygen Species*, ROS). Tuttavia, come già si è visto per i leucociti, i macrofagi svolgono anche un ruolo nell'alleviare il dolore cronico e promuovere la risoluzione dello stesso: alcuni studi hanno, infatti, dimostrato che i macrofagi M2 locali rilasciano IL-4, mediando direttamente il rilascio prolungato di peptidi oppioidi e riducendo così il dolore; IL-10, anch'essa prodotta dai macrofagi M2, è un'altra interleuchina in grado di alleviare l'ipersensibilità nocicettiva transitoria. Inoltre, studi hanno dimostrato che i macrofagi potrebbero impedire il passaggio dal dolore infiammatorio acuto a quello persistente. Infine, i macrofagi M2 sono anche in grado di trasferire i mitocondri ai neuroni sensoriali nei gangli delle radici dorsali e di ripristinare la loro fosforilazione ossidativa, riducendo l'eccitabilità dei neuroni sensoriali, contribuendo così alla risoluzione del dolore infiammatorio.

Mastociti

I mastociti esprimono sulla loro superficie recettori per le immunoglobuline E (IgE) (Fc ϵ RI): quando queste ultime si legano a tali recettori, viene attivata la degranulazione, cui fa seguito la secrezione di mediatori proinfiammatori. Tra i mediatori rilasciati dai mastociti si ricordano:

- istamina, che svolge un ruolo dominante nello sviluppo della sensibilizzazione periferica, in quanto aumenta la sensibilità meccanica dei neuroni periferici attraverso l'attivazione dei recettori dell'istamina H1 e dei recettori della capsaicina (TRPV1); può anche indurre il reclutamento di neutrofili e monociti e così promuovere lo sviluppo di iperalgesia;
- serotonina e bradichinina, anche loro coinvolte nello sviluppo di dolore cronico;
- leucotrieni, che possono reclutare neutrofili e promuovere il rilascio di mediatori proinfiammatori;
- tripsina, che sensibilizza i recettori TRPV1, attivando il recettore 2 attivato dalla proteasi (*Protease-Activated Receptor 2*, PAR-2);
- TNF- α , che provoca diminuzione della soglia di stimolazione e induce attivazione anormale dei neuroni della radice dorsale.

Inoltre, la molecola 1 di adesione cellulare dipendente dai mastociti (*Cell Adhesion Molecule 1*, CADM1) e altre sostanze possono indurre la formazione di sinapsi nervose tra mastociti e neuroni, determinando aumentata sensibilità dei mastociti ai segnali rilasciati dai neuroni. Studi recenti hanno riportato che le cellule immunitarie interagiscono tra loro attraverso mediatori dell'infiammazione, come TNF- α , che rilasciato da monociti/macrofagi influenza il rilascio di ulteriore TNF- α dai mastociti.

Tuttavia, in seguito all'attivazione delle cellule T regolatorie, i livelli di Fc ϵ RI sui mastociti risultano ridotti, prevenendone così la degranulazione. Pertanto, ci sono effetti sinergici o antagonisti tra mastociti e altre cellule immunitarie.

Linfociti B

I linfociti B svolgono un ruolo nella sensibilizzazione periferica principalmente attraverso la secrezione di autoanticorpi, che mediano il rilascio di citochine da altre cellule immunitarie e possono portare direttamente ad aumento dell'eccitabilità neuronale. In questo secondo caso (azione diretta), gli anticorpi contro la proteina simile 2 associata alla contactina (CASPR2-Ab) nel canale per il potassio voltaggio-dipendente (*Voltage-Gated potassium Channel*, VGKC) causano diminuzione dell'espressione della subunità Kv1 di VGKC sulla superficie dei gangli delle radici dorsali e aumentata meccanosensibilità delle fibre A δ , che comporta riduzione delle normali correnti iperpolarizzanti, aumento dell'eccitazione del potenziale d'azione, diminuzione della ripolarizzazione e ipereccitabilità dei neuroni nocicettivi. Inoltre, l'attivazione da parte degli immunocomplessi IgG dei recettori per le IgG (Fc γ RI) espressi sulle cellule gangliari della radice dorsale e in sottopopolazioni di neuroni nocicettivi, oltre a causare *up-regulation* dell'espressione stessa di Fc γ RI, provoca il rilascio di calcio intracellulare, apertura del canale TRPC3 (*Canonical Transient Receptor Potential 3*), aumento della depolarizzazione e dell'attività elettrica nei neuroni nocicettivi dei gangli delle radici dorsali.

Linfociti T

Nel sistema nervoso periferico, le cellule T possono essere regolate direttamente dai neuroni sensoriali della radice dorsale e del ganglio trigemino. L'attività immunitaria locale delle cellule T è influenzata dal rilascio di neurotrasmettitori (per esempio, glutammato) e neuropeptidi (per esempio, CGRP) dai neuroni sensoriali. Diversi studi hanno scoperto che, durante una lesione del nervo, le cellule dendritiche attivano le cellule T attraverso la presentazione dell'antigene e ne promuovono la differenziazione in cellule T helper di tipo 1 (Th1). Le cellule Th1 si accumulano e si infiltrano nel sito della lesione e nell'estremità distale del nervo, quindi nei gangli delle radici dorsali, dove secernono IFN- γ , che a sua volta attiva le cellule gliali e avvia il dolore cronico.

Tuttavia, come accennato in precedenza, i macrofagi M2 svolgono un ruolo importante nella risoluzione del dolore cronico: le cellule T che sono state attivate possono produrre citochine (per esempio, IL-10), che promuovono la differenziazione dei macrofagi nella sottopopolazione M2, alleviando indirettamente il dolore cronico. Inoltre, le cellule T hanno anche effetto diretto nell'alleviare il dolore cronico: infatti, analogamente ai macrofagi che possono indurre il rilascio di peptidi oppioidi endogeni, è stato scoperto che alcune cellule T CD4+ sopprimono il dolore nei modelli di disturbo infiammatorio intestinale attraverso il rilascio di encefaline.

Cellule immunitarie e sensibilizzazione centrale

Cellule gliali centrali (microglia)

In risposta a lesioni o infiammazioni dei nervi periferici, la microglia viene attivata da fattori di segnalazione. Ciò porta ad aumento della produzione e del rilascio di neuromodulatori, come TNF- α , IL-1 β , fattore di crescita derivato dal cervello (BDNF), ciclossigenasi (COX) e prostaglandina E₂. Questi neuromodulatori aumentano direttamente o indirettamente l'eccitabilità dei neuroni coinvolti nelle vie di trasmissione nocicettiva e inducono sensibilizzazione centrale. Inoltre, la microglia è anche coinvolta nel mantenimento del dolore cronico. L'attivazione della microglia altera l'omeostasi dei cloruri al di fuori dei neuroni, fenomeno associato all'iperalgia oppioide-indotta. Il dolore cronico causato dalla lesione del nervo perife-

rico potrebbe anche provocare l'attivazione della microglia nel circuito limbico di ricompensa, portando all'interruzione della segnalazione dopaminergica e dei comportamenti di ricompensa nel mesencefalo e così rendendo il dolore cronico associato ad ansia e depressione.

Cellule gliali centrali (astrociti)

Analogamente all'iper-reazione della microglia, gli astrociti subiscono cambiamenti significativi nel fenotipo, nella funzione e nell'espressione genica dopo l'attivazione da parte di fattori di segnalazione rilevanti, in risposta a stimoli periferici (per esempio, danni ai nervi). L'attivazione degli astrociti provoca direttamente o indirettamente elevata espressione di fattori infiammatori, come IL-1 β , TNF- α e IL-6, che promuovono lo sviluppo del dolore cronico. L'attivazione degli astrociti fa perdere anche la capacità di mantenere concentrazioni allo stato stazionario di potassio extracellulare (K⁺) e glutammato, che portano a ipereccitabilità dei neuroni. Inoltre, anche l'interazione tra CXCL2 (*chemokine - C-X-C motif - Ligand 2*) secreta dagli astrociti e CXCR2 (*chemokine - C-X-C motif - Receptor 2*) espresso dai neuroni del midollo spinale contribuisce al dolore neuropatico. Infine, l'espressione di CXCL13 (*chemokine - C-X-C motif - Ligand 13*) nei neuroni del midollo spinale è sovraregolata dopo una lesione del nervo e mantiene il dolore neuropatico attraverso l'attivazione degli astrociti CCR5 (*C-C chemokine Receptor 5*).

Cellule immunitarie periferiche (neutrofili)

I neutrofili svolgono un ruolo importante nel collegare l'infiammazione periferica con l'attivazione immunitaria in diverse regioni del sistema nervoso centrale, in particolare nella corteccia prefrontale. In corso di dolore infiammatorio persistente, l'*up*-regolazione di geni immunitari, come S100A8, S100A9 e LCN2 nella corteccia prefrontale, porta all'infiltrazione dei neutrofili nel sistema nervoso centrale e all'aumento dell'attività neuronale della corteccia prefrontale.

Cellule immunitarie periferiche (mastociti)

Piccole quantità di mastociti si trovano nel cervello normale. Questi mastociti rilasciano molti tipi di mediatori proinfiammatori attraverso processi di degranulazione, causando sensibilizzazione centrale: per esempio, l'istamina, mediatore proinfiammatorio rilasciato dai mastociti, può anche aumentare numero e sensibilità dei neuroni del corno dorsale del midollo spinale. A loro volta, i neuroni sensoriali centrali rilasciano SP, con conseguente ulteriore attivazione dei mastociti.

Cellule immunitarie periferiche (linfociti T)

Quando le barriere ematoencefalica (BEE) ed ematospinale (BES) sono intatte, le cellule immunitarie periferiche non possono entrare nel parenchima cerebrale e nel midollo spinale: solo piccole quantità di cellule e mediatori dell'infiammazione entrano lentamente nelle meningi circostanti attraverso i vasi linfatici meningei. Tuttavia, infiammazioni periferiche e lesioni nervose determinano aumento della permeabilità di queste barriere. In particolare, l'endotelina-1, prodotta dalla microglia e dagli astrociti dopo una lesione del nervo, può aumentare la permeabilità di BEE; microglia e astrociti secernono una varietà di chemochine e citochine che promuovono l'attraversamento di BEE da parte di leucociti periferici (inclusi macrofagi e cellule T): nel sistema nervoso centrale le cellule T producono citochine (per esempio, IFN- γ) che influenzano la sensibilizzazione centrale attivando le cellule gliali centrali, comportando l'entrata in gioco di un circolo vizioso. Inoltre, in condizioni patologiche, le cellule T possono

entrare nel liquido cerebrospinale attraverso la BES, regolando direttamente l'attività dei neuroni nel sistema nervoso centrale.

Cellule immunitarie periferiche (linfociti B)

In condizioni patologiche, le cellule B possono essere attivate da citochine prodotte localmente ed entrare anche nel sistema nervoso centrale. Le cellule B secernono varie citochine (per esempio, IL-6, IL-10, eccetera), che attivano diverse cellule immunitarie (per esempio, microglia e cellule T) e influenzano l'ambiente infiammatorio del sistema nervoso centrale: per esempio, IL-6 secreta dalle cellule B può avere notevole significato nel mantenimento del dolore neuropatico; IL-6 promuove la polarizzazione verso Th17, aprendo la BEE e creando un ambiente idoneo per la persistenza delle cellule B nel sistema nervoso centrale. Anche gli autoanticorpi secreti dalle cellule B patogene possono portare a sensibilizzazione centrale: le IgM si legano a neoantigeni nel midollo spinale e il complesso antigene-IgM promuove la segnalazione del complemento C5a nella microglia spinale e ciò determina aumento dell'espressione delle citochine proinfiammatorie spinali e conseguente sensibilizzazione centrale.

Conclusioni

C'è crescente evidenza che le cellule immunitarie influenzino il dolore cronico attraverso il loro coinvolgimento nella sensibilizzazione periferica e centrale. In periferia, le cellule immunitarie agiscono sui neuroni sensoriali nocicettivi periferici e aumentano la loro eccitabilità direttamente o indirettamente (mediando il rilascio di mediatori da altre cellule immunitarie, come CXCL1 [*chemokine - C-X-C motif - Ligand 1*], IL-10, IL-1 β , IL-6). Alcune cellule immunitarie migrano nel sistema nervoso centrale e partecipano alla sensibilizzazione centrale insieme alle cellule gliali in risposta a vari stimoli: per esempio, i neutrofili possono causare sinergicamente dolore cronico, rilasciando mediatori dell'infiammazione e reclutando macrofagi e cellule T. I neutrofili possono anche indurre sensibilizzazione nocicettiva, rilasciando mediatori dell'infiammazione, come istamina e leucotrieni. I mastociti contribuiscono al reclutamento di neutrofili e macrofagi. Inoltre, il sistema immunitario e il sistema nervoso interagiscono bidirezionalmente tra loro: infatti, non solo i mastociti e le cellule T sono regolati dai neuroni, ma studi recenti hanno rivelato la presenza di neuroni sensoriali attorno ai linfonodi che possono contribuire in modo differenziato alle risposte immunitarie, partecipando a circuiti neuroimmuni specifici del tessuto locale.