

## INDICE

INTRODUZIONE AL DOLORE	pag. 3
DOLORE E NOCICEZIONE	pag. 4
LA TRASDUZIONE	pag. 5
• I nocicettori	pag. 5
LA TRASMISSIONE	pag. 6
• Neurochimica del dolore	pag. 8
• Le vie ascendenti	pag. 8
• Dal talamo alla corteccia	pag. 12
LA MODULAZIONE	pag. 13
• La sostanza grigia periacqueduttale	pag. 13
• La teoria del cancello	pag. 13
• Il DNIC	pag. 14
• I peptidi oppioidi	pag. 15
LA PERCEZIONE	pag. 18
DOLORE NOCICETTIVO E NEUROPATICO	pag. 18
DOLORE ACUTO, PERSISTENTE E CRONICO	pag. 22
MECCANISMI DI SENSIBILIZZAZIONE	pag. 23
• Sensibilizzazione periferica	pag. 24
• Sensibilizzazione centrale	pag. 27

PAIN MATRIX	pag. 30
POTENZIALI EVOCATI LASER (LEP)	pag 32
• L'attenzione	pag 37
QUANTITATIVE SENSORY TESTING (QST)	pag 38
OBIETTIVI DELLO STUDIO	pag 43
MATERIALI E METODI	pag 43
LA PROCEDURA SPERIMENTALE	pag 47
ANALISI STATISTICA	pag 48
RISULTATI	pag 48
• Globale (AAll, AASS e VISO)	pag. 48
• Arti inferiori/AAll	pag. 53
• Volto/VISO	pag. 54
DISCUSSIONE	pag 55
CONCLUSIONI	pag 59
BIBLIOGRAFIA	pag 60

## INTRODUZIONE AL DOLORE

Secondo la definizione dell'International Association for the Study of Pain, il dolore è "un'esperienza emozionale e sensoriale spiacevole, associata ad un danno tissutale in atto, potenziale o percepito (descritto) in termini di danno".

L'esperienza dolorosa è dunque complessa: essa richiede l'elaborazione di uno stimolo da parte dei centri superiori che devono essere integri per caratterizzare una *noxa* come dolorosa. Secondo la teoria classica di Melzack e Casey oltre alla componente *sensitivo-discriminativa* (dopo la ricezione dello stimolo nocivo a livello dei centri superiori che ne caratterizzano sede, intensità, qualità e durata), il dolore possiede infatti una dimensione *emozionale-affettiva* (che attribuisce allo stimolo un connotato esperienziale spiacevole) ed una *cognitivo-valutativa* (influenzata dalle pregresse esperienze personali e dall'ambiente socio-culturale di provenienza del soggetto) [1]. L'intensità del dolore e i suoi effetti psicologici nel soggetto che lo avverte sono infatti dipendenti dalla natura dello stimolo nocivo ma anche dalla genetica, dal ricordo di precedenti esperienze personali, dalla situazione in cui esso si manifesta, dallo stato emotivo generale del soggetto. Ciò può spiegare la differente percezione e descrizione interindividuale di stimoli nocivi della stessa natura, così come le conseguenti strategie di "evitamento" adottate. La risposta ad uno stimolo doloroso o alla minaccia di esso risulta infatti conseguenza di un processo di sviluppo avviato sin dall'infanzia e arricchitosi progressivamente in base alle personali esperienze ed alla memorizzazione di modelli comportamentali di riferimento (e.g., familiari e socioculturali).

Un altro fattore importante nella percezione del dolore è l' "attenzione": la capacità di selezionare uno stimolo ignorandone altri e il conseguente aumento dello stato di vigilanza può influenzare fortemente quanto spiacevole risulti l'esperienza dolorosa per il soggetto. Parimenti, stati psicologici di ansia, paura o rabbia, deflessione del tono dell'umore possono significativamente aumentare il dolore del paziente pur in assenza di un substrato organico, contribuendo alla complessità diagnostica e terapeutica di questi pazienti.

## **DOLORE E NOCICEZIONE**

Il termine "*nocicezione*" implica la percezione di uno stimolo nocivo da parte di strutture recettoriali ("nocicettori") e la sua trasmissione centripeta alle strutture sensitive gangliari e al nevrasso. I nocicettori sono costituiti da terminazioni nervose libere con soglia di attivazione più alta rispetto agli altri recettori sensitivi, così da essere stimolati esclusivamente da stimoli algogeni.

Il "*dolore*" prevede invece l'integrazione a livello corticale dello stimolo nocivo periferico e richiede quindi l'integrità delle strutture encefaliche e il mantenimento di un adeguato stato di coscienza. Tutto ciò è infatti essenziale all'elaborazione della dimensione emozionale e cognitiva successive alla percezione dello stimolo. Qualsiasi condizione che alteri lo stato di coscienza in maniera significativa (e.g. stato di coma o anestesia generale) impedisce la percezione del dolore *sensu strictu*. Tutto questo ha importanti ripercussioni sulle risposte adattative agli stimoli lesivi: la coscienza del dolore infatti è responsabile della classificazione cognitivo-affettiva del danno (reale o potenziale) ed è dunque necessaria

all'attuazione delle risposte individuali di difesa e/o evitamento nei confronti della *noxa*.

Le fasi responsabili della percezione dolorosa sono:

- trasduzione: lo stimolo nocivo viene convertito in impulso elettrico a livello delle specifiche terminazioni nervose sensitive;
- trasmissione: nervi sensitivi periferici (periferia - midollo) e vie lunghe di trasmissione (midollo - tronco encefalo - talamo) mediano la trasmissione dell'impulso al talamo, principale stazione sensitiva cerebrale, e da qui alle aree corticali sensitive;
- modulazione: il segnale doloroso può essere amplificato o inibito a vari livelli del circuito di trasmissione attraverso molecole endogene, stress, processi cognitivi, farmaci o trattamenti antalgici;
- percezione: rappresenta la fase terminale del processo in cui si crea l'esperienza finale soggettiva ed emotiva del dolore.

## **LA TRASDUZIONE**

### **I nocicettori**

Qualsiasi stimolo esogeno lesivo (o potenzialmente tale) è in grado di eccitare i nocicettori periferici. Questi ultimi, distinti in cutanei, muscolari e viscerali, convertono il segnale (meccanico, termico o chimico) in impulso elettrico capace di propagarsi attraverso gli assoni delle fibre nervose afferenti periferiche fino al sistema nervoso centrale (SNC). Secondo la classificazione delle fibre sensitive di Erlanger e Gasser le fibre deputate alla trasmissione dell'impulso doloroso sono le fibre mieliniche di piccolo calibro A-delta (1-5  $\mu\text{m}$ , 3-30 m/s) e amieliniche C (0,2-1,5  $\mu\text{m}$ , 0,5-2 m/s).

Le fibre vengono prevalentemente attivate in seguito a stimoli dolorosi meccanici e termici freddi, e la sensazione trasmessa è intensa e ben localizzata. Le fibre C risentono invece dell'azione di stimoli algogeni meccanici particolarmente intensi, chimici o di temperature elevate, e mediano una sensazione urente o sorda meno localizzata. Queste differenze sarebbero anche responsabili di differenti tipologie e fasi del dolore: le fibre A-delta infatti mediano una trasmissione più rapida, intensa e localizzata, che solitamente si esaurisce dopo l'allontanamento della *noxa* algogena. Le fibre C invece trasmettono un dolore maggiormente diffuso e duraturo, che si mantiene oltre il termine della stimolazione periferica dei nocicettori. Proprio in relazione alle caratteristiche di localizzazione e temporali, queste due tipologie di sensazione dolorosa sono state rispettivamente denominate "primo dolore" e "secondo dolore" [2].

## **TRASMISSIONE**

L'informazione dolorosa viene quindi veicolata attraverso le fibre A-delta e C del primo neurone sensitivo, il cui pirenoforo si trova nel ganglio della radice dorsale (*dorsal root ganglion*, DRG) insieme ad altri neuroni pseudo-unipolari. Le fibre afferenti costituiscono appunto il prolungamento centrifugo di queste cellule mentre la branca centripeta penetrerà nelle corna dorsali del midollo spinale attraverso la *dorsal root entry zone* (DREZ). In quest'area avviene la sinapsi tra il primo e il secondo neurone e la prima modulazione delle afferenze nocicettive. I neuroni di II ordine si suddividono in nocicettivo-specifici (NS) e ad ampio range dinamico (*wide-dynamic range*, WDR). Le cellule delle corna dorsali si stratificano

all'interno del midollo in più zone o lamine (di Rexed), sulla base della citologia e delle popolazioni neuronali preponderanti e con specifiche funzioni. I neuroni della *lamina I (zona marginale)* sono NS di proiezione da cui origina il fascio neo-spinotalamico e a cui afferiscono fibre afferenti A-delta e C (queste ultime attraverso interneuroni dalla lamina II); la *lamina II (substantia gelatinosa di Rolando)* contiene interneuroni inibitori che agiscono modulando l'attività dei neuroni di proiezione. Nelle *lamine III-IV-V-VI* si trovano sia neuroni NS che WDR (questi ultimi particolarmente presenti nella lamina V). La lamina VII contiene cellule di origine dei fasci spinocerebellare e spinotalamico (in parte) mentre la lamina VIII mette in collegamento i neuroni delle corna posteriori con quelli anteriori del midollo. I neuroni WDR ricevono impulsi sia dai nocicettori che da meccano- e termocettori a bassa soglia di attivazione cutanei, muscolari e viscerali. Questa particolare configurazione con afferenze da differenti modalità sensitive è responsabile del cosiddetto dolore "riferito", cioè un dolore avvertito su un territorio cutaneo a causa di attivazione di nocicettori viscerali che inviano impulsi agli stessi WDR a cui afferiscono nocicettori somatici. Inoltre, in virtù del loro carattere polimodale, i WDR possiedono campi recettoriali di ampiezza variabile: una zona centrale di risposta aspecifica, una più esterna e grande responsiva solo a stimoli nocicettivi e una ampia zona periferica inibitoria per quel neurone. Questa organizzazione permette ai WDR di esercitare la loro essenziale funzione modulatoria sul dolore. Un aspetto fondamentale conseguente nella fisiologia di trasmissione del dolore è il controllo inibitorio diffuso indotto da stimoli nocivi (DNIC), un sistema antinocicettivo discendente modulato da

aree soprasedgmentarie che verrà descritto più approfonditamente in seguito.

### **Neurochimica del dolore**

La trasmissione sinaptica tra I e II neurone è assicurata da mediatori chimici rilasciati dalle terminazioni nervose: i neurotrasmettitori. Il principale neurotrasmettitore eccitatorio rilasciato dalle fibre A-delta e C è il glutammato, capace di indurre depolarizzazione rapida e breve tramite azione su recettori-canale voltaggio dipendenti di tipo AMPA con conseguente sviluppo di potenziali post-sinaptici eccitatori sui neuroni delle corna dorsali. Inoltre le fibre afferenti primarie rilasciano mediatori di natura peptidica (e.g., sostanza P, neurochinina A, calcitonin-gene-related-peptide/CGRP) responsabili di una depolarizzazione più graduale ma prolungata capace di indurre l'insorgenza di potenziali post-sinaptici lenti. La sostanza P, in virtù della propria capacità di diffondere a distanza dall'organo-bersaglio e dell'assenza di uno specifico meccanismo di re-uptake (a differenza del glutammato), agirebbe aumentando gli effetti e la durata di attività del glutammato su più neuroni post-sinaptici [3].

### **Le vie ascendenti**

Costituite da fasci di fibre che conducono informazioni nocicettive al talamo e divise in:

- 1) via nocicettiva afferente primaria o lemnisco spinale;
- 2) sistema ascendente multisinaptico o extralemniscale;
- 3) vie accessorie.

1) Costituita dai fasci spinotalamico laterale (neospinotalamico e paleospinotalamico), spinoreticolare e spinomesencefalico. Il **tratto neospinotalamico** è costituito da fibre che originano dalle corna dorsali

del midollo (neuroni delle lamine I, V, VII), decussano (il 5-10% delle fibre rimane omolaterale) nella commessura bianca anteriore per portarsi nel quadrante anterolaterale controlaterale e, ascendendo nel midollo in posizione laterale, terminano nel nucleo VPL del talamo (componente epicritica del dolore). Esso ha origine filogenetica recente ed una precisa organizzazione somatotopica. I tratti paleospinotalamico, spinoreticolare e spinomesencefalico costituiscono il sistema paleospinotalamico.

Il **fascio paleospinotalamico** (il contingente di fibre più numeroso del tratto spinotalamico laterale) è posto medialmente nel quadrante anterolaterale con i suoi neuroni di origine nei nuclei proprio e intermedio (lamina VI-IX, in parte lamina I), è filogeneticamente il più antico e conduce la componente protopatica del dolore. Le sue fibre terminano in parte su nuclei della formazione reticolare (che, a loro volta, proiettano sui nuclei intralaminari del talamo mediale) e in parte direttamente sul talamo.

Il **fascio spinoreticolare** ha le sue cellule di origine nelle lamine VII e VIII (nucleo intermedio) del midollo, frammiste alle cellule di origine del fascio paleospinotalamico e del sistema ascendente extralemniscale. Queste cellule emettono fibre di piccolo calibro (20% del lemisco spinale) che, in parte decussandosi e in parte ascendendo omolateralmente, decorrono nella parte più mediale del lemisco spinale e terminano su vari nuclei reticolari e sul grigioperiacqueduttale (PAG) mesencefalico. A loro volta, i nuclei reticolari cui fanno capo le fibre del fascio spinoreticolare proiettano sul talamo mediale. La formazione reticolare è presumibilmente preposta all'attenzione e contribuisce agli aspetti affettivi e motivazionali del dolore. Inoltre modula l'attivazione di riflessi somatici e vegetativi successivi alla

percezione dolorosa. Non è certo se agisca modulando il dolore anche attraverso le vie discendenti.

Il **fascio spinomesencefalico** è una via multisinaptica con cellule di origine localizzate nelle lamine I e V. Due terzi delle fibre che lo costituiscono si decussano sulla linea mediana per salire nel quadrante anterolaterale e dorsolaterale del midollo fino al mesencefalo dove terminano sul PAG, sui tubercoli quadrigemini superiori, sui nuclei di Darkschewitsch, Edinger-Westphal, infra- e sovracolliculare che, a loro volta, proiettano sul talamo mediale.

2) Costituita da fibre propriospinali (fascicoli propri), dalla formazione reticolare e dalle connessioni reticolo-ipotalamo-talamo- limbiche. Il sistema ascendente multisinaptico è costituito da una catena di brevi neuroni interconnessi longitudinalmente il cui corpo cellulare è sito nella parte mediale delle lamine più profonde delle corna dorsali. Queste cellule ricevono input dai nocicettori e inviano brevi assoni che, percorsi uno o due metameri, rientrano nelle medesime lamine ad un livello superiore per collegarsi ad altri neuroni che ripetono lo stesso schema anatomico e proiettano infine sulla formazione reticolare troncale. Da questa sede, la via extralemniscale proietta sui corpi mammillari da dove origina il fascio mammillotalamico che trasmette a sua volta al sistema limbico e ai nuclei intralaminari del talamo. E' quindi possibile distinguere un sistema ascendente lemniscale laterale ed uno extralemniscale paramediano. Il sistema extralemniscale è un sistema d'informazione discriminativa tonica, vale a dire è un sistema di vigilanza: vie polisinaptiche, lente, non organizzate somatotopicamente. E' un sistema che prende collegamento con la formazione reticolare, con il PAG, con l'ipotalamo, col talamo

mediale, con il lobo limbico e con la corteccia associativa; determina modificazioni della circolazione, della ventilazione, delle funzioni neuroendocrine. Il sistema lemniscale costituisce invece una via rapida di informazione organizzata somatotopicamente che consente di discriminare localizzazione, intensità e modalità del dolore.

3) In particolari situazioni il dolore può essere condotto da vie alternative. Per esempio, dopo la cordotomia è talvolta possibile la percezione del dolore nell'area analgesica perchè si "aprono" vie sussidiarie che comprendono vie per la conduzione del dolore epicritico (cordoni posteriori e fascio spinocervicale) e protopatico (tratto di Lissauer). Il maggior contingente delle fibre dei cordoni posteriori è costituito dai prolungamenti centripeti dei neuroni di primo ordine che hanno il pirenoforo nel ganglio della radice dorsale e veicolano informazioni tattili e propriocettive epicritiche, costituendo i fascicoli gracile e cuneato. Oltre a questo principale contingente di fibre nervose, nei cordoni posteriori, vi sono anche vere e proprie fibre nocicettive che, come neuroni di secondo ordine con pirenoforo nelle corna dorsali del midollo, salgono omolateralmente per raggiungere i nuclei dei cordoni posteriori nel bulbo. Le fibre efferenti da questi nuclei attraversano la linea mediana e, con il lemnisco mediale, raggiungono il nucleo ventro-postero-laterale del talamo. Il fascio spino-cervicale è un'ipotetica via accessoria per la conduzione del dolore epicritico. Esso è ben sviluppato nel gatto, nell'uomo la sua presenza non è costante. Il tratto di Lissauer sale omolateralmente e appena dietro l'ingresso del I neurone nel midollo spinale e coincide con la zona terminale di Lissauer. Esso si estende per tutta la lunghezza del midollo continuandosi rostralmente nel tratto spinale

del trigemino ed è costituito dalle fibre della divisione laterale della radice dorsale che si biforcano in un ramo ascendente ed uno discendente e da fibre derivate da neuroni della sostanza gelatinosa che entrano nel tratto di Lissauer e collegano parti adiacenti del midollo come “interneuroni a circuito locale”. Ciascuna di queste corte fibre pur avendo singolarmente un percorso molto breve, contribuisce a formare una via ascendente in quanto si associa ad altre fibre della stessa natura attraverso connessioni polisinaptiche.

### **Dal talamo alla corteccia**

L'informazione nocicettiva viaggia attraverso le vie ascendenti fino a raggiungere il talamo ove avviene la sinapsi con il III neurone, prima di raggiungere la corteccia. I nuclei talamici che ricevono afferenze nocicettive sono il dorso mediale (DM), ventro-postero laterale (VPL) e mediale (VPM), i nuclei intralaminari (NIL) (centrolaterale/CL, parafascicolare/PF, centromediale/CM) che a loro volta proiettano al DM. Si possono riconoscere due sistemi di trasmissione all'interno del talamo: un sistema laterale a cui prevalentemente afferiscono fibre di neuroni appartenenti alla lamina V ed uno mediale a cui giungono quelle provenienti dalle lamine I-II [4]. I neuroni del VPM proiettano alla corteccia parietale somatosensitiva primaria (SI) e secondaria (SII), ove avviene il riconoscimento dello stimolo nocicettivo (componente sensitivo-discriminativa) nelle sue componenti quali-quantitative. I neuroni dei nuclei mediali del talamo inviano fibre a varie aree corticali quali la corteccia frontale, l'insula, la corteccia cingolata anteriore, maggiormente responsabili della risposta emozionale-affettiva del dolore. La percezione finale del dolore è in verità più complessa, risultando dall'interazione tra il

sistema ascendente di trasmissione-percezione e quello discendente di modulazione.

## **LA MODULAZIONE**

Il nostro sistema nervoso possiede un complesso di nuclei e fibre capaci di interferire con la trasmissione e percezione del dolore. La modulazione del dolore si attua sia per mezzo di strutture spinali che sopraspinali.

### **La sostanza grigia periacqueduttale (PAG)**

Negli anni '60, David Reynolds ottenne un profondo stato analgesico in modelli animali stimolando con elettrodi la sostanza grigia periacqueduttale (PAG) [5]. L'analgesia ottenuta in questo modo venne chiamata "stimulation produced analgesia". L'esperimento di Reynolds venne verificato da molti autori, e si dimostrò inoltre che il percorso seguito dallo stimolo inibitorio per portarsi dai nuclei mesencefalici al midollo spinale e' il funicolo dorso laterale [6].

### **La teoria del cancello**

Nello stesso periodo Melzack e Wall dimostrarono che la stimolazione delle fibre afferenti primarie mieliniche a bassa soglia, riduce la risposta dei neuroni delle corna dorsali alla stimolazione di nocicettori amielinici, mentre il blocco di conduzione delle fibre mieliniche provoca il fenomeno inverso [7]. A livello del midollo spinale esiste dunque una rete neuronale che modula le informazioni nocicettive afferenti dalla periferia. A questa ipotesi di modulazione fu dato il suggestivo nome di "teoria del cancello". I neuroni di proiezione delle corna dorsali vengono direttamente attivati sia dalle fibre mieliniche a bassa soglia che da fibre amieliniche. Tuttavia mentre le fibre mieliniche attivano anche interneuroni inibitori i segnali

provenienti dalle fibre amieliniche esercitano su questi interneuroni una azione esclusivamente inibitoria. Dunque l'attivazione delle fibre A-alfa e A-beta aumenterebbe l'attività degli interneuroni inibitori "chiudendo il cancello" e bloccando la trasmissione dei segnali nocicettivi alle strutture soprasspinali. Al contrario l'attivazione delle fibre A-delta e C inibirebbe l'attività degli interneuroni inibitori facilitando la trasmissione dei segnali nocicettivi alle strutture soprasspinali e provocando dolore. Questa teoria ha condotto all'utilizzazione della stimolazione transcutanea delle fibre delle colonne dorsali e dei nervi periferici con finalità analgesiche. Questo sistema di regolazione è sotto il controllo di influenze discendenti da parte di strutture soprassegmentarie come il PAG mesencefalico, il nucleo del rafe magno e il nucleo paragigantocellulare nel bulbo. La stimolazione di questi nuclei induce analgesia, per inibizione attraverso fasci discendenti serotonergici, dei neuroni nocicettivi non specifici. Esistono inoltre sistemi inibitori noradrenergici discendenti a partenza dal locus coeruleus [8].

## **II DNIC**

Il termine DNIC (controllo inibitorio diffuso indotto da stimoli nocicettivi) fu originariamente usato per descrivere un meccanismo di controllo inibitorio a partenza dal tronco encefalo. Infatti uno stimolo doloroso in una certa area corporea si associa all'inibizione di altri campi recettoriali, così da meglio localizzare lo stimolo algogeno considerato "predominante".

Il nucleo reticolare dorsale sembrerebbe avere un ruolo fondamentale nella genesi di questo riflesso [9]. Tale nucleo riceve infatti afferenze nocicettive spinali e comunica con il PAG, la porzione rostrale ventromediale del bulbo (RVM), il talamo e l'amigdala inviando proiezioni

modulatorie alle corna dorsali [10,11]. Inoltre esso invia e riceve proiezioni da diversi siti corticali. Il nucleo reticolare dorsale costituisce insieme a PAG e RVM un loop spinale-sopraspinale di modulazione del dolore [12]. Questo sistema, stimolato da un impulso nocicettivo ascendente, attiva tramite collaterali il PAG, il nucleo del rafe magno, il locus coeruleus ed i nuclei adiacenti che, a loro volta, inviano proiezioni discendenti inibitorie serotonergiche e noradrenergiche ai neuroni WDR della lamina V. I WDR rispondono anche a stimoli non nocicettivi, per cui sono attivati continuamente in maniera random da tutti gli stimoli somatici non nocicettivi che provengono dall'ambiente circostante. Può dunque essere difficile per i centri superiori "isolare" un segnale significativo dall'attività di base. Il DNIC ha una funzione di filtro che permette di isolare i segnali nocicettivi epicritici dal "rumore di fondo", inibendo l'attività nocicettiva dei neuroni circostanti. Questo sistema, controirritativo, è quello su cui si basa l'agopuntura. Lo stimolo nocicettivo modula se stesso, attivando una certa popolazione di neuroni e disattivandone una più ampia, in modo da consentire una precisa e sicura localizzazione dello stimolo doloroso.

### **I peptidi oppioidi**

L'attività spinale della trasmissione del dolore e i collegamenti interneuronali avvengono per mezzo di neurotrasmettitori di tipo oppioide o aminergico. I farmaci analgesici oppiacei rappresentano uno strumento potente nella terapia del dolore ed esplicano la loro azione terapeutica mimando sostanze endogene, i peptidi oppioidi originati da tre precursori (proenkefalina, proopiomelanocortina e prodinorfina), ligandi naturali dei recettori omonimi che svolgono funzioni di neurotrasmissione e di modulazione nei confronti dei trasmettitori classici.

Nel 1973 si ottennero le prime evidenze sperimentali di specifici siti di legame per gli oppiacei nel sistema nervoso e successivamente, nel 1975, furono identificate le prime due sostanze endogene la met- e la leu-enkefalina capaci di legare tali siti recettoriali [9,10]. Immediatamente dopo furono identificate due ulteriori famiglie di peptidi oppioidi, le endorfine e le dinorfine. La prima classificazione farmacologica identificò tre tipi di recettori oppioidi designati con le lettere greche:  $\mu$  (mu),  $\kappa$  (kappa) e  $\delta$  (delta), ampiamente distribuiti a livello del sistema nervoso [11]. Nel corso degli anni sono stati proposti altri tipi recettoriali come il sigma che successivamente è stato tuttavia considerato recettore non oppioide. In relazione alla loro azione prevalente, sono maggiormente localizzati in sedi diverse:

- recettori che mediano l'analgesia: corna posteriori del midollo spinale, grigio periacqueduttale, talamo;
- recettori che mediano gli effetti su respirazione, tosse, vomito e diametro pupillare: parte ventrale del tronco encefalico;
- recettori che modulano la secrezione endocrina: ipotalamo;
- recettori che mediano gli effetti su umore e comportamento: strutture limbiche, ippocampo e amigdala.

Inoltre ogni sottotipo recettoriale possiede caratteristiche intrinseche differenti (e.g., il recettore  $\mu$  media principalmente analgesia soprspinale mentre il recettore  $\kappa$  è responsabile di analgesia spinale con sedazione ma minore depressione respiratoria).

Corpi cellulari di neuroni e terminazioni nervose contenenti enkefalina e dinorfina sono stati trovati nella sostanza grigia periacqueduttale, nella regione rostroventrale del bulbo e nelle corna dorsali del midollo spinale

(lamina I e II). Al contrario, la  $\beta$ -endorfina presenta una distribuzione più limitata ed è stata trovata principalmente nei neuroni dell'ipotalamo, che inviano proiezioni alla PAG ed ai nuclei noradrenergici del tronco encefalo. Nel 1994 è stato clonato un altro recettore oppioide, inizialmente definito ORL-1 o recettore orfano con il suo ligando endogeno orfanina FQ o nocicettina [13-15]. La nocicettina possiede caratteristiche peculiari che la differenziano dagli altri oppioidi e la rendono verosimilmente in grado di antagonizzare il sistema oppioide classico. Il legame di questo peptide al suo recettore (ORL-1) non è antagonizzato dal naloxone (né da altre molecole) così come non lo sono i suoi effetti farmacologici. La nocicettina è distribuita a livello dei neuroni centrali degli strati superficiali delle corna dorsali del midollo, del trigemino, del PAG e del nucleo del rafe.

Gli effetti analgesici degli oppiacei sono mediati dall'azione di queste sostanze direttamente sul sistema nervoso, sia attraverso l'inibizione della trasmissione che attraverso l'attivazione delle vie discendenti che modulano il dolore. A livello pre-sinaptico, l'azione del ligando sul recettore si esplica in una ridotta liberazione di sostanze algogene (e.g., glutammato, sostanza P e tachichinine) da parte dei neuroni sensitivi. A livello post-sinaptico gli oppioidi mediano l'apertura dei canali del  $K^+$  causando iperpolarizzazione della membrana neuronale e diminuendo l'ampiezza del potenziale post-sinaptico eccitatorio evocato dalle fibre afferenti primarie.

Gli oppiacei svolgono inoltre la propria azione analgesica stimolando direttamente le vie discendenti o promuovendo l'inibizione di interneuroni GABAergici pre-sinaptici che modulano tali vie, disinibendole. Le vie discendenti sono prevalentemente serotoninergiche e noradrenergiche,

originano sia dalla corteccia (zone orbito-frontali e cingolari) che da da aree subcorticali (ipotalamo, talamo, PAG, nucleo rafe magno, nucleo paragigantocellulare della regione rostroventrale del bulbo, cellule noradrenergiche del ponte e del bulbo).

Infine i peptidi oppioidi agiscono anche perifericamente. I recettori per gli oppioidi ed i neuropeptidi (come la sostanza P) sintetizzati nei DRG vengono trasportati attraverso i microtubuli nei prolungamenti centrali e periferici dei neuroni afferenti primari. A livello delle terminazioni periferiche e centrali i recettori sono incorporati nella membrana neuronale e diventano recettori funzionanti. Il legame tra peptidi oppioidi sia esogeni che endogeni e recettori, determina l'accoppiamento a proteine G inibitorie, con diminuzione del flusso di  $\text{Na}^+$  e di  $\text{Ca}^+$  all'interno della cellula e conseguente riduzione del rilascio di sostanza P.

## **LA PERCEZIONE**

E' il processo finale di consapevolezza soggettiva fisica ed emozionale dell'esperienza dolore successivo ai processi integrati di trasduzione, trasmissione e modulazione.

## **DOLORE NOCICETTIVO E NEUROPATICO**

La classica tendenza di classificare il dolore in base all'eziologia (e.g., nevralgia post-herpetica) o alla topografia (e.g., radicolopatia lombosacrale) appare oggi limitata e di scarsa utilità. Sebbene infatti queste suddivisioni siano di ausilio nel trattamento della patologia di base, non lo sono invece nella scelta della corretta terapia antalgica. Un giusto

approccio algologico si avvale principalmente di una classificazione patogenetica del dolore.

Si distinguono innanzitutto dolore di tipo nocicettivo e non nocicettivo. Il dolore nocicettivo (o tessutale) si può considerare un dolore “fisiologico” conseguente ad uno stimolo lesivo che attiva i nocicettori periferici ed informa l’organismo di una situazione di danno (in atto o potenziale) a cui reagire per evitare gravi conseguenze (e.g., una mano a contatto con il fuoco). Esso si distingue ulteriormente in *transient pain* o *tissue injury pain* a seconda che il dolore percepito sia prodotto da stimoli potenzialmente (allarme) o attualmente (sintomo) lesivi dei tessuti cui sono applicati. Quindi mentre nel primo caso non vi è un effettivo danno, nel secondo i nocicettori attivati verranno sensibilizzati da mediatori della flogosi riducendo la propria soglia di attivazione. Le lesioni in grado di causare dolore nocicettivo sono di 3° (i.e., soluzione di continuo, danno termico o compressione di un tessuto, discinesia di un viscere cavo, trazione di un legamento viscerale, distensione della capsula che circonda un parenchima o spasmo muscolare), 2° (ischemia di un tessuto) o 1° grado (flogosi di un tessuto). I dolori tessutali possono poi originare da lesioni superficiali (cutanee o mucose) o profonde (viscerali o somatiche). Tra le lesioni profonde somatiche si includono quelle di origine muscoloscheletrica e quelle da flogosi radicolare (nerve trunk pain): quest’ultimo riveste particolare importanza per la sua frequenza e per la diffusa tendenza a considerarlo sinonimo di “radicolopatia”. Questi due termini sono invece da considerarsi rappresentativi di due entità distinte laddove il dolore radicolare ha specifiche caratteristiche (lancinante e proiettato lungo l’arto) e si instaura solo in seguito ad infiammazione

neurogena di uno o più segmenti, mentre la radicolopatia esprime un deficit di trasmissione lungo le fibre nervose e pertanto si associa a turbe sensitivo-motorie ma non necessariamente a dolore (per cui è fondamentale l'instaurarsi della flogosi) [16-18].

Tra i dolori non nocicettivi rientrano il dolore neuropatico e quello psicogeno (in cui uno stimolo viene normalmente avviato e trasmesso ma scorrettamente "interpretato" dai centri superiori). Il dolore neuropatico include un'ampia categoria di disturbi di difficile trattamento molto diffusi, e rappresenta la diretta conseguenza di una lesione o malattia a carico dell'apparato somatosensoriale [19]. Esso è un dolore "patologico" in quanto è a carico del sistema di segnalazione del dolore sebbene, come osservato a proposito del dolore tessutale, non tutte le lesioni di questo sistema saranno dolorose. Oltre alla lesione in sé, fattori implicati nello sviluppo dei sintomi sono di ordine genetico e ambientale. Quale che sia la sua origine il dolore neuropatico si contraddistingue comunque per l'assenza di stimoli sui nocicettori e l'attivazione ectopica di neuroni periferici o centrali. Il termine non va quindi confuso con la dizione di dolore "neurogeno" che implica semplicemente una localizzazione del danno all'interno del sistema nervoso (e.g., il nerve trunk pain è un dolore neurogeno ma nocicettivo). Clinicamente il dolore neuropatico può esprimersi con modalità molto differenti tra un paziente e l'altro, e descritto di volta in volta come urente o bruciante, a scossa elettrica, lancinante, etc. Può essere presente in maniera continua, esclusivamente evocato da uno stimolo doloroso e non (configurando rispettivamente iperalgesia o allodinia), o in combinazione. Un aspetto fondamentale per la diagnosi è il riscontro alla visita neurologica di deficit sensitivi (ipoestesia tattile, termo-

dolorifica o vibratoria) o di fenomeni positivi (e.g., parestesie, ipersensibilità a freddo e caldo, allodinia).

Patogeneticamente possiamo distinguere un dolore neuropatico periferico (danno del I neurone) che può nascere da: 1) una persistente sensibilizzazione dei nocicettori (maggiormente a carico delle fibre C) sovente associato alla percezione dolorosa di uno stimolo non algogeno (allodinia) ed ipersensibilità al caldo; 2) da dismielinosi (ipermielinizzazione o demielinizzazione) in cui la patologica eccitazione delle fibre dismielinizzate provoca scariche aberranti di potenziali d'azione condotte antidromicamente (e.g., nevralgia trigeminale); 3) da neuroma, cioè una lesione assonale con sezione dei neuriti che causa scariche patologiche dai monconi, sviluppo di neorecettori ipersensibili, degenerazione di fibre C e A-delta e modificazione morfofunzionale della DREZ; 4) da danno *ab initio* delle piccole fibre (A-delta e C), tipico di forme sensitivo-autonomiche pure ma anche secondario ad altre patologie (e.g., diabete mellito); 5) da deafferentazione qualora la lesione interessi il I neurone prossimalmente al ganglio e provochi quindi la privazione di tutte le afferenze al II neurone (A-beta, A-delta e C), causando disinibizione e ipersensibilità centrale da denervazione con modificazioni plastiche patologiche [20].

Il sistema di *grading* proposto da Treede et al. (recentemente aggiornato), suggerisce come ausilio diagnostico di basarsi su: 1) presenza di dolore con distribuzione anatomicamente compatibile (e.g., territorio di innervazione periferica o somatotopia centrale); 2) anamnesi remota suggestiva di una lesione o malattia dell'apparato somatosensoriale (correlata temporalmente con l'esordio del dolore); 3) conferma con  $\geq 1$

test di distribuzione anatomicamente compatibile con l'ipotesi di dolore neuropatico (e.g., visita, test di laboratorio o neurofisiologici); 4) conferma con  $\geq 1$  test che confermi la presenza di una lesione o malattia dell'apparato somatosensoriale (e.g., imaging) [19].

## **DOLORE ACUTO, PERSISTENTE E CRONICO**

Un **dolore acuto** è tale se di breve durata e direttamente correlato alla *noxa* che lo ha generato. Ne consegue che al termine dell'applicazione dello stimolo che lo ha generato, il dolore acuto si risolve. Esso è tipicamente tessutale (primario o secondario riferito o riflesso), patogeneticamente conseguenza di uno stimolo transitorio dei nocicettori, e trattabile con misure antinocicettive. In alcuni casi può ripresentarsi periodicamente configurando un dolore acuto ricorrente (e.g., lombalgia ricorrente).

Diverso è il **dolore persistente**, sostenuto cioè dal persistere di una lesione algogena nocicettiva o disnocicettiva. Ne sono esempi il dolore da coxartrosi, il dolore neoplastico ed anche neuropatico (con la differenza che i primi due hanno una origine tessutale). L'aggettivo "neuropatico" infatti non è sinonimo di "cronico" ove, come vedremo, manca la relazione di causa-effetto. Il dolore neuropatico persistente si sviluppa in seguito ad un danno del sistema somatosensoriale che provochi attivazione ectopica o aberrante delle vie di trasmissione (quindi disnocicezione), e tende solitamente a mantenere almeno parzialmente una propria topografia (come dolore secondario di proiezione). Inoltre, a differenza di quello cronicizzato, questo tipo di dolore rimane trattabile e potenzialmente responsivo a farmaci specifici come gli anticonvulsivanti.

Il **dolore cronico** rappresenta una grande sfida per il medico algologo e ancora oggi spesso non viene correttamente identificato. I criteri temporali classici che lo definiscono come un dolore presente da oltre 6 mesi appaiono dunque decisamente inadeguati e limitati rispetto alla complessità del problema. La caratteristica fondamentale del dolore cronico è il suo perdurare dopo la risoluzione della causa che lo ha generato. Questa caratteristica è alla base del passaggio dal concetto di “dolore-sintomo” a quello di “dolore-malattia”, un problema sanitario e sociale di proporzioni impressionanti [21]. La cronicizzazione del dolore si sviluppa a partire da lesioni algogene differenti ma con identica evoluzione in modificazioni plastiche stabili del SNC, responsabili dell'apprendimento dell'emozione dolore” e della sua refrattarietà ai trattamenti [22,23]. Ammesso che giochino un ruolo, il maggior lasso di tempo trascorso dall'esordio del dolore o dopo la guarigione dalla lesione primitiva, hanno probabilmente un peso del tutto secondario nella fisiopatologia del dolore cronico. Come detto, un ruolo cardine possiedono invece le modificazioni dei circuiti neuronali centrali attivati da una lesione nocicettiva o meno, tali da crearne l'apprendimento e la memorizzazione [24].

La contrapposizione acuto-cronico appare utile alla comprensione dei circuiti neuronali della nocicezione nonché dei meccanismi di modulazione a livello periferico e centrale. Se il danno è inevitabile si stabiliscono variazioni reversibili dell'eccitabilità centrale e periferica del sistema nervoso. Attraverso meccanismi fisiopatologici di sensibilizzazione periferica o centrale il dolore da acuto può divenire cronico.

## **MECCANISMI DI SENSIBILIZZAZIONE**

## **Sensibilizzazione periferica**

Se lo stimolo doloroso è prolungato ed intenso si verifica un cambiamento nei circuiti coinvolti nella trasmissione del dolore. La soglia dei nocicettori viene modificata, provocando un aumento del dolore ad ogni successiva stimolazione e un'espansione del campo recettivo.

A livello periferico il danno tissutale porta al rilascio di sostanze chimiche endogene algogene (bradichinina, prostaglandine, istamina, ossido nitrico, protoni) che causano flogosi, vasodilatazione ed aumento della permeabilità vascolare. Ciò favorisce il rilascio di altre sostanze proalgogene da parte degli stessi nocicettori (e.g., sostanza P), che stimolano il rilascio di istamina da parte dei mastociti. Tutte queste molecole possono modificare e ridurre la soglia di attivazione dei nocicettori e causare la sensibilizzazione della fibra periferica.

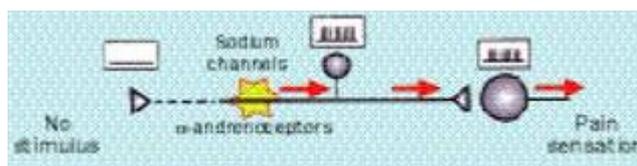
Diretta conseguenza della sensibilizzazione sarà lo sviluppo di **iperalgnesia**, cioè una sensazione di dolore evocata da successivi stimoli più intensa di quella provocata in tessuti sani. L'iperalgnesia può manifestarsi sia in corrispondenza del tessuto lesso (**iperalgnesia primaria**), che a livello delle aree circostanti non interessate dalla *noxa* algogena (**iperalgnesia secondaria**). I meccanismi alla base dell'iperalgnesia secondaria sono probabilmente secondari alla sensibilizzazione dei neuroni delle corna posteriori (sensibilizzazione centrale), indotta dalla loro attivazione protratta.

In seguito ai meccanismi di sensibilizzazione periferica (ipereccitabilità dei nocicettori) e centrale (ipereccitabilità dei WDR) può anche svilupparsi il fenomeno dell' **allodinia**, per cui uno stimolo normalmente innocuo viene percepito come doloroso. L'allodinia può essere superficiale o profonda e

ulteriormente suddivisa in base alla modalità di stimolo capace di evocarla in meccanica (statica e dinamica) mediata da fibre A-beta se dovuta a un meccanismo centrale o da fibre C se mediata dalla sensibilizzazione dei nocicettori, termica e chimica.

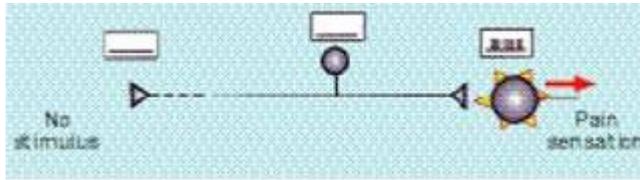
Nel caso del dolore neuropatico i meccanismi di sensibilizzazione periferica si verificano senza la presenza di un danno tissutale, ma come conseguenza di una disfunzione dell'apparato somatosensoriale. Dopo una lesione che interrompa completamente le fibre di un nervo periferico si osserva un incremento di scarica spontanea ectopica da parte del moncone prossimale del neurone afferente primario. Il trauma provoca un danno a carico di fibre A-beta, A-delta e C, con successivo sprouting iperplastico di fibre verso le popolazioni cellulari limitrofe, responsabili dello sviluppo di un neuroma [25]. Le scariche abnormi suddette non originano però solo dal neuroma ma anche dalle fibre a monte e dalle cellule del DRG [26].

Dopo una lesione neurogena si verifica una riorganizzazione dei canali del sodio (normalmente disposti all'estremità assonica) che vengono iperespressi a livello del DRG, lungo l'assone e nel neuroma, costituendo così un vero e proprio focus di scariche ectopiche.



La genesi di scariche spontanee è particolarmente importante per lo sviluppo di iperalgesia, laddove la formazione del neuroma piuttosto che

ripristinare la funzione fisiologica del nervo si converte in una causa di nocicezione ectopica.



Anche i canali voltaggio-dipendenti del calcio vengono spesso coinvolti da un danno nervoso. Infatti un aumentata espressione di questi canali (ed in particolare della subunità alfa-2-delta, bersaglio di farmaci utilizzati nel trattamento del dolore neuropatico come Gabapentin e Pregabalin) a livello delle corna dorsali si associa alla presenza e maggior durata del fenomeno allodinico [27]. L'espressione di nuovi canali ionici rende il neuroma ipersensibile a stimoli di varia natura come traumi meccanici e ischemici, ai farmaci o a sostanze endogene come la noradrenalina. Infatti un danno assonale può provocare l'incremento di recettori simpaticomimetici sul nervo che lo rende ipersensibile alle catecolammine circolanti provocando un "mantenimento" della percezione dolorosa sostenuta appunto dal sistema nervoso simpatico (*sympathetic maintained pain, SMP*). L'assone simpatico danneggiato primitivamente può inoltre rigenerarsi in direzione prossimale e contrarre sinapsi con neuroni sensitivi a livello gangliare, provocando dolore quando attivati [28]. Infine il dolore mantenuto dal simpatico trova la sua origine anche nello sviluppo di efapsi. Le efapsi sono cortocircuiti che si sviluppano nel contesto delle fibre neoformate tra gli assoni integri e quelli in rigenerazione, dovuti al firing indotto sugli sprouts dalle fibre vicine e responsabile dell'avvio di

efferenze simpatiche che perpetuano gli input nocicettivi sulle afferenti somatiche.

### **Sensibilizzazione centrale**

Modificazioni biochimiche e microstrutturali come quelle descritte possono manifestarsi anche a livello del SNC, in seguito a lesioni primitive del midollo spinale o come estensione di un danno primitivo periferico. Segnali nocicettivi trasmessi attraverso le fibre A-delta e C giungono nel bottone sinaptico liberando glutammato che media l'apertura dei recettori ionotropici AMPA. In questo modo diviene possibile il passaggio di ioni  $\text{Na}^+$  e la depolarizzazione dei neuroni delle corna dorsali, mentre i recettori NMDA (acido N-metil-D-aspartico) rimangono "bloccati" dalla presenza di ioni magnesio ( $\text{Mg}^+$ ). Se gli stimoli algogeni persistono e le fibre nocicettive scaricano in maniera protratta e sostenuta depolarizzando i neuroni delle corna dorsali, il  $\text{Mg}^+$  nei recettori NMDA viene rimosso permettendo l'ingresso di calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) nel neurone. In particolare, l'interazione della sostanza P con il proprio recettore NK-1 tachichinico determina l'attivazione di una protein-chinasi C che fosforila il residuo di serina e treonina del recettore NMDA rimuovendo il blocco mediato dal  $\text{Mg}^+$ . L'aumento della concentrazione di  $\text{Ca}^{++}$  all'interno della cellula è anche mediato dall'interazione tra omologhi della sostanza P (neurochinina A e B, recettori NK-2 e NK-3). Sostanza P e neurochinina A vengono liberati negli strati più superficiali del midollo spinale, sito di impatto delle fibre nocicettive provenienti dalla periferia e diffondono molto agevolmente verso gli strati più interni. L'attivazione dei recettori NMDA inoltre promuove la produzione di ossido nitrico ( $\text{NO}_2$ ) che facilita e amplifica gli effetti del glutammato sulla nocicezione.

Tutto ciò determina cambiamenti strutturali pre- (e.g., aumentato rilascio di glutammato e *sprouting* di fibre afferenti nocicettive) e post-sinaptici (e.g., aumento del numero di recettori per il glutammato, attivazione di protein-chinasi che fosforilano substrati citosolici o di membrana, abbassamento della soglia per la genesi di potenziali d'azione) della cellula nervosa spinale, responsabili della sua modificazione plastica e di una patologica risposta agli stimoli nocicettivi, tali da indurre (nelle fasi più avanzate) cronicizzazione, ove il dolore viene percepito in assenza di stimolazione recettoriale.

L'attivazione dei neuroni delle corna posteriori dipende non solo dagli impulsi che riceve dalla periferia, ma anche dagli impulsi inibitori che riceve dalle fibre discendenti e da interneuroni posti nel contesto della lamina II delle corna posteriori. Una lesione neurogena può provocare *downregulation* dei recettori per il GABA e per gli oppioidi, normalmente presenti sia nel neurone sensitivo primario che nelle corna posteriori, ed una riduzione degli interneuroni inibitori probabilmente in seguito a meccanismi eccitotossici [29], per cui su di essi non possono più agire le vie discendenti modulatorie e prevale la trasmissione glutammatergica. La conseguente disinibizione aumenta le probabilità che i neuroni delle corna dorsali possano scaricare spontaneamente o in maniera esagerata in risposta ad un input afferente, per cui stimoli innocui vengono interpretati come dolorosi (allodinia), e stimoli poco lesivi come più dolorosi (iperalgia). Questo meccanismo giustifica l'effetto positivo sul dolore neuropatico di alcuni farmaci antiepilettici con azione gabaergica.

Un altro aspetto importante della sensibilizzazione persistente include l'espressione nelle grandi fibre tipo A-beta di certi neuropeptidi,

normalmente espressi soltanto nelle piccole fibre tipo C. Questo *switch* fenotipico implica che l'attivazione di fibre A-beta possa sensibilizzare le cellule delle corna dorsali attraverso il rilascio di sostanza P, generando allodinia. L'insorgenza dell'allodinia è correlata anche allo *sprouting* di fibre A-beta nelle corna posteriori del midollo spinale, dimostrato in presenza di lesione nervosa. Le fibre A-delta e C terminano a livello delle lamine superficiali delle corna dorsali del midollo spinale (I e II), mentre le fibre di grosso calibro mielinizzate A-beta a bassa soglia di attivazione terminano a livello delle lamine III e IV. La lamina V è una regione di convergenza degli inputs, dove risiedono i neuroni ad ampio raggio (WDR) su cui convergono input nocicettivi e non. Studi precedenti hanno dimostrato che dopo l'assonotomia del nervo sciatico il terminale centrale delle grandi fibre mieliniche colonizza in modo persistente la lamina II delle corna dorsali [30,31]. In tal modo, i neuroni di secondo ordine ricevono afferenze da meccanicocettori a bassa soglia interpretandoli come nocicettivi [32].

I risultati di questo processo che definisce la sensibilizzazione centrale sono:

- una ridotta soglia di depolarizzazione;
- un aumento della risposta agli stimoli soprasoglia;
- un'attività cellulare che supera la durata dell'input nocicettivo periferico;
- la propagazione degli stimoli alle cellule adiacenti;

La sensibilizzazione centrale si estrinseca sia nel contesto di lesioni tissutali, ed allora origina dall'attivazione intensa e prolungata delle fibre C nocicettive da parte dei nocicettori sia nel contesto di lesioni del sistema

somatosensoriale. I pazienti affetti da dolore di tipo nocicettivo sviluppano infatti sintomi quali iperalgesia ed allodinia, che non sono altro che manifestazioni della sensibilizzazione centrale e periferica in assenza però di segni neurologici motori o sensitivi. Nella maggior parte dei casi dopo la guarigione il sistema nervoso ritorna al normale stato di funzionamento. Quando l'ipereccitabilità centrale, pur indotta dallo stimolo nocicettivo, dura dopo il suo esaurimento, il dolore nocicettivo acuto diviene un dolore cronico. I meccanismi di sensibilizzazione alla base del dolore possono essere identificati in senso generale come nocicettivi se risultano da un danno tessutale e neuropatici in caso sia il sistema somatosensoriale ad essere danneggiato.

### **“PAIN MATRIX”**

Mentre i meccanismi spinali di controllo della trasmissione nocicettiva sono ormai noti, sappiamo ancora poco su come le aree soprasegmentarie contribuiscano alla processazione ed al controllo del dolore. Negli ultimi anni vari studi con tomografia a emissione di positroni (PET) o risonanza magnetica funzionale (fMRI) hanno investigato i cambiamenti dell'attività cerebrale in risposta a stimoli dolorosi. I primi tre studi con queste tecnologie si basavano sull'applicazione di stimoli nocicettivi termici e hanno dimostrato l'attivazione di numerose aree cortico-subcorticali durante la stimolazione dolorosa in soggetti sani [33-35]. Da allora molti altri studi sono state eseguiti con l'ausilio di PET e fMRI .

La comparazione diretta tramite studi con PET delle aree attivate durante stimolazione tattile e dolorosa [36] ha evidenziato una sovrapponibile

attivazione di regioni quali SI ed SII ma una prevalente attivazione solo dopo stimolo doloroso di aree quali l'insula (IC), la corteccia cingolata anteriore (ACC), la corteccia frontale e di aree subcorticali come il talamo. Questi studi hanno quindi condotto la comunità scientifica a ipotizzare una diversa processazione da parte di distinte strutture cerebrali delle componenti sensitiva ed emozionale del dolore. Le aree coinvolte costituiscono il cosiddetto "***pain matrix***", implicato nelle varie dimensioni della percezione dolorosa.

Il sistema del dolore è diviso in un sistema laterale ed in uno mediale. Il **sistema laterale** è associato principalmente alla dimensione sensori-discriminativa del dolore, intesa come la capacità di analizzare la qualità, la localizzazione, l'intensità e la durata dello stimolo doloroso e comprende il fascio spino-talamico che proietta al nucleo ventrobasale del talamo e quindi alla corteccia somatosensitiva primaria e secondaria ed alla corteccia insulare.

Il **sistema mediale** gioca un ruolo fondamentale nella dimensione affettiva-emozionale del dolore, cioè quella che dà origine al carattere spiacevole della sensazione dolorosa e comprende le proiezioni spinoreticolari che raggiungono il locus coeruleus, le spinomesencefaliche che proiettano alla sostanza grigia periacqueduttale ed il tratto spino-talamico che proietta ai nuclei intralaminari e mediali del talamo e quindi alla corteccia cingolata anteriore, all'amigdala, all'ippocampo e all'ipotalamo.

Appartengono al pain matrix anche aree che non fanno strettamente parte di questi due sistemi, quali la corteccia motoria primaria, l'area supplementare motoria, il cervelletto e i nuclei della base, forse coinvolte

nelle reazioni di evitamento o nei movimenti adattativi al dolore [37-39]. E' inoltre coinvolta anche la corteccia prefrontale dorsolaterale (DLPFC) la cui attivazione sembra attendere agli "aspetti cognitivi del dolore". La componente cognitiva comprende tutti quei processi che modulano la percezione del dolore come l'attenzione, l'anticipazione e la memoria per le passate esperienze dolorose [40]. Il lobo frontale potrebbe coordinare la modulazione del dolore, vista la sua importanza critica per la memoria di lavoro e le funzioni attenzionali; potrebbe idealmente essere adibito alla funzione di conservare le informazioni "dolorose" per utilizzarle successivamente [41].

Alcuni lavori recenti hanno però messo in discussione la reale esistenza di un network "dolore-specifico". Infatti la distribuzione spaziale e le risposte cerebrali ottenute tramite fMRI in seguito a una sequenza random di brevi stimoli nocicettivi e non si è rivelata sovrapponibile, anche se l'entità dell'attivazione del network è direttamente proporzionale all'intensità dello stimolo sensoriale erogato. Gli autori pertanto hanno ipotizzato che queste risposte riflettano processi cerebrali multimodali fondamentali per l'elaborazione di tutti gli stimoli sensoriali, configurando dunque il network come non "nocicettivo-specifico" [42,43].

### **POTENZIALI EVOCATI LASER (LEP)**

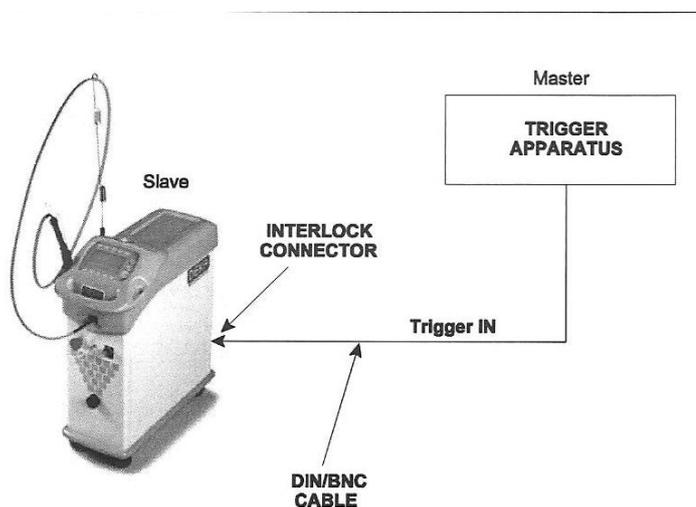
La stimolazione cutanea con il laser è stata introdotta nel 1970 e successivamente usata per evocare un potenziale corticale dolore-correlato. Il laser è infatti in grado di eccitare selettivamente le terminazioni nervose libere negli strati superficiali della cute e di attivare le fibre mieliniche A-delta e amieliniche C. Gli impulsi a bassa intensità diretti

sulla cute attivano i nocicettori evocando una sensazione puntoria e successivamente, tramite le fibre afferenti di piccolo calibro e la via spino-talamica l'informazione dolorosa è convogliata ai centri encefalici di processazione del dolore generando così un potenziale cerebrale (LEP) [44].

Tutto ciò è possibile grazie al laser che permette l'emissione di un fascio di luce coerente, monocromatica e concentrata in un raggio rettilineo estremamente collimato attraverso il processo di emissione stimolata. Esistono diversi tipi di laser il cui nome indica il materiale solido, liquido o gassoso utilizzato come mezzo attivo ad emettere una radiazione luminosa con lunghezza d'onda specifica. Il primo laser utilizzato per lo studio delle terminazioni nervose libere A-delta e C è stato il laser a CO<sub>2</sub>. Successivamente sono stati prodotti laser a stato solido che sfruttano come mezzo attivo un cristallo di ittrio e alluminio (YAG o YAP) drogato al thulium (Tm:YAG/YAP) o al neodimio (Nd:YAG/YAP). Il laser a stato solido fornisce risposte cerebrali più affidabili rispetto al laser a CO<sub>2</sub>, dovute all'emissione di radiazioni con lunghezza d'onda più corta che conseguentemente penetrano più in profondità disperdendo l'energia in un volume di pelle maggiore (la radiazione del laser CO<sub>2</sub> è maggiormente assorbita a livello dello strato dell'epidermide) [45]. Tutto si traduce in:

- minor effetto lesivo e migliore capacità di modulare gli stimoli con crescita graduale dell'energia impiegata (per produrre una sensazione simile con laser a stato solido è necessaria un'energia circa 10 volte maggiore rispetto al laser CO<sub>2</sub>);

- assorbimento diretto della radiazione da parte dei nocicettori cutanei profondi con attivazione diretta di questi ultimi e non per diffusione del calore come accade con il laser CO<sub>2</sub>;
- uno stimolo di più breve durata (nel range di 3-5 millisec) che determina un più veloce incremento della temperatura cutanea (30-45 msec). In tal modo si genera una volley afferente altamente sincronizzata con una percezione del segnale doloroso più netta e maggiormente localizzata [46,47].

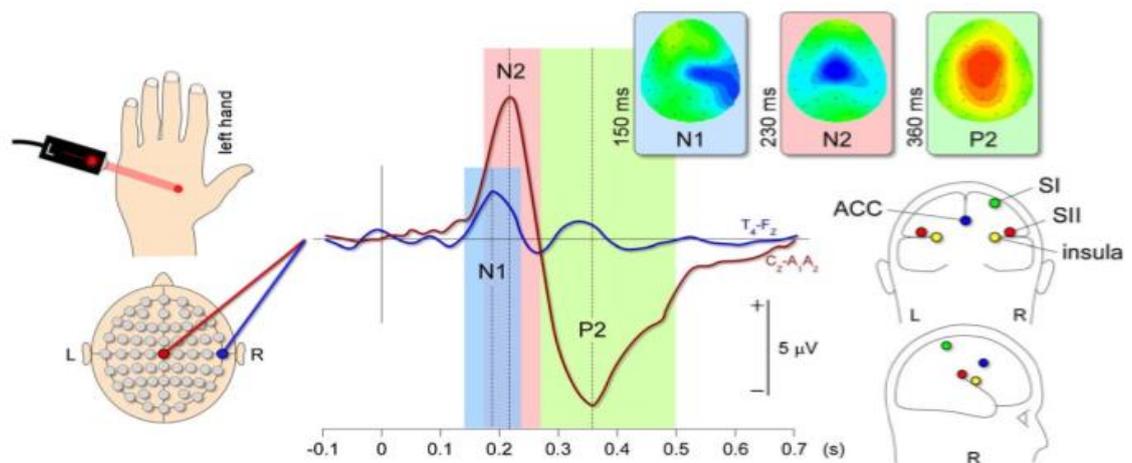


Nel caso del Nd:YAP/laser lo strumento è in grado di selezionare intensità e durata di stimolo e trasmetterlo tramite fibra ottica sull'area circoscritta in esame. Lo stimolo viene percepito come sensazione di calore più o meno intensa. Il sistema è collegato con un "cavo-trigger" a un EMGrafo cosicchè il potenziale venga registrato attraverso degli elettrodi posizionati sullo scalpo secondo il sistema 10-20 EEG in maniera similare ad un potenziale evocato. Il principale e maggiormente riproducibile segnale che viene registrato con i LEP è il complesso negativo-positivo N2-P2. Questo

potenziale pare essere generato dall'arrivo dello stimolo periferico alla corteccia cingolata anteriore con un secondario contributo dell'insula [48,49].

Il complesso N2-P2 è preceduto da una precoce e più piccola componente negativa (N1) che è lateralizzata e bilaterale, probabilmente generata dalla corteccia SII). Studi EEG e di risonanza magnetica funzionale hanno identificato nella corteccia opercolo-insulare una importante stazione nocicettiva [50].

*V. Legrain et al./Progress in Neurobiology 93 (2011) 111–124*



Esiste una correlazione positiva fra intensità dello stimolo laser, percezione dolorosa e ampiezza del potenziale N2-P2 come della componente precoce N1 [51].

Tali risposte rappresenterebbero quindi un biomarker della percezione del dolore nei soggetti sani [52]. Tuttavia diversi fattori cognitivi, come l'attenzione rivolta allo stimolo doloroso e lo stato di vigilanza, influenzano in maniera significativa l'ampiezza della componente al vertice dei LEP [53-54].

Diversi studi di fMRI così come molti esperimenti neurofisiologici suggeriscono un ruolo precoce della corteccia opercolo-insulare nella codifica dello stimolo doloroso: Schlereth et al. definiscono l'N1 (generato dalla corteccia opercoloinsulare) come un biomarker sensitivo, espressione della discriminazione precoce della componente sensitiva dello stimolo doloroso [55]. Timmerman et al. sottolineano l'importante contributo della SII nella valutazione dell'aspetto puramente sensitivo del dolore [56]. In aggiunta, trovano una dissociazione fra le due componenti del potenziale al vertice N2-P2: la correlazione fra l'ampiezza di N2 e la percezione del dolore è più significativa di quella dell'intero complesso N2-P2 e della P2 che da sola non raggiunge la significatività statistica [57]. Ciò indica un diverso contributo di N2 e P2 nella processazione dell'informazione dolorosa. Questo è particolarmente interessante anche in relazione alle evidenze che le componenti N2 e P2 sono differenzialmente modulate da compiti cognitivi [53-58] e hanno differenti generatori neurali [48]. Infatti un dipolo bilaterale nella corteccia opercolo-insulare è stato proposto come generatore della componente N2 con un contributo della controlaterale [59-63]. Inoltre una attivazione del giro postcentrale controlaterale (SI) è stato osservato all'interno della finestra temporale della N2 (con un picco che compare 20 msec dopo il generatore opercolo-insulare), la cui attività (come quello della corteccia opercolo-insulare) è significativamente aumentata durante il compito di discriminazione sensitiva dell'informazione dolorosa [64]. Comunque la chiara dissociazione che è stata trovata tra l'ampiezza dell'N2-N1 da un lato e della P2 dall'altro, suggerisce un ruolo minore della corteccia cingolata nella codifica dell'intensità dell'informazione dolorosa, se

comparata con la corteccia opercolo-insulare e con la SI. Quindi l'ampiezza della componente precoce N1 e della componente N2 dei LEP correla significativamente con la percezione soggettiva dell'intensità del dolore indicando che la corteccia opercolo-insulare e la SI sono fondamentali nella quantizzazione del dolore in fase iniziale [57]. Tutto questo suggerisce che il nostro sistema somatosensoriale codifica prima l'informazione puramente sensoriale e soltanto successivamente viene arricchita degli aspetti affettivo-motivazionali (attivazione della ACC) per produrre l'esperienza completa del dolore.

### **L'attenzione**

L'intensità e la "spiacevolezza" attribuita allo stimolo doloroso sono fortemente modulate dall'attenzione ad esso rivolta: gli elementi comportamentali-affettivi e sensori-discriminativi della percezione del dolore sono ridotti in situazioni distraenti, in ragione del feedback operato dalle aree cognitive di ordine superiore (65).

Peyron et al. nel 1999 [40] hanno applicato uno stimolo termico sulla cute di soggetti sani in tre diverse condizioni: in assenza di compito attenzionale, in presenza di uno stimolo distrattivo di tipo uditivo ed in un contesto di attenzione rivolta verso lo stimolo doloroso. La VAS era significativamente più bassa in presenza dello stimolo distraente. Per mezzo della PET, gli autori hanno dimostrato che le regioni che presentavano un aumento di flusso cerebrale in tutte e tre le condizioni erano l'insula e l'SII. Quando il soggetto era "distratto del dolore" si verificava una diminuzione della sensazione dolorosa rispetto alle precedenti condizioni ed un aumento del flusso ematico cerebrale in corrispondenza della ACC. E' stato dunque individuato all'interno del pain matrix un "*intensity coding*

*matrix*” sovrapposto ad un “*attentional network*”. Il primo comprendeva l’insula anteriore, la corteccia somatosensitiva bilateralmente ed il talamo controlaterale, il secondo una rete più estesa, costituita da entrambi i talami, la corteccia parietale posteriore, la corteccia prefrontale e la corteccia cingolata anteriore, quest’ultima maggiormente attivata in presenza dello stimolo distraente.

### **QUANTITATIVE SENSORY TESTING (QST):**

Misure della soglia sensitiva, della tolleranza e delle risposte agli stimoli sopra-soglia sono state oggetto di indagine in numerosi studi. In particolare, l’introduzione del “*Quantitative sensory testing*” (QST) nella pratica clinica si deve al gruppo di lavoro di Fruhstorfer e Lindblam che hanno sviluppato una tecnica per descrivere quantitativamente la sensibilità termica e il grado di disfunzione in pazienti affetti da patologie neurologiche [66]. Nel corso delle ultime due decadi sono stati sviluppati differenti protocolli di stimolazione sensitiva complementari all’esame clinico neurologico, in grado di valutare il ruolo di sistemi sensitivi non esplorabili con le classiche metodiche elettrofisiologiche.

Il QST è infatti una metodica in grado di studiare la funzionalità sia delle grosse fibre mieliniche che le piccole fibre mieliniche e amieliniche, incluse le fibre nocicettive, mediante l’applicazione di stimoli termici e meccanici di differente qualità ed entità. Rappresenta pertanto un metodo non invasivo per valutare quantitativamente sia la perdita che l’aumento di funzione delle piccole fibre mediante l’analisi della percezione sensitiva in risposta a stimoli esterni di intensità controllata e in una determinata area corporea [67,68]. Sulla base di ciò, il QST è in grado di contribuire alla diagnostica

delle neuropatie, sia dolorose che non dolorose, e alla comprensione dei meccanismi sottesi al dolore neuropatico [69]. La sensibilità meccanica per stimoli tattili si valuta utilizzando le setole di Von Frey o i monofilamenti di Semmes-Weinstein [70], la sensibilità puntoria con un ago calibrato [71] e pallestesica con un vibrametro [72], mentre la sensibilità termica con una sonda che sfrutta il principio di Peltier [66, 73]. Purtroppo le anomalie osservate al QST non sono specifiche per dolore di tipo neuropatico, riscontrandosi anche in corso di dolore di tipo nocicettivo. Inoltre la metodica si serve di apparecchiature costose e richiede tempi di esecuzione non sempre disponibili durante l'attività clinica di routine. Tuttavia il QST si è rivelato utile per valutare gli effetti delle terapie su allodinia e iperalgesia o su specifiche componenti del dolore [74].

Gran parte dei protocolli di QST include il rilevamento del dolore e la valutazione della sua soglia in risposta alla somministrazione di stimoli termici e meccanici. Generalmente viene applicato uno stimolo ad intensità crescente o decrescente e il paziente è invitato a segnalare mediante apposita pulsantiera l'istante in cui percepisce lo stimolo (metodo dei limiti); la soglia viene calcolata sulla base della media di una serie di trials. Alternativamente, possono essere applicati una serie di stimoli di diversa intensità e, dopo ogni singola prova, al soggetto viene chiesto se lo stimolo è stato percepito o meno (metodo dei livelli). Chiaramente questo secondo metodo non risente del tempo di reazione del soggetto tuttavia risulta più indaginoso e necessita di maggiori tempi di esecuzione [75]. Infine poiché il QST è basato su un metodo di analisi psicofisica, affinché esso sia applicabile è fondamentale che il soggetto sia collaborante ed in grado di comprendere le istruzioni ricevute.

Un protocollo ampiamente validato di QST è quello proposto dalla German Research Network of Neuropathic Pain (DFNS) [76]. Esso tiene conto sia dei fenomeni sensitivi negativi (ipoestesia, ipoalgesia), che positivi (allodinia e iperalgesia) in risposta a differenti modalità sensitive (termiche e meccaniche). La rilevazione delle soglie termiche (al caldo e al freddo) e meccaniche (tattile e vibratoria) valutano la funzionalità delle piccole e delle grosse fibre (incluse le loro proiezioni centrali) e sono utili in particolare per valutare un deficit sensitivo. Per determinare la soglia termica, uno stimolatore termico poggiato sulla cute, viene preventivamente portato alla temperatura di partenza di 32 °C. Il paziente viene quindi invitato a premere un pulsante non appena percepisce una riduzione di temperatura: ciò permette di esaminare la soglia termica per il freddo, funzione delle fibre A-delta (**CDT**: cold detection threshold). Successivamente, per valutare la soglia termica per il caldo, funzione delle fibre C, il termistore viene progressivamente riscaldato e il soggetto è invitato ad indicare quando percepisce il rialzo termico (**WDT**: warm detection threshold). In aggiunta viene valutata l'eventuale comparsa di sensazioni termiche parossistiche (PHS: paradoxical heat sensation). Il numero delle sensazioni parossistiche viene identificato con il numero di stimoli freddi percepiti come brucianti e dolorosi. Le soglie dolorifiche da stimolo freddo, caldo, ma anche puntorio e pressorio, vengono valutate allo scopo di ricercare la presenza di ipoalgesia o iperalgesia. Nel corso della valutazione del dolore da stimolo termico, erogato con intensità progressivamente crescente o decrescente, il paziente viene invitato a segnalare non appena avverte una sensazione di dolore (**CPT**: cold pain threshold; **HPT**: heat pain threshold).

Per costruire una curva stimolo-risposta vengono applicate differenti intensità di stimoli e chiesto al paziente di fornire, per ognuno di essi, una valutazione quantitativa della propria percezione sulla base di una scala visuo-analogica (VAS) o numerica (NRS). Il giudizio quantitativo fornito dal paziente serve a costruire la curva stimolo-risposta, la quale è utile per valutare l'eventuale presenza di iperalgesia o allodinia.

La gran parte dei dati normativi disponibili è stata ricavata da soggetti sani mediante la somministrazione del protocollo DFNS. Tali dati sono stati categorizzati sulla base del sesso e divisi in fasce d'età (decadi), distinti per distretti corporei, coerentemente con gli studi precedenti [76].

Dai dati normativi si rileva che i valori di soglia termica sono per lo più indipendenti dal sesso mentre esiste una significativa differenza di soglia per il dolore tra il sesso femminile (più sensibile) e quello maschile. Queste differenze sono meno marcate in età infantile. Vari studi hanno dimostrato una sufficiente affidabilità dei risultati ottenuti col QST, sia in pazienti che in soggetti sani; in particolare il protocollo DFNS si è dimostrato affidabile proprio in pazienti affetti da dolore neuropatico e, sebbene lievi alterazioni sensitive possano ritrovarsi anche in condizioni di dolore non-neuropatico, il QST rimane un valido strumento per identificare una riduzione o un incremento della sensibilità [68].

Come detto, il QST richiede l'attiva partecipazione del paziente che dovrà pertanto essere valutato preventivamente, soprattutto dal punto di vista della capacità di collaborare e della suscettibilità all'affaticamento. Requisiti fondamentali ai fini dell'esecuzione del test saranno dunque la sua capacità di comunicazione verbale e la sua integrità cognitiva. Importante anche escludere la presenza di importanti patologie o terapie

psichiatriche nonché tentativi di simulazione di malattia. Premesso ciò, va posta particolare attenzione alla scelta dell'area corporea da analizzare. Come raccomandato da lavori precedenti [19,77], il QST dovrebbe essere eseguito nelle aree corporee maggiormente interessate dal dolore, ai fini di valutare il particolare rapporto tra dolore e profilo sensitivo. Tuttavia, può essere ragionevole l'esecuzione del test nel maggior numero di aree corporee possibile e, se necessario, ripetere l'esame in momenti differenti [78].

Alcuni limiti del QST dipendono direttamente dal protocollo DFNS il quale, per evitare di arrecare danni cutanei, ha ovviamente fissato dei limiti massimi di stimolazione, ad esempio a 50 °C per la stimolazione termica: ciò potrebbe non consentire di valutare l'eventuale presenza di lieve ipoalgesia (eccetto che nel caso in cui si possa rilevare una differenza con aree controlaterali).

In conclusione il QST è un metodo validato, non invasivo, per valutare la presenza di sofferenza delle piccole fibre mieliniche e amieliniche, indipendentemente dall'origine, con una sensibilità compresa tra il 36-85% [79]. Mentre la biopsia di cute è un metodo di valutazione morfologica dove l'esame istologico mostra inevitabilmente la riduzione della densità di fibre intraepidermiche, il QST termico si basa su una valutazione puramente funzionale che risente di numerosi meccanismi secondari quali la plasticità centrale. Pertanto in caso di sospetta neuropatia, un incremento delle soglie termiche al QST può portare alla diagnosi clinica ma un normale profilo sensitivo non può escludere il deficit delle piccole fibre e necessita di essere confermato mediante ulteriori analisi, tra cui appunto la biopsia di cute.

## **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

Obiettivo dello studio è quello di valutare specifici profili neurofisiopatologici in pazienti affetti da possibile dolore neuropatico. Per far ciò sono state analizzate le possibili correlazioni e influenze reciproche dei principali parametri neurofisiologici ottenuti con LEP e QST.

## **MATERIALI E METODI**

Lo studio prosegue una ricerca iniziata a Gennaio 2012 con la collaborazione tra la U.O. di Neurofisiologia dell’Arcispedale S. Anna di Cona, le UOS di Neurofisiopatologia del Policlinico “Paolo Giaccone” e Ospedale “Villa Sofia” di Palermo.

Sono stati esaminati 57 soggetti di età adulta con sintomatologia dolorosa monolaterale o comunque significativamente asimmetrica da oltre 6 mesi, con localizzazione del dolore alla porzione distale degli arti inferiori (“**AAII**”), degli arti superiori (“**AASS**”), al volto (“**VISO**”) e in conseguenza di una lesione a carico del SNC (“**CENTRALE**”) [Tabella 1]. Prima dell’esecuzione dei test i pazienti sono stati esaminati clinicamente per confermare che l’anamnesi e la distribuzione del dolore fossero compatibili con una possibile origine neuropatica del disturbo secondo il *grading* stilato da Treede et al. [19].

**Tabella 1.** Caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione.

	<b>ARTI INFERIORI</b>	<b>ARTI SUPERIORI</b>	<b>VISO</b>	<b>CENTRALE</b>
<b>n</b>	23	4	23	7
<b>Age</b>	52 (16)	45 (15)	54 (14)	46 (13)
<b>Women</b>	11	3	17	4
<b>Sintomi positivi</b>				
<b>YES</b>	9	3	8	7
<b>NO</b>	14	1	15	0
<b>Profili sensitivi</b>				
<b>No</b>	9	2	5	0
<b>N</b>	7	1	11	6
<b>Y</b>	7	1	7	1

I dati sono medie (deviazione standard) o quantità n. No= normali, N= un solo test tra QST o LEP positivo, Y= QST e LEP patologici.

In ogni seduta, sono state valutate prima le soglie psico-fisiche con QST termico (tQST) e successivamente l'integrità della via spino-talamica tramite LEP nelle aree in cui il paziente lamentava il dolore.

Per lo studio delle soglie psicofisiche termo-algesiche mediante QST la registrazione è stata fatta con sistema Medoc (Medoc Thermal Sensory Analyser, TSA-2001, Israele), costituito da un modulo di registrazione collegato ad un personal computer dotato di software specifico e ad un termodo di dimensioni 30 x 30 mm per gli arti e 5 x 5 mm per il volto, la cui temperatura viene controllata in modo continuo da un meccanismo a feedback. E' stato utilizzato il metodo dei limiti con stimoli crescenti di 1 °C al secondo a partire da 32 °C. La prima fase dell'esame è stata mirata all'individuazione delle soglie termiche per cui il soggetto veniva istruito a interrompere rapidamente (mediante click su un pulsante del mouse) lo

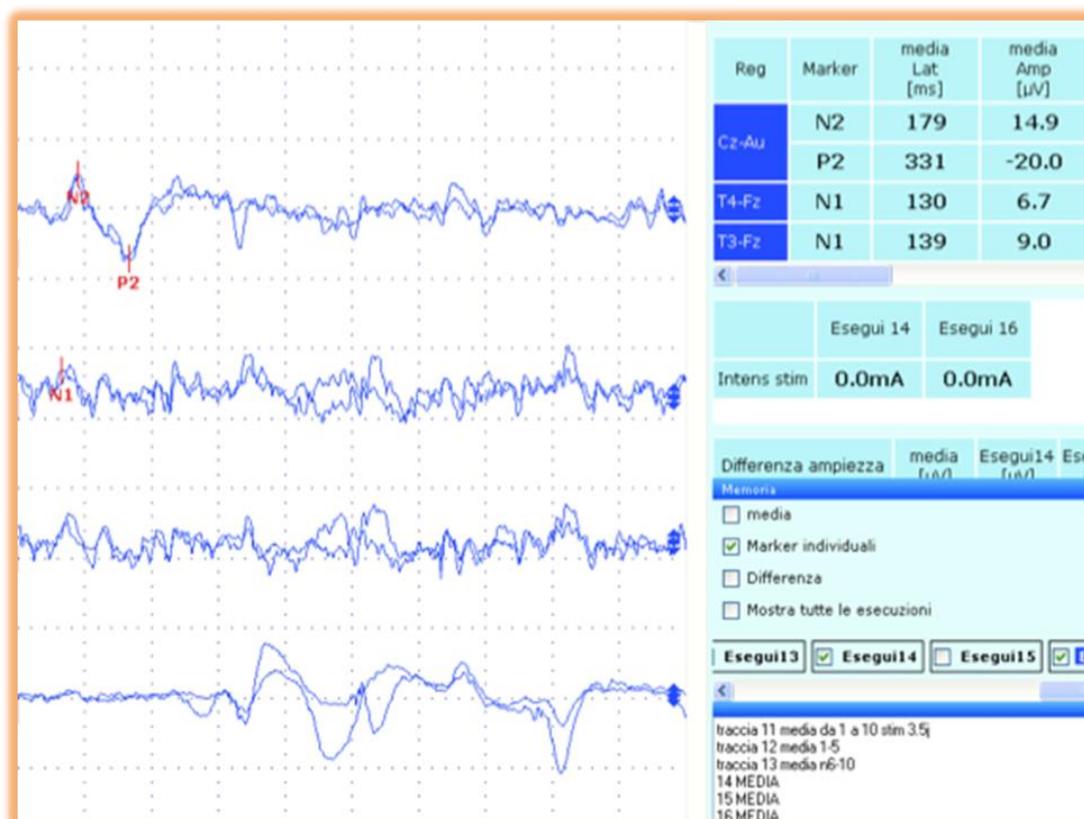
stimolo termico non appena avvertito. Sono state in questo modo registrate le soglie termiche per il caldo e per il freddo. La seconda parte dell'esame mirava invece ad individuare le soglie algesciche mediante la somministrazione di stimolo termico ad intensità crescente sino ad un massimo di 50 °C e decrescente sino ad un minimo di 0 °C.

Il test per la valutazione delle soglie termiche è stato ripetuto 4 volte per ogni modalità termica e quello per le soglie algesciche 3 volte per ogni modalità. Abbiamo ottenuto in questo modo, per ogni sito di registrazione, 4 misurazioni della soglia di sensibilità fredda (Cold Sensibility, CS), 4 misurazioni della soglia di sensibilità calda (Warm Sensibility, WS), 3 misurazioni della soglia di dolore freddo (Cold Pain, CP) e 3 misurazioni della soglia per il dolore caldo (Heat Pain, HP), da cui è stata poi ricavata la media per la definizione delle soglie (CDT, WDT, CPT e HPT rispettivamente). Nei pazienti del nostro studio abbiamo applicato la metodica sopradescritta in corrispondenza delle aree algiche in differenti siti: regione dorsale del piede e terzo superiore della gamba per gli AAll, dorso dell'avambraccio e della mano per gli AASS, territori di pertinenza delle tre branche trigeminali per il VISO. Per quanto riguarda i pazienti nel gruppo CENTRALE, le aree testate sono state maggiormente eterogenee. Le sensazioni abnormi (errori qualitativi, allodinia o iperalgesia) e la presenza di aftersensation (persistenza dello stimolo doloroso dopo che esso è già stato rimosso) sono state annotate come "fenomeni positivi" durante l'esecuzione della prova. Il test è stato considerato positivo se  $\geq 1$  soglia sensitiva (CDT o WDT) risultava alterata secondo valori di riferimento noti in letteratura poiché le soglie dolorose non vengono solitamente considerate affidabili a causa della elevata variabilità inter-

soggetto [80].

Successivamente, in tutti i soggetti è stata valutata la risposta algica alla stimolazione laser sul dorso del piede, della mano o dell'emivolto interessato. L'intensità della sensazione dolorosa è stata valutata tramite la Numerical Rating Scale (NRS): una scala di valutazione del dolore i cui valori vanno da da 0 a 10, ove 0 corrisponde a una sensazione non dolorosa e 10 a una sensazione di dolore insopportabile. Durante la registrazione dei LEP i soggetti venivano fatti sdraiare su un lettino in un ambiente caldo e confortevole. E' stato loro chiesto di rimanere vigili, rilassati e con gli occhi aperti. Sono stati inoltre forniti degli occhiali protettivi per evitare danni accidentali alla retina. I LEP sono stati registrati utilizzando degli elettrodi di superficie posizionati su Cz con riferimento bi-auricolare e su T3-T4 con riferimento su Fz. Altri due elettrodi sono stati posizionati sul muscolo orbicolare dell'occhio omolaterale alla sede di stimolazione, per registrare l'elettrooculogramma (EOG). Lo stimolo laser è stato somministrato attraverso laser Nd-YAP sul territorio interessato (durata dello stimolo 5 ms con diametro di 5 mm). La soglia del dolore indotto dal laser (TPh) è stata stabilita per ogni seduta somministrando una serie di stimoli ad intensità crescente con steps di 0.5 J. E' stata utilizzata l'intensità di stimolazione laser (espressa in Joule) in grado di indurre una sensazione puntoria dolorosa moderata-severa (> 5 secondo NRS). Quindi sono stati somministrati venti stimoli laser, ogni stimolo era separato dal successivo da un intervallo di 10 secondi per ridurre al minimo il fenomeno dell'abitudine [81]. E' stata pertanto effettuato una media dei 20 stimoli laser somministrati, escludendo quelli in cui il potenziale al vertice (N2-P2) poteva essere influenzato dal blink. Sono

state valutate la latenza al punto di deflessione iniziale (**LatN2**) e l'ampiezza media del potenziale al vertice N2-P2 nel suo complesso (**AmpN2-P2**) e nelle sue singole componenti (**AmpN2** e **AmpP2**) e della N1 (**LatN1** e **AmpN1**) controlaterale alla sede dello stimolazione laser, e confrontate con i valori di riferimento [82]. Incrementi di latenza, riduzione di ampiezza o assenza di segnale sono state considerate come indici di un esame patologico.



## LA PROCEDURA SPERIMENTALE

I pazienti sono stati valutati dal punto di vista clinico-anamnestico così da confermare la presenza di dolore neuropatico possibile. Tutti i soggetti sono stati informati della procedura sperimentale ed è stato chiesto loro di firmare un consenso informato. Ogni soggetto è stato quindi sottoposto a

una seduta di QST seguita da una di LEP durante la stessa giornata.

## **ANALISI STATISTICA**

L'analisi statistica è stata condotta globalmente in tutti i pazienti e successivamente nei sottogruppi costituiti sulla base della distribuzione del dolore (AAll e VISO. AASS e CENTRALE non sono stati considerati singolarmente in virtù del ridotto numero). Mediante test di correlazione di Spearman è stata quantificata l'intensità del legame tra i principali parametri di QST (CDT, WDT, CPT e HPT) e LEP (LatN2, AmpN2, AmpP2, AmpN2-P2, LatN1 e AmpN1). L'influenza di fattori come sesso, presenza di sintomi positivi all'esame clinico e/o al QST (e.g., allodinia, *aftersensation*), o dei diversi profili sensitivi (**Y**:  $\geq$  un parametro di entrambi QST e LEP alterato; **N**:  $\geq$  un parametro di QST o LEP alterato; **No**: nessun parametro alterato) sui LEP è stata analizzata attraverso il test di Kruskal-Wallis e nel post-hoc (in caso di significatività) con il Mann-Whitney test. I test neurofisiologici sono stati considerati patologici in base a valori assoluti di riferimento. Nel caso di valori entro il range di normalità, sono state confrontate le differenze delle zone affette-sane e confrontate con le differenze lato-lato descritte nei soggetti sani (69, 93). La significatività statistica è stata considerata per  $p < 0.05$ .

## **RISULTATI**

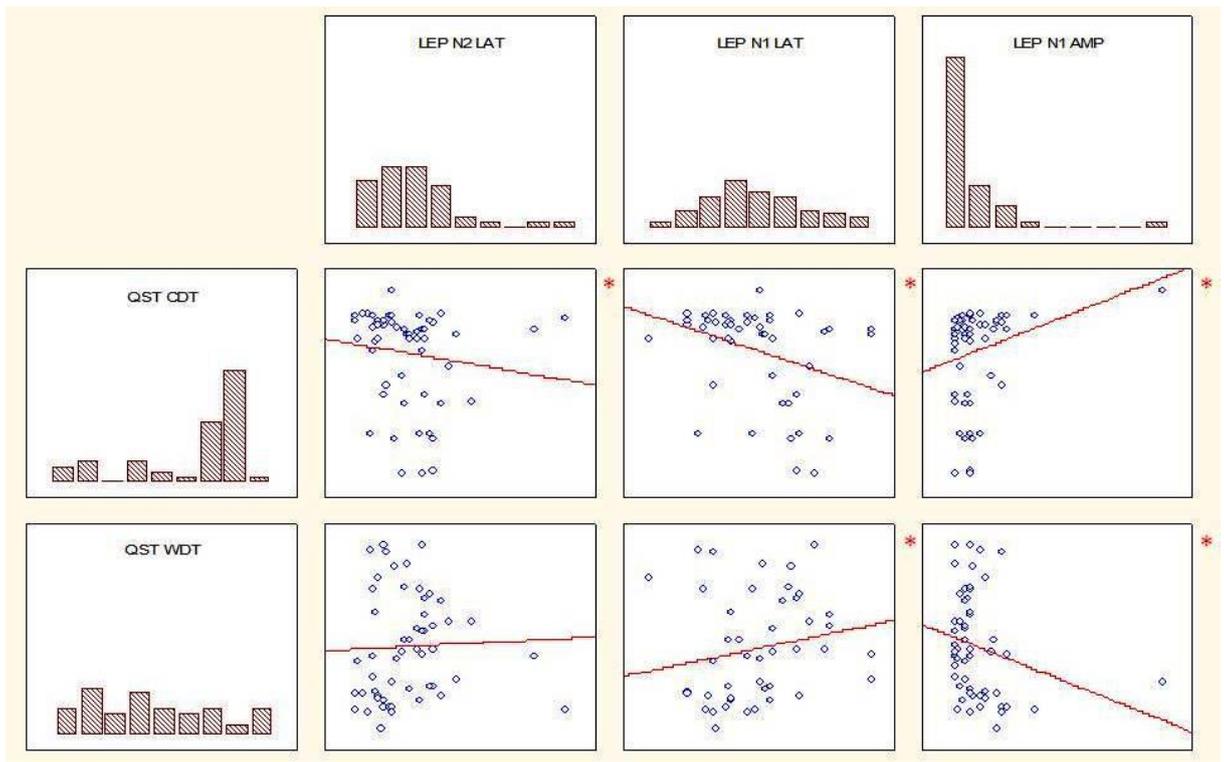
- **Globale (AAll, AASS, VISO E CENTRALE):**

Non sono stati osservati o riferiti eventi avversi durante l'esecuzione dei test né nei 30 giorni successivi. Il 61% dei pazienti è risultato di genere femminile (con prevalenza nei pazienti con dolore localizzato al volto),

con differenze di età non significative tra i gruppi. Valori alterati al QST sono stati riscontrati nel 60% di tutti i pazienti (57% agli AAll, 25% agli AASS, 57% al VISO, 100% nei pazienti di tipo CENTRALE), mentre i LEP risultavano patologici nel 40% dei casi (35% AAll, 50% AASS, 52% VISO, 14% CENTRALE). La contemporanea positività di LEP e QST si è riscontrata nel 28% di tutti soggetti analizzati (30% AAll, 25% AASS, 30% VISO, 14% CENTRALE).

Il test di correlazione di Spearman condotto su tutti i pazienti ha evidenziato le seguenti correlazioni significative (Figura 1):

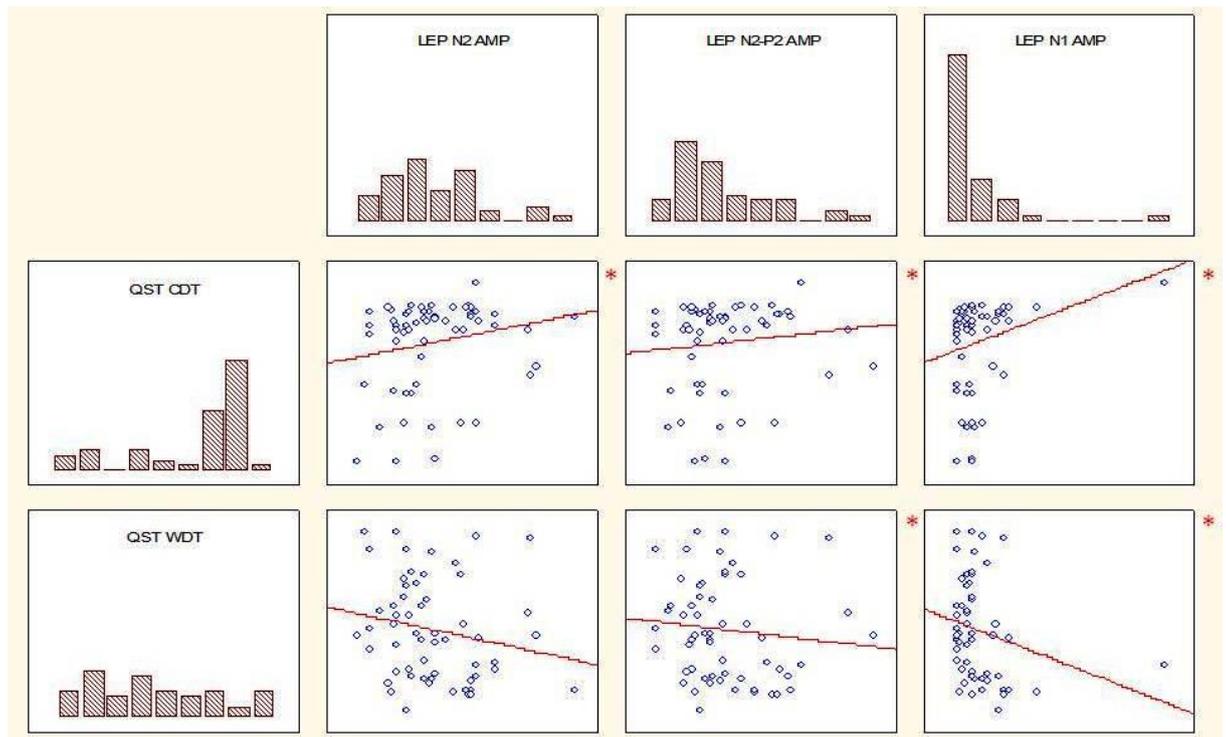
- Inversa tra CDT e LatN2 ( $\rho = -0.30$ ;  $p = 0.03$ )
- Inversa tra CDT e LatN1 ( $\rho = -0.40$ ;  $p = 0.005$ )
- Diretta tra CDT e AmpN1 ( $\rho = 0.29$ ;  $p = 0.03$ )
- Diretta tra WDT e LatN1 ( $\rho = 0.30$ ;  $p = 0.04$ )
- Inversa tra WDT e AmpN1 ( $\rho = -0.28$ ;  $p = 0.03$ )



**Figura 1:** correlazione tra soglie termiche al freddo/caldo (CDT/WDT), latenze N2/N1 (N2 LAT e N1 LAT) e ampiezza N1 (N1 AMP). Correlazione inversa tra CDT e N2 LAT ( $p=0.03$ ) e N1 LAT ( $p=0.005$ ), WDT e N1 AMP ( $p=0.03$ ), diretta tra WDT e N1 LAT ( $p=0.04$ ), CDT e N1 AMP ( $p=0.03$ ). “\*” indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

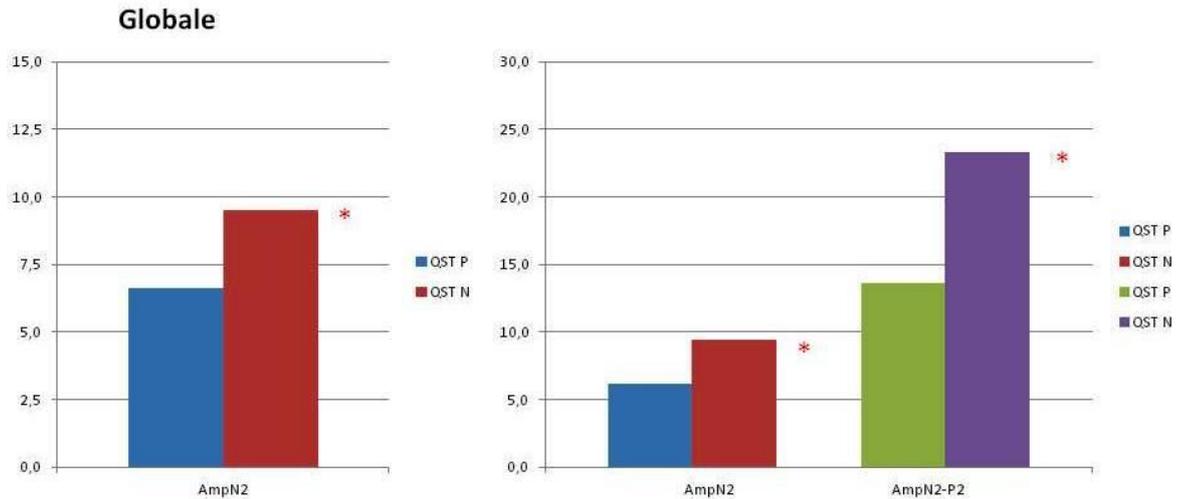
Considerando solo i soggetti con LEP patologici sono risultate le seguenti correlazioni (Figura 2):

- Diretta tra CDT e AmpN2 ( $\rho= 0.49$ ;  $p=0.02$ )
- Diretta tra CDT e AmpN2-P2 ( $\rho= 0.46$ ;  $p=0.03$ );
- Diretta tra CDT e AmpN1 ( $\rho= 0.53$ ;  $p=0.01$ )
- Inversa tra WDT e AmpN2-P2 ( $\rho= -0.43$ ;  $p=0.04$ )
- Inversa tra WDT e AmpN1 ( $\rho= -0.51$ ;  $p=0.01$ )



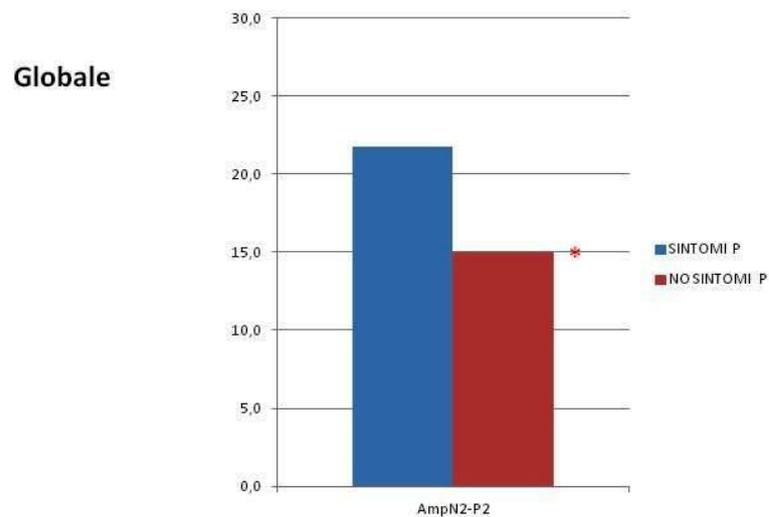
**Figura 2:** correlazione tra soglie termiche al freddo/caldo (CDT/WDT), ampiezza N2 e N2-P2 (N2 AMP e N2-P2 AMP) e ampiezza N1 (N1 AMP) in pazienti con LEP patologici. Correlazione diretta tra CDT e N2 AMP ( $p=0.02$ ), N2-P2 AMP ( $p=0.03$ ) e N1 AMP ( $p=0.01$ ), inversa tra WDT e N2-P2 AMP ( $p=0.04$ ) e N1 AMP ( $p=0.01$ ). “\*” indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

Il test di Kruskal-Wallis ha mostrato una differenza significativa nei valori del LEP in pazienti con QST patologico rispetto a pazienti con soglie termiche normali. Il post-hoc ha quindi confermato una riduzione significativa di AmpN2 in pazienti con soglie termiche alterate ( $p=0.04$ ). Nei pazienti con LEP patologici, le ampiezze di N2 e N2-P2 erano maggiormente ridotte in chi aveva anche il QST alterato ( $p=0.01$  e  $p=0.03$  rispettivamente, Figura 3).



**Figura 3:** La presenza di soglie psicofisiche (QST) patologiche si associa a decremento significativo di ampiezza della componente N2 (AmpN2) in pazienti con LEP normali (a sinistra,  $p=0.04$ ), N2 e N2-P2 (AmpN2-P2) nei patologici (a destra,  $p=0.01$  e  $p=0.03$ , rispettivamente). “\*” indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

Infine la presenza di sintomi positivi si associa a un significativo incremento della N2-P2 rispetto a chi non lamentava parestesie/disestesie né presentava fenomeni allodinici e aftersensation al QST ( $p=0.04$ ) (Figura 4).

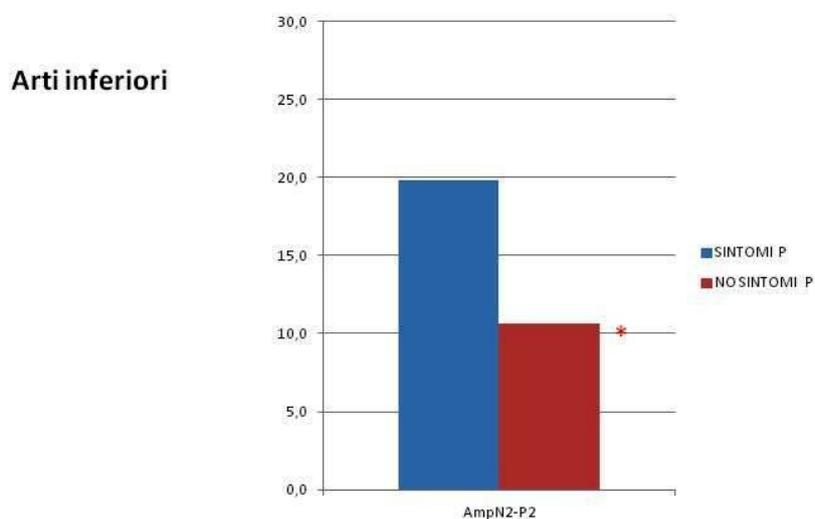


**Figura 4:** La presenza di sintomi positivi valutati clinicamente o al test con soglie psicofisiche (QST) si associa a incremento significativo di ampiezza della componente N2-P2 (AmpN2-P2) ( $p=0.04$ ). “\*” indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

All'interno della nostra popolazione il sesso femminile ha presentato soglie termiche CDT e WDT ( $p=0.01$  e  $p=0.003$ ) e termoalgesiche CPT e HPT ( $p=0.02$  e  $p=0.001$ ) più basse rispetto a quelli degli uomini. Tale differenza si mantiene solo per le soglie al caldo qualora siano considerati solo i test patologici (WDT  $p=0.04$  e HPT  $p=0.001$ ).

### Arti inferiori/AAll:

Nessun parametro dei potenziali evocati laser sembra correlato a anomalie delle soglie termiche in pazienti con dolore localizzato agli arti inferiori. Si conferma invece una maggiore ampiezza di N2-P2 in pazienti con sintomi positivi rispetto a coloro che non li riferiscono ( $p=0.04$ ) (Figura 5).

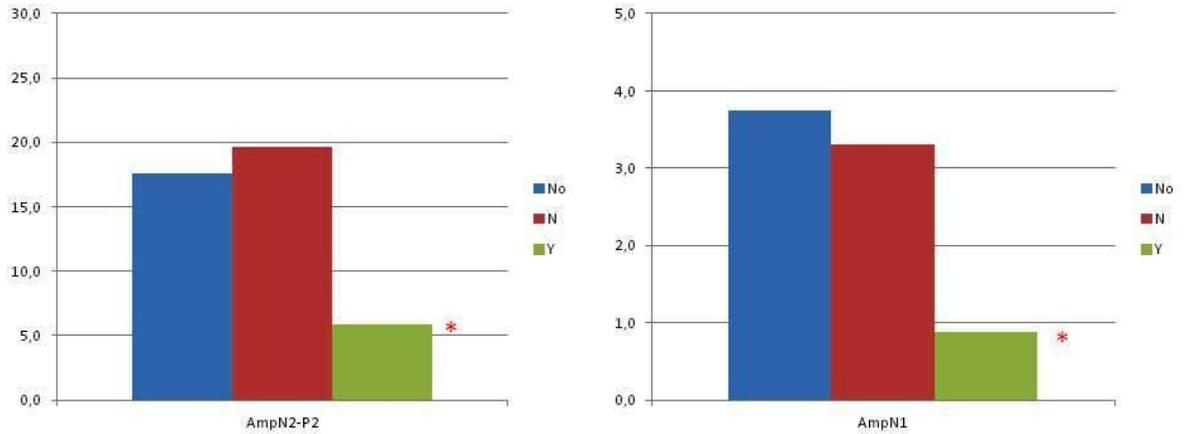


**Figura 5:** La presenza di sintomi positivi valutati clinicamente o al test con soglie psicofisiche (QST) si associa a incremento significativo di ampiezza della componente N2-P2 (AmpN2-P2) ( $p=0.04$ ). "\*" indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

Una riduzione significativa di ampiezza N2-P2 e N1 è risultata in coloro che avevano sia LEP che QST positivi (Y) rispetto ai soggetti con entrambi gli esami negativi (No) ( $p=0.01$ ,  $p=0.04$  rispettivamente) o con singolo test

positivo (N) ( $p=0.02$ ,  $p=0.02$ ) (Figura 6). Nessuna correlazione tra soglie termiche e valori dei potenziali evocati laser ha raggiunto la significatività.

### Arti inferiori



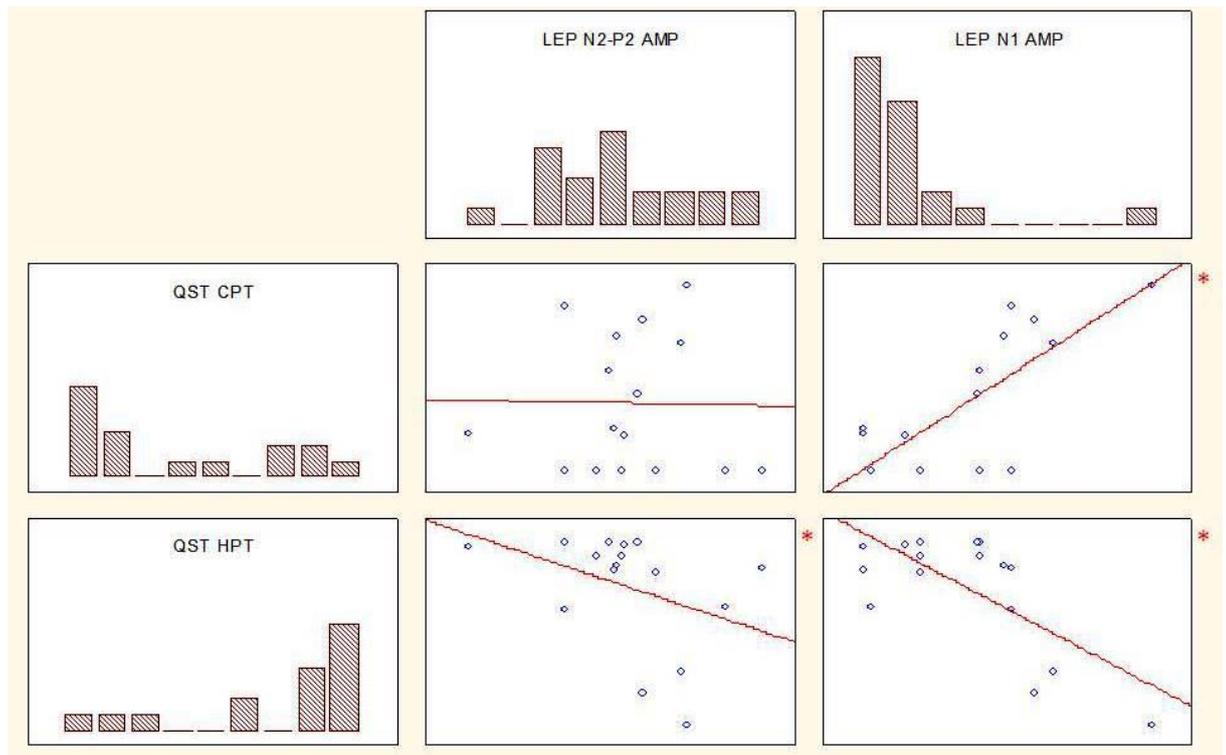
**Figura 6:** Una riduzione di ampiezza di N2-P2 (AmpN2-P2) e N1 (AmpN1) è osservabile in coloro che avevano sia LEP che QST positivi (Y) rispetto ai soggetti con entrambi gli esami negativi (No) ( $p=0.01$ ,  $p=0.04$ , rispettivamente) o con singolo test positivo (N) ( $p=0.0005$ ,  $p=0.02$ , rispettivamente). "\*" indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

### Volto/VISO:

Per quanto riguarda soggetti con dolore localizzato in territorio trigeminale

è stata osservata una correlazione significativa (Figura 7):

- Diretta tra CPT e AmpN1 ( $\rho=0.61$ ;  $p=0.01$ )
- Inversa tra HPT e AmpN2-P2 e AmpN1 ( $\rho=-0.51$ ;  $p=0.04$ )
- Inversa tra HPT e AmpN1 ( $\rho=-0.51$ ;  $p=0.04$ )



**Figura 7:** correlazione tra soglie termoalgesiche al freddo/caldo (CPT/HPT), ampiezza N2-P2 (N2-P2 AMP) e N1 (N1 AMP). HPT mostra correlazione inversa con N2-P2 AMP ( $p=0.04$ ) e N1 AMP ( $p=0.04$ ). CPT diretta con N1 AMP ( $p=0.01$ ). “\*” indica significatività statistica ( $p<0.05$ ).

Anomalie del QST non sembrano influenzare i parametri dei LEP e, nonostante una tendenziale riduzione di AmpN2, non si evidenziano differenze significative in pazienti con potenziali evocati alterati rispetto ai normali.

Non vi è differenza significativa dei LEP in chi ha sintomi positivi rispetto a chi non ne ha né differenze significative di genere nelle soglie termiche e termoalgesiche.

## DISCUSSIONE

I risultati di questo studio mostrano una bassa percentuale di LEP positivi in corso di possibile neuropatia delle piccole fibre agli arti inferiori, mentre un QST negativo permette di escludere con buon margine di sicurezza la presenza di un danno delle piccole fibre. Purtroppo la positività al QST

non basta a far diagnosi di neuropatia o sofferenza delle piccole fibre [83,84]. Al contrario, nei pazienti con nevralgia trigeminale (sia idiopatica che secondaria) esiste una buona concordanza tra LEP e QST, con una maggiore percentuale di soggetti affetti e QST e LEP positivi [85]. La variabilità di genere delle soglie termiche e termoalgistiche, con una maggiore responsività delle donne agli stimoli, conferma dati già emersi in letteratura [69].

I test hanno evidenziato una correlazione inversa tra la soglia di sensibilità a stimolo freddo e le latenze di N2 e N1, con un incremento della latenza di risposta a stimolo laser che si associa a una ridotta percezione del freddo potrebbe essere giustificata da un danno preminente delle fibre A-delta. La stessa associazione si verifica tra la latenza di N1 e la risposta a stimolo caldo al QST. Anche l'ampiezza di N1 (la risposta neurofisiologica che alcuni correlano maggiormente alla reale percezione dello stimolo, scevro delle sue componenti attentive ed emozionali) si riduce parallelamente a ridotta percezione degli stimoli caldi e freddi somministrati con il termodo [61]. Se considerati esclusivamente i pazienti con LEP alterati, vi è una netta concordanza tra l'aumento della soglia di percezione di freddo e caldo e una ridotta ampiezza dei potenziali evocati corticali: un danno a carico del sistema nocicettivo a qualsiasi livello giustificerebbe infatti la ridotta percezione dello stimolo termico [86-88]. I risultati alquanto sovrapponibili tra le diverse soglie di sensibilità sembrano non evidenziare l'esistenza di circuiti distinti nella trasmissione nocicettiva di stimoli caldi e freddi, e in tal senso precedenti studi escluderebbero la presenza di diverse aree soprasedgmentarie di proiezione per fibre A-delta e C [89].

L'incremento di ampiezza del potenziale al vertice N2-P2 in pazienti con sintomi positivi appare congruo rispetto alla presenza di fenomeni di sensibilizzazione centrale e periferica, frequente nei pazienti con dolore.

Una persistente attivazione dei nocicettori che diventano ipereccitabili e l'aumentata espressione di recettori per Na<sup>+</sup> e Ca<sup>++</sup> possono causare un aumento di scarica delle fibre A-delta e C e di sensibilità a mediatori algogeni come la noradrenalina o peptidi come la sostanza P, creando un meccanismo di "rinforzo" [90]. Nel caso di sofferenza assonale si può inoltre manifestare il fenomeno dell' *injury discharge*, una depolarizzazione con scarica autonoma da parte delle fibre responsabile di dolore spontaneo [25]. La contemporanea presenza di sintomi negativi e positivi in pazienti con dolore neuropatico infatti sembra trovar fondamento nello sviluppo di foci di iperfunzione del sistema nervoso a monte delle aree danneggiate. Una lesione neurogena periferica, oltre a modifiche recettoriali perilesionali, facilita l'instaurarsi di attività ectopica parossistica a livello dei gangli delle radici dorsali o del midollo spinale [91]. L'eventuale instaurarsi di allodinia meccanica con coinvolgimento delle fibre A-beta nella errata interpretazione "dolorosa" di uno stimolo sensoriale non nocivo e infine una plausibile maggiore "attenzione" agli stimoli da parte di pazienti con importanti fenomeni positivi, potrebbero giustificare un ulteriore incremento di ampiezza di N2-P2 a livello corticale [92]. Sebbene i valori normativi in letteratura abbiano intervalli piuttosto ampi e non prevedano dei limiti superiori considerati patologici, il nostro studio conferma infatti che soggetti con sintomi positivi presentino ampiezze maggiori della componente monolaterale corticale.

Nei pazienti con sintomatologia dolorosa agli arti inferiori soglie termiche alterate non si associano a variazioni significative delle risposte evocate da stimolo laser. Persiste invece una maggiore ampiezza di N2-P2 nei pazienti che lamentano sintomi positivi (dato che non si replica nei pazienti con dolore facciale a causa dei pochi soggetti con parestesie/disestesie/allodinia al volto). La positività associata di LEP e QST aumenta inoltre la significatività dei risultati nella diagnosi di una origine neuropatica del dolore. Infatti il maggior decremento di ampiezza di N2-P2 e N1 nei soggetti con entrambi i test positivi conferma un ruolo aggiuntivo importante del QST nella diagnosi di sofferenza delle piccole fibre e del tratto spino-talamico, aumentandone la sensibilità. La contemporanea alterazione di LEP e QST risulta quindi complessivamente un parametro affidabile per documentare un danno della via spino-talamica e/o delle piccole fibre [93].

Per quanto riguarda pazienti affetti da dolore trigeminale, nonostante un trend non sembrano esserci correlazioni tra soglie termiche e potenziali evocati laser. La correlazione osservata tra le soglie del dolore e AmpN1 sembra in linea con quanto già detto in precedenza sulle soglie sensitive nei pazienti considerati globalmente. Tuttavia, le soglie dolorose non sono considerate altrettanto affidabili in letteratura, essendo gravate da una estrema variabilità tra soggetti [94].

Infine nei pazienti con una lesione del SNC abbiamo osservato una bassa concordanza tra LEP e QST, con soltanto un paziente con entrambi gli esami patologici. La bassa positività dei LEP e la contemporanea presenza di anomalie delle soglie termiche in tutti i sette pazienti esaminati può essere giustificata dalla eterogeneità dei soggetti in esame.

I pazienti con lesione del SNC presentavano infatti sintomatologia dolorosa molto variabile se non del tutto assente ma una costante presenza di sintomi positivi e disestesici. L'esecuzione di potenziali evocati somatosensoriali (non inseriti nell'analisi dello studio presente) ha confermato alterazioni molto frequenti delle vie lemniscali e le scarse anomalie ai LEP confermano un coinvolgimento non significativo del tratto spino-talamico laterale. Infine, le alterazioni delle soglie termiche non devono sorprendere in quanto il QST sappiamo avere scarsa capacità localizzatoria (valuta disfunzioni dell'intero sistema somato-sensoriale) e essere un ottimo strumento per quantificare i sintomi positivi (presenti nel 100% dei pazienti in questo gruppo).

## **CONCLUSIONI**

Il nostro studio è il primo ad effettuare una valutazione comparativa su una popolazione significativa affetta da possibile dolore neuropatico. I risultati suggeriscono correlazioni significative tra le due metodiche che possono essere utili nella diagnosi eziopatogenetica delle sindromi dolorose. La valutazione delle soglie psicofisiche, sebbene time-consuming e eseguibile solo in pazienti pienamente collaboranti, permette un primo inquadramento patogenetico del disturbo che può essere successivamente arricchito dall'esecuzione di test successivi come i potenziali evocati laser. La presenza di soglie termiche normali riduce le possibilità che vi siano alterazioni dei potenziali evocati laser. D'altro canto in base ai nostri risultati potrebbero dunque esservi dei nuovi valori di riferimento delle soglie psicofisiche indicative di un danno del tratto spino-talamico. Tuttavia per quanto riguarda gli studi futuri, tra i criteri

fondamentali per una corretta applicazione dei test figura certamente la selezione di popolazioni omogenee, una completa raccolta anamnestica e la propedeutica visita algologica che permettano un corretto inquadramento della sintomatologia algica lamentata dal paziente e quindi l'affidabilità e la comprensione dei risultati strumentali.

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Melzack R and Casey KL. Sensory, motivational and central control determinants of chronic pain: A new conceptual model. In: Kenshalo DR. The skin senses: Proceedings of the first International Symposium on the Skin Senses, held at the Florida State University in Tallahassee, Florida. 1968: p. 423-439.
2. Price DD, Dubner R. Mechanisms of first and second pain in the peripheral and central nervous systems. *J Invest Dermatol.* 1977; 69(1):167-71.
3. Battaglia G, Rustioni A. Coexistence of glutamate and substance P in dorsal root ganglion neurons of the rat and monkey. *J Comp Neurol.* 1988; 277(2):302-12.
4. Hunt SP, Mantyh PW. The molecular dynamics of pain control.. *Neurosci* 2001; 2: 83–91.
5. Reynolds DV. Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science (Wash DC)* 1969; 164:444–445.
6. Basbaum AI, Fields HL. The origin of descending pathways in the dorsolateral funiculus of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation. *J Comp Neurol.* 1979; 187(3):513-31.

7. Melzack R, Wall PD. Pain mechanisms: a new theory. *Science* 1965; 150:971–9.
8. Proudfit HK. The behavioural pharmacology of the noradrenergic descending system. In: Besson JM, Guilbaud G, editors. Towards the use of noradrenergic agonists for the treatment of pain. Amsterdam: Excerpta Medica/Elsevier Science 1992; p. 119–37.
9. Pert CB, Snyder SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science* 1973; 179:1011-4.
10. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 1975; 258:577-88.
11. Martin WR, Eades CG, Thompson JA, Huppler RE, Gilbert PE. The effect of morphine- and nalorphine-like drugs in non dependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther* 1976; 197:517-32.
12. Hollt V. Multiple endogenous opioid peptides. *Trends in Neurosci* 1983; 6:24-6.
13. Mollereau C, Parmentier M, Mailleux P, Butour JL, Moisand C, Chalon P. ORL-1, a novel member of the opioid receptor family. Cloning, functional expression and localization *FEBS Lett.* 1994; 341:33-8.
14. Meunier JC, Mollereau C, Toll L, Saudeau C, Moisand C, Alvinerie P. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL-1 receptor. *Nature* 1995; 377:532-5.
15. Reinscheid RK, Nothacker HP, Bourson A, Ardati A, Henningsen RA, Buzow JR. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioidlike G protein-coupled receptor. *Science* 1995; 270:792-4.

16. Orlandini G. La semeiotica del dolore - I presupposti teorici e la pratica clinica. Seconda Edizione. Roma: Antonio Delfino Editore; 2013. p. 54-55.
17. Bogduk N. On the definitions and physiology of back pain, referred pain, and radicular pain. *Pain*. 2009; 147(1-3):17-9.
18. Murphy DR1, Hurwitz EL, Gerrard JK, Clary R. Pain patterns and descriptions in patients with radicular pain: does the pain necessarily follow a specific dermatome?. *Chiropr Osteopat*. 2009; 17:9.
19. Treede RD, Jensen TS, Campbell JN, Cruccu G, Dostrovsky JO, Griffin JW, Hansson P, Hughes R, Nurmikko T, Serra J. Neuropathic pain: redefinition and a grading system for clinical and research purposes. *Neurology*. 2008; 70(18):1630-5.
20. Orlandini G. La semeiotica del dolore - I presupposti teorici e la pratica clinica. Seconda Edizione. Roma: Antonio Delfino Editore; 2013. pp. 87-116.
21. Bonica JJ. Definition and taxonomy of pain. In Bonica JJ et al., (Eds.). *The management of pain*. Lea & Febiger, Philadelphia and London, 1990, pp. 18-27.
22. Brena SF. *Il dolore cronico*. CIC-Edizioni Internazionali, Gruppo Editoriale Medico, Roma, 1982.
23. Orlandini G. La semeiotica del dolore - I presupposti teorici e la pratica clinica. Seconda Edizione. Roma: Antonio Delfino Editore; 2013. pp. 21-25.
24. Rome HP Jr, Rome JD. Limbically augmented pain syndrome (LAPS): kindling, corticolimbic sensitization, and the convergence of affective

- and sensory symptoms in chronic pain disorders. *Pain Med.* 2000; 1(1):7-23.
25. Wall PD, Gutnick M. Ongoing activity in peripheral nerves: The physiology and pharmacology of impulses originating from a neuroma *Exp Neurol* 1974; 43: 580-93.
  26. Wall PD, Devor M. Sensory afferent impulses originate from dorsal root ganglia as well as from the periphery in normal and nerve ligated rats. *Pain* 1983; 17: 321-39.
  27. Boroujerdi A, Kim HK, Lyu YS, Kim DS, Figueroa KW, Chung JM, Luo ZD. Injury discharges regulate calcium channel alpha-2-delta-1 subunit upregulation in the dorsal horn that contributes to initiation of neuropathic pain. *Pain.* 2008; 139(2):358-66.
  28. McLachlan EM, Janig W, Devor M, Michaelis M. Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. *Nature* 1993; 363:543-46 .
  29. Sugimoto T, Bennett GJ, Kajander KC. Transsynaptic degeneration in the superficial dorsal horn after sciatic nerve injury: effects of a chronic constriction injury, transection, and strychnine. *Pain* 1990; 42: 205-13.
  30. Woolf CJ, Shortland P, Coggeshall RE. Peripheral nerve injury triggers central sprouting of myelinated afferents. *Nature* 1992; 355: 75-8.
  31. Woolf CJ, Shortland P, Reynolds M., Riding J, Doubell T, Coggeshall. Reorganization of central terminals of myelinated primary afferents in the rat dorsal horn following peripheral axotomy. *J Comp Neurol.* 1995; 360: 121-34.

32. Baron R, Saguer M. Postherpetic neuralgia. Are C-nociceptors involved in signalling and maintenance of tactile allodynia? *Brain* 1993; 116:1477-96.
33. Talbot JD, Marrett S, Evans AC, Meyer E, Bushnell MC, Duncan GH. Multiple representations of pain in human cerebral cortex. *Science* 1991; 251:1355–8.
34. Jones AK, Brown WD, Friston KJ, Qi LY, Frackowiak RS. Cortical and subcortical localization of response to pain in man using positron emission tomography; *Proc R Soc Lond B* 1991; 244:39–44.
35. Apkarian AV, Stea RA, Manglos SH, Szeverenyi NM, King RB, Thomas FD. Persistent pain inhibits contralateral somatosensory cortical activity in humans. *Neurosci Lett*. 1992; 140:141–7.
36. Coghill C, Jeanne D. Talbot, Alan C. Evans, Ernst Meyer, Albert Gjedde, M. Catherine Bushnell, Gary H. Duncan Distributed Processing of Pain and Vibration by the Human Brain Robert. *The Journal of Neuroscience* 1994; (7):4095-4108.
37. Kupers R, Kehlet H. Brain imaging of clinical pain states: a critical review and strategies for future studies. *Lancet Neurol* 2006; 5: 1033–44.
38. Valeriani M, Restuccia D, Di Lazzaro V, Oliviero A, Profice P, La Pera D. Inhibition of the human primary motor area by painful heat stimulation of the skin. *Clin Neurophysiology* 1999; 110: 1475-80.
39. Apkarian AV, Bushnell, MC, Treede RD, Zubieta JK. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain*. 2005; 9:463–484.

40. Peyron R, Garcia-Larrea L, Gregoire MC, Costes N, Convers P, Lavenne F, Mauguiere F, Michel D, Laurent B. Haemodynamic brain responses to acute pain in humans: sensory and attentional networks. *Brain* 1999; 122:1765–1780.
41. Bornhovd K, Quante M, Glauche V, Bromm B, Weiller C, Buchel C. Painful stimuli evoke different stimulus-response functions in the amygdala, prefrontal, insula and somatosensory cortex: a single fMRI study *Brain*. 2002; 125:1326-1336.
42. Iannetti GD, Mouraux A. From the neuromatrix to the pain matrix (and back). *Exp Brain Res*. 2010; 205(1):1-12.
43. Mouraux A, Diukova A, Lee MC, Wise RG, Iannetti GD. A multisensory investigation of the functional significance of the “pain matrix. *NeuroImage* 2011; 54:2237–2249.
44. Treede RD, Meyer RA, Raja SN, Campbell JN. Evidence for two different heat transduction mechanisms in nociceptive primary afferents innervating monkey skin. *J Physiol*. 1995; 483:747–58.
45. Bromm B, Treede RD. CO<sub>2</sub> laser radiant heat pulses activate C nociceptors in man. *Pflugers Arch*. 1983; 2:155–6.
46. Spiegel J, Hansen C, Treede RD. Clinical evaluation criteria for the assessment of impaired pain sensitivity by thulium-laser evoked potentials. *Clin Neurophysiol* 2000; 4:725–35.
47. Iannetti GD, Leandri M, Truini A, Zambreanu L, Cruccu G, Tracey I. A $\delta$  nociceptor response to laser stimuli: selective effect of stimulus duration on skin temperature, brain potentials and pain perception. *Clinical Neurophysiology* 2004; 115: 2629–2637.

48. Garcia-Larrea L, Frot M, Valeriani M. Brain generators of laser-evoked potentials: from dipoles to functional significance. *Neurophysiol Clin* 2003; 33:279–92.
49. Valeriani M, Barba C, le Pera D, Restuccia D, Colicchio G, Tonali P, Gagliardo O, Treede RD. Different neuronal contribution to N20 somatosensory evoked potential and to CO<sub>2</sub> laser evoked potentials: an intracerebral recording study. *Clin Neurophysiol* 2004; 115(1):211–64.
50. Spiegel J, Hansen C, Treede RD. Laser-evoked potentials after painful hand and foot stimulation in humans: evidence for generation of the middlelatency component in the secondary somatosensory cortex. *Neurosci Lett* 1996; 216:179–82.
51. Apkarian AV, Bushnell MC, Treede RD, and Zubieta JK. Human brain mechanisms of pain perception and regulation in health and disease. *Eur J Pain* 2005; 9:463–484.
52. Arendt-Nielsen L, Bjerring P. Sensory and pain threshold characteristics to laser stimuli. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988; 1:35–42.
53. Bromm B, Lorenz J. Neurophysiological evaluation of pain. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998; 4:227–53.
54. Legrain V, Guerit JM, Bruyer R, Plaghki L. Attentional modulation of the nociceptive processing into the human brain: selective spatial attention, probability of stimulus occurrence, and target detection effects on laser evoked potentials. *Pain* 2002; 99:21–39.

55. Lorenz J, Garcia-Larrea L. Contribution of attentional and cognitive factors to laser evoked brain potentials. *Neurophysiol Clin.* 2003; 33:293–301.
56. Schlereth T, Baumgartner U, Magerl W, Stoeter P, Treede RD. Left-hemisphere dominance in early nociceptive processing in the human parasylvian cortex. *Neuroimage* 2003; 20:441–454.
57. Timmermann L, Ploner M, Haucke K, Schmitz F, Baltissen R, Schnitzler A. Differential coding of pain intensity in the human primary and secondary somatosensory cortex. *J Neurophysiol* 2001; 86:1499–1503.
58. Iannetti GD, Zambrenu L, Cruccu G, Tracey I. Operculoinsular cortex encodes pain intensity at the earliest stages of cortical processing as indicated by amplitude of LEP in human. *Neuroscience* 2005; 131: 199–208.
59. Bentley DE, Watson A, Treede RD, Barrett G, Youell PD, Kulkarni B, Jones AK. Differential effects on the laser evoked potential of selectively attending to pain localisation versus pain unpleasantness. *Clin Neurophysiol* 2004; 115:1846–1856.
60. Tarkka IM, Treede RD. Equivalent electrical source analysis of pain-related somatosensory evoked potentials elicited by a CO<sub>2</sub> laser. *J Clin Neurophysiol* 1993; 10:513–519.
61. Valeriani M, Rambaud L, Mauguiere F. Scalp topography and dipolar source modelling of potentials evoked by CO<sub>2</sub> laser stimulation of the hand. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1996; 100:343–353.
62. Frot M, Rambaud L, Guenot M, Mauguiere F. Intracortical recordings of early pain-related CO<sub>2</sub>-laser evoked potentials in the human

- second somatosensory (SII) area. *Clin Neurophysiol.* 1999; 110:133–145.
63. Ohara S, Crone NE, Weiss N, Treede RD, Lenz FA. Cutaneous painful laser stimuli evoke responses recorded directly from primary somatosensory cortex in awake humans. *J Neurophysiol.* 2004; 91:2734–2746.
64. Schlereth T, Baumgartner U, Magerl W, Stoeter P, Treede RD. Left-hemisphere dominance in early nociceptive processing in the human parasyllian cortex. *Neuroimage* 2003; 20:441–454.
65. Melzack R, Casey KL. Sensory, motivational and central control of pain. In Kenshalo DR, editor. 1968. *The skin sense*. Springfield (IL): Charles C. Thomas; p. 423-39.
66. Fruhstorfer H, Lindblom U, Schmidt WC. Method for quantitative estimation of thermal thresholds in patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1976; 39:1071-1075.
67. Backonja MM, Walk D, Edwards RR, Sehgal N, Moeller-Bertram T, Wasan A, Irving G, Argoff C, Wallace M. Quantitative sensory testing in measurement of neuropathic pain phenomena and other sensory abnormalities. *Clin J Pain.* 2009; 25(7):641-7.
68. Cruccu G, Sommer C, Anand P, Attal N, Baron R, Garcia-Larrea L, Haanpaa M, Jensen TS, Serra J, Treede RD. EFNS guidelines on neuropathic pain assessment: revised 2009. *Eur J Neurol.* 2010; 17(8):1010-8.
69. Maier C, Baron R, Tölle TR, Binder A, Birbaumer N, Birklein F, Gierthmühlen J, Flor H, Geber C, Hüge V, Krumova EK, Landwehrmeyer GB, Magerl W, Maihöfner C, Richter H, Rolke R,

- Scherens A, Schwarz A, Sommer C, Tronnier V, Uçeyler N, Valet M, Wasner G, Treede RD. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): somatosensory abnormalities in 1236 patients with different neuropathic pain syndromes. *Pain*. 2010; 150(3):439-50.
70. Waylett-Rendall J. Sensibility evaluation and rehabilitation. *Orthopedic Clinics of North America* 1988; 19:43-56.
71. Chan AW, MacFarlane IA, Bowsher D, Campbell JA. Weighted needle pinprick sensory thresholds: a simple test of sensory function in diabetic peripheral neuropathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992; 55(1):56-9.
72. Goldberg JM, Lindblom U. Standardised method of determining vibratory perception thresholds for diagnosis and screening in neurological investigation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1979; 42(9):793-803.
73. Claus D, Hinz MJ, Neundörfer B. Thermal discrimination thresholds: a comparison of different methods. *Acta Neurol Scand*. 1990; 81(6):533-40.
74. Leung A, Wallace MS, Ridgeway B, Yaksh T. Concentration-effect relationship of intravenous alfentanil and ketamine on peripheral neurosensory thresholds, allodynia and hyperalgesia of neuropathic pain. *Pain*. 2001; 91(1-2):177-87.
75. Walk D, Sehgal N, Moeller-Bertram T, Edwards RR, Wasan A, Wallace M, Irving G, Argoff C, Backonja MM. Quantitative sensory testing and mapping: a review of nonautomated quantitative methods

- for examination of the patient with neuropathic pain. *Clin J Pain*. 2009; 25(7):632-40.
76. Rolke R, Baron R, Maier C, Tölle TR, Treede RD, Beyer A, Binder A, Birbaumer N, Birklein F, Bötefür IC, Braune S, Flor H, Hüge V, Klug R, Landwehrmeyer GB, Magerl W, Maihöfner C, Rolko C, Schaub C, Scherens A, Sprenger T, Valet M, Wasserka B. Quantitative sensory testing in the German Research Network on Neuropathic Pain (DFNS): standardized protocol and reference values. *Pain*. 2006; 123(3):231-43.
77. Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice AS, Treede RD. A new definition of neuropathic pain. *Pain*. 2011; 152(10):2204-5.
78. Krumova EK<sup>1</sup>, Geber C, Westermann A, Maier C. Neuropathic pain: is quantitative sensory testing helpful? *Curr Diab Rep*. 2012; 12(4):393-402.
79. Nebuchennykh M, Løseth S, Lindal S, Mellgren SI. The value of skin biopsy with recording of intraepidermal nerve fiber density and quantitative sensory testing in the assessment of small fiber involvement in patients with different causes of polyneuropathy. *J Neurol*. 2009; 256(7):1067-75.
80. Yarnitsky D, Sprecher E. Thermal testing: normative data and repeatability for various test algorithms. *J Neurol Sci*. 1994 Aug;125(1):39-45.
81. De Tommaso M, Federici A, Santostasi R, Calabrese R, Vecchio E, Lapadula G, Iannone F, Lamberti P, Livrea P. LEP habituation in fibromyalgia. *The Journal of Pain* 2011; 12:116-124.

82. Cruccu G, Aminoff MJ, Curio G, Guerit JM, Kakigi R, Mauguiere F, Rossini PM, Treede RD, Garcia-Larrea L. Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin Neurophysiol.* 2008 Aug;119(8):1705-19.
83. Spiegel J, Hansen C, Baumgärtner U, Hopf HC, Treede RD. Sensitivity of laser-evoked potentials versus somatosensory evoked potentials in patients with multiple sclerosis. *Clin Neurophysiol.* 2003 Jun;114(6):992-1002.
84. Devigili G, Tugnoli V, Penza P, Camozzi F, Lombardi R, Melli G, Broglio L, Granieri E, Lauria G. The diagnostic criteria for small fibre neuropathy: from symptoms to neuropathology. *Brain.* 2008 Jul;131(Pt 7):1912-25.
85. Jääskeläinen SK. The utility of clinical neurophysiological and quantitative sensory testing for trigeminal neuropathy. *J Orofac Pain.* 2004 Fall;18(4):355-9.
86. Moloney NA, Hall TM, Doody CM. Reliability of thermal quantitative sensory testing: a systematic review. *J Rehabil Res Dev.* 2012;49(2):191-207.
87. Geber C, Baumgärtner U, Fechir M, Vogt T, Birklein F, Treede RD. Comparison of LEP and QST and their contribution to standard sensory diagnostic assessment of spinal lesions: a pilot study. *Neurol Sci.* 2011 Jun;32(3):401-10.
88. Mouraux A, Iannetti GD. Nociceptive laser-evoked brain potentials do not reflect nociceptive-specific neural activity. *J Neurophysiol.* 2009 Jun;101(6):3258-69.

89. Cruccu G, Pennisi E, Truini A, Iannetti GD, Romaniello A, Le Pera D, De Armas L, Leandri M, Manfredi M, Valeriani M. Unmyelinated trigeminal pathways as assessed by laser stimuli in humans. *Brain*. 2003 Oct;126(Pt 10):2246-56.
90. Levine JD, Taiwo YO, Collins SD, Tam JK. Noradrenaline hyperalgesia is mediated through interaction with sympathetic postganglionic neurone terminals rather than activation of primary afferent nociceptors. *Nature*. 1986 Sep 11-17;323(6084):158-60.
91. Campbell JN. Nerve lesions and the generation of pain. *Muscle Nerve*. 2001 Oct;24(10):1261-73.
92. Truini A, Biasiotta A, Di Stefano G, La Cesa S, Leone C, Cartoni C, Leonetti F, Casato M, Pergolini M, Petrucci MT, Cruccu G. Peripheral nociceptor sensitization mediates allodynia in patients with distal symmetric polyneuropathy. *J Neurol*. 2013 Mar;260(3):761-6.
93. Truini A, Romaniello A, Galeotti F, Iannetti GD, Cruccu G. Laser evoked potentials for assessing sensory neuropathy in human patients. *Neurosci Lett*. 2004 May 6;361(1-3):25-8.
94. Gustorff B, Hoerauf KH, Lierz P, Kress HG. Comparison of different quantitative sensory testing methods during remifentanil infusion in volunteers. *Br J Anaesth*. 2003 Aug;91(2):203-8.